

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



Capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en el germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2018.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICA

Presentado por la:

Bach. CENTENO JANAMPA, Yulisa Carla

Ayacucho-Perú

2019

Con mucho cariño y eterna gratitud a mis padres Centeno Sulca Alejandro y Janampa Galvez Benedicta, por sus consejos, su confianza y su apoyo incondicional. A mis queridos hermanos Gonzalo y Lucy por compartir conmigo toda una vida. Por ustedes que son el motor y 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 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. ENCISO ROCA, Edwin Carlos y Co-asesor Mg. AGUILAR FELICES, Enrique Javier, por permitirme recurrir a su capacidad y experiencia de cada uno de ustedes, por su guía, por su tiempo y aportes para la realización de esta investigación.

Un agradecimiento infinito a mis queridos padres, por ser los principales promotores de mis sueños, gracias a ellos por cada día confiar y creer en mí y en mis expectativas.

ÍNDICE GENERAL

| | Página |
|---|--------|
| ÍNDICE GENERAL | vii |
| ÍNDICE DE TABLAS | ix |
| ÍNDICE DE FIGURAS | xi |
| ÍNDICE DE ANEXOS | xiii |
| RESUMEN | xvii |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. MARCO TEÓRICO | 3 |
| 2.1. Antecedentes | 3 |
| 2.2. Aspectos botánicos | 5 |
| 2.3. Compuestos fenólicos | 6 |
| 2.4. Radicales libres | 8 |
| 2.5. Antioxidantes | 8 |
| 2.6. Estrés oxidativo | 9 |
| 2.7. Germinados | 9 |
| III. MATERIALES Y MÉTODOS | 11 |
| 3.1. Ubicación | 11 |
| 3.2. Definición de la población y muestra | 11 |
| 3.3. Metodología para la recolección de datos | 11 |
| 3.4. Análisis de datos | 15 |
| IV. RESULTADOS | 17 |
| V. DISCUSIÓN | 23 |
| VI. CONCLUSIONES | 29 |
| VII. RECOMENDACIONES | 31 |
| VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 33 |
| ANEXOS | 39 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | | |
|----------|--|-------------|
| Tabla 1. | Estructura de ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos | Página 7 |
|----------|--|-------------|

| ÍNDICE DE FIGURAS | | Página |
|--------------------------|---|--------|
| Figura 1. | Estructura química del núcleo del flavonoide. | 7 |
| Figura 2. | Estructura química de un flavonol. | 8 |
| Figura 3. | Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante. | 13 |
| Figura 4. | Estructura del ABTS antes y después de la reacción con el antioxidante. | 14 |
| Figura 5. | Reacción involucrada en el ensayo FRAP | 15 |
| Figura 6. | Contenido de fenoles totales, expresados como mg EAG/g de muestra del germinado y no germinado de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019. | 19 |
| Figura 7. | Contenido de flavonoides, expresados como mg EQ/g de muestra del germinado y no germinado de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019. | 19 |
| Figura 8. | Contenido de flavonoles, expresados como mg EQ/g de muestra del germinado y no germinado de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019. | 20 |
| Figura 9. | Actividad secuestradora del radical libre DPPH, expresados como $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra del germinado y no germinado de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019. | 20 |
| Figura 10. | Actividad secuestradora del catión radical ABTS, expresados como $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra del germinado y no germinado de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019. | 21 |
| Figura 11. | Potencial antioxidante reductor del hierro FRAP, expresados como $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra del germinado y no germinado de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019. | 21 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | | Página |
|----------|--|--------|
| Anexo 1 | Certificado de identificación botánica de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019. | 41 |
| Anexo 2 | Certificado oficial de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen. “cañihua” cultivar Illpa INIA. Ayacucho 2019. | 42 |
| Anexo 3 | Certificado oficial de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen. “cañihua” cultivar cupi. Ayacucho 2019. | 43 |
| Anexo 4 | Flujograma para la cuantificación de fenoles totales del germinado y no germinado de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019. | 44 |
| Anexo 5 | Flujograma para la cuantificación de flavonoides del germinado y no germinado de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019. | 45 |
| Anexo 6 | Flujograma para la cuantificación de flavonol del germinado y no germinado de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019. | 46 |
| Anexo 7 | Flujograma para la determinación de la actividad secuestradora del radical libre DPPH de las semillas germinadas y sin germinar de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen. Ayacucho 2019. | 47 |
| Anexo 8 | Flujograma para la determinación de la actividad secuestradora del catión radical ABTS de las semillas germinadas y sin germinar de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen. Ayacucho 2019. | 48 |
| Anexo 9 | Flujograma para la determinación de la actividad reductora del hierro FRAP de las semillas germinadas y sin germinar de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen. Ayacucho 2019. | 49 |
| Anexo 10 | Fotografías de semillas de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019. | 50 |

| | | |
|----------|--|----|
| Anexo 11 | Fotografías del germinado y la altura alcanzada durante la germinación de las semillas <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019. | 50 |
| Anexo 12 | Fotografías del procedimiento para la obtención del extracto metanólico del germinado y no germinado de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019. | 51 |
| Anexo 13 | Fotografías del extracto metanólico del germinado y sin germinar de las semillas de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019. | 52 |
| Anexo 14 | Fotografías del estándar y las muestras de dos cultivares, germinados y sin germinar en la cuantificación de fenoles totales de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019. | 52 |
| Anexo 15 | Fotografías del estándar y las muestras de dos cultivares, germinados y sin germinar en la cuantificación de flavonoides de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019. | 53 |
| Anexo 16 | Fotografías del estándar y las muestras de dos cultivares, germinados y sin germinar en la cuantificación de flavonoles de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019. | 53 |
| Anexo 17 | Fotografías del estándar y las muestras de dos cultivares, germinados y sin germinar en la determinación de la actividad secuestradora del radical libre DPPH de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019. | 54 |
| Anexo 18 | Fotografías del estándar y las muestras de dos cultivares, germinados y sin germinar en la determinación de la actividad secuestradora del catión radical ABTS de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019. | 55 |

| | | |
|----------|---|----|
| Anexo 19 | Fotografías del estándar y las muestras de dos cultivares, germinados y sin germinar en la determinación de la actividad reductora del hierro FRAP de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen. “cañihua”. Ayacucho 2019. | 56 |
| Anexo 20 | Curva de calibración del ácido gálico (estándar) para fenoles totales. Ayacucho 2019. | 57 |
| Anexo 21 | Curva de calibración de la quercetina (estándar) para flavonoides. Ayacucho 2019. | 57 |
| Anexo 22 | Curva de calibración de la quercetina (estándar) para flavonoles. Ayacucho 2019. | 58 |
| Anexo 23 | Curva de calibración del trolox para determinar el porcentaje de secuestro del radical libre DPPH. Ayacucho 2019. | 58 |
| Anexo 24 | Curva de calibración del trolox para determinar el porcentaje de secuestro del catión radical ABTS. Ayacucho 2019. | 59 |
| Anexo 25 | Curva de calibración del trolox para determinar la actividad reductora del hierro (FRAP). Ayacucho 2019. | 59 |
| Anexo 26 | Análisis de varianza factorial y prueba complementaria de Scheffé para fenoles totales del germinado y no germinado de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019. | 60 |
| Anexo 27 | Análisis de varianza factorial y prueba complementaria de Scheffé para flavonoides del germinado y no germinado de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019. | 61 |
| Anexo 28 | Análisis de varianza factorial y prueba complementaria de Scheffé para flavonol del germinado y no germinado de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019. | 62 |
| Anexo 29 | Análisis de varianza factorial y la prueba complementaria de Scheffé de la actividad antioxidante por el método DPPH del germinado y no germinado de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019. | 63 |

| | | |
|----------|---|----|
| Anexo 30 | Análisis de varianza factorial y la prueba complementaria de Scheffé de la actividad antioxidante por el método ABTS del germinado y no germinado de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen “cañihua. Ayacucho 2019. | 64 |
| Anexo 31 | Análisis de varianza factorial y la prueba complementaria de Scheffé de la actividad antioxidante por el método FRAP del germinado y no germinado de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019. | 65 |
| Anexo 32 | Matriz de consistencia. Ayacucho 2019. | 66 |

RESUMEN

El presente trabajo contribuye a revalorizar la cañihua, grano andino cuyo potencial es tanto nutricional como funcional por su actividad antioxidante. Los compuestos polifenólicos de carácter antioxidante, presentes en los alimentos, son responsables de la reducción del riesgo de enfermedades asociadas con el estrés oxidativo. El objetivo fue determinar la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en el germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen "cañihua", comparadas con las semillas sin germinar. Las muestras se adquirieron en el Instituto Nacional de Investigación Agraria-Puno, los cultivares fueron Illpa-INIA y Cupi, se desarrolló 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, la determinación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu, flavonoides y flavonol por el método del cloruro de aluminio, la actividad antioxidante por los métodos de la capacidad secuestradora del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), secuestro del catión radical ácido 2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS) y el potencial antioxidante reductor del hierro (FRAP). Para determinar la capacidad antioxidante por los métodos mencionados se usó como estándar el trolox. El germinado de los cultivares Illpa-INIA y Cupi presentaron mayor contenido de fenoles totales (2,54 y 2,12 mg EAG/g de muestra) y flavonoles (0,29 y 0,21 mg EAG/g de muestra) en comparación a las semillas sin germinar, mientras que en el contenido de flavonoides no se mostró influencia del germinado. En cuanto a la capacidad antioxidante los cultivares Illpa-INIA y Cupi germinados presentaron mayor capacidad antioxidante por los métodos DPPH (36,35 y 35,22 mg ET/g de muestra), ABTS (21,36 y 19,78 mg ET/g de muestra); y FRAP (19,27 y 16,96 mg ET/g de muestra). En conclusión, el germinado de los cultivares Illpa-INIA y Cupi tuvieron mayor actividad antioxidante que las semillas sin germinar ($p < 0,05$).

Palabras Clave: *Chenopodium pallidicaule* Aellen, germinado de las semillas, compuestos fenólicos, actividad antioxidante.

I.INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha incrementado el interés por las investigaciones relacionados al germinado de las semillas, lo cual es un proceso que consiste en la absorción de agua, la reactivación del metabolismo y la iniciación del crecimiento del embrión de una semilla¹, produce cambios bioquímicos, que se manifiestan en el contenido de ciertos metabolitos con importancia biológica, este proceso necesita condiciones ambientales favorables, como la presencia de oxígeno, temperatura, y la humedad que determinan la calidad de los germinados². *Chenopodium quinoa* Will “quinua” y *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”, son pseudocereales las cuales además de poseer carbohidratos, tienen una alta calidad proteica, contenido de fibra y recientes estudios demuestran que poseen propiedades antioxidantes que contribuyen a su calidad funcional³. El contenido de flavonoides de las especies de *Chenopodium* fue excepcionalmente alto en comparación con otros alimentos ricos en compuestos fenólicos (flavonoides) como los berries, donde los niveles de antioxidantes son de 5 a 10 veces inferiores que los encontrados en la quinua y cañihua⁴. Los antioxidantes son sustancias que pueden inhibir o retardar el proceso oxidativo, interfiriendo con la iniciación o propagación de las reacciones en cadena de la auto oxidación. Los radicales libres son especies químicas que contienen uno o más electrones desapareados, es altamente reactiva ya que tienden a captar un electrón de otros átomos con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica⁵. El exceso está relacionado con una mayor incidencia de diversas enfermedades degenerativas como cáncer, enfermedades cardiacas, inflamación, artritis, disfunción cerebral, aceleración del envejecimiento⁶.

Para la determinación de la capacidad antioxidante en especies vegetales se vienen utilizando métodos *in vitro* e *in vivo*, los cuales se caracterizan por ser ensayos rápidos, reproducibles, sensibles y simples. De lo anteriormente expuesto se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo general

- Determinar la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en el germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2018.

Objetivos específicos

- Determinar el contenido de fenoles totales, flavonoides y flavonoles del germinado y no germinado de la semilla de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”.
- Determinar la capacidad antioxidante por los métodos DPPH, ABTS y FRAP del germinado y no germinado de la semilla de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”.
- Comparar el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante del germinado y no germinado de la semilla de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”.

II.MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Aguilar et al^f, determinaron la actividad antioxidante de los ácidos fenólicos aislados del germinado de cuatro variedades de la semilla de *Chenopodium quinoa* Willd. “quinua”, mediante el método de secuestro del radical libre DPPH. Las variedades fueron blanca, amarilla, roja y negra. La variedad negra tuvo la mayor actividad antioxidante, las variedades roja y amarilla similar actividad y la de menor actividad la variedad blanca. Asimismo, evaluaron en las semillas de las cuatro variedades el contenido de fenoles totales con el método Folin-Ciocalteu y flavonoides por el método del cloruro de aluminio. La variedad amarilla tuvo mayor contenido de fenoles totales (82,26 µg/g de extracto), seguida de la variedad blanca (69,97 µg/g de extracto), variedad roja (60,41 µg/g de extracto) respectivamente; mientras que, en el germinado, la variedad blanca es la que mostró el más alto valor de fenoles totales (59,67 µg/g de extracto) y la variedad amarilla, menor contenido de fenoles totales (28,00 µg/g de extracto). En cuanto a los flavonoides, las semillas germinadas incrementaron su contenido de flavonoides en relación con las semillas sin germinar, siendo la variedad blanca la que mostró mayor contenido de flavonoides, mientras que la variedad amarilla mostró menor contenido.

Aguilar et al^g, evaluaron la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos aislados del germinado de las semillas de las variedades Centenario, Cristalino, Oscar Blanco y Taray de *Amaranthus caudatus* L. “Kiwicha” comparadas con las semillas sin germinar. Se evaluó el contenido de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu, flavonoides por el método del cloruro de aluminio y actividad antioxidante por los métodos de DPPH, secuestro del catión radical del ácido 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS) y el potencial antioxidante reductor del hierro (FRAP). Las variedades germinadas mostraron mayor contenido de fenoles totales respecto a las semillas sin germinar, al igual que en el contenido de flavonoides. El germinado de las variedades Cristalino y

Taray tuvieron el mayor contenido de fenoles totales (32,92 y 35,00 mg EAG/g de muestra), la variedad cristalino tuvo mayor contenido de flavonoides (580,95 mg EQ/g) y las variedades Cristalino y Taray mostraron mayor actividad secuestradora de los radicales libres DPPH (151,85 y 156,84 mg ET/g de muestra) y ABTS (178,09 y 180,18 mg ET/g de muestra); y FRAP (132,75 y 136,42 mg ET/g de muestra). Llegando a la conclusión que las variedades Cristalino y Taray tuvieron mayor actividad antioxidante que las semillas sin germinar y se relaciona directamente por su mayor contenido de fenoles totales y de flavonoides.

Repo de Carrasco et al⁹, determinaron el contenido de fenoles totales y la capacidad secuestradora del radical libre DPPH en 11 variedades de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”, en la cual, la variedad Leghepito presentó mayor contenido de fenoles totales (85,71 mg EAG/100 g) y la variedad Puka cañihua mayor capacidad secuestradora del DPPH (1509,80 µg trolox/g).

Castillo¹⁰, evaluaron la estabilidad de los compuestos antioxidantes durante la germinación y extrusión en la cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) variedad cupi, 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/100g. Para efectos de comparación se extruyó la cañihua y esta presentó 208,8 mg EAG/100g, 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 µmol ET/100g, valor inferior en comparación a la cañihua germinada por 96 horas que presento un valor de 4432,5 µmol ET/100g.

Tarzi et al¹¹, determinaron el efecto de la germinación sobre el contenido de fenoles y la actividad antioxidante de la semilla de garbanzo (*Cicer arietinum*). En su investigación, se 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 de radical hidróxilo. Los resultados indican que el proceso de germinación modificó la actividad antioxidante. Si bien es cierto que se extrajeron más fenoles totales con acetona, la extracción con metanol mostró mayor actividad secuestradora del radical hidroxilo. Concluyeron que, harina brote de garbanzos o extracto podrían ser utilizados como una fuente de antioxidantes naturales o en la formulación de suplementos nutricionales y algunas formulaciones de medicamentos.

Gharachorloo et al², determinaron la actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos de la lenteja (*Lens culinaris*) germinada. Para el cual investigaron los cambios del contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante antes y después de la germinación. Las semillas de la lenteja fueron germinadas en cámaras oscuras, manteniendo una humedad relativa cercana al 100 % a 20 °C. Emplearon tres tipos de solventes para extraer los compuestos fenólicos en las semillas y en los brotes germinados. El contenido de compuestos fenólicos fueron determinados utilizando el método de Folin-Ciocalteu y la actividad antioxidante por el método del secuestro del radical hidroxilo. Los resultados muestran que la germinación modificó la cantidad y calidad de los compuestos fenólicos de las semillas de la lenteja, y el tipo de solvente usado para la extracción siendo mejor el metanol y la actividad antioxidante fue dependiente de la concentración. Finalmente, concluyeron que la harina del germinado o el extracto pueden ser usados como una fuente de antioxidantes naturales de los alimentos funcionales.

2.2. Aspectos botánicos

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

| | | |
|-----------|---|--|
| DIVISIÓN | : | MAGNOLIOPHYTA |
| CLASE | : | MAGNOLIOPSIDA |
| SUB CLASE | : | CARYOPHYLLIDAE |
| ORDEN | : | CARYOPHYLLALES |
| FAMILIA | : | CHENOPODIACEAE |
| GÉNERO | : | Chenopodium |
| ESPECIE | : | <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen |
| N.V | : | “Cañihua” |

Fuente: Constancia emitido por la Bióloga Laura AUCASIME MEDINA, Especialista en taxonomía y sistemática de plantas¹³. (Anexo 1)

CULTIVARES: Illpa INIA y Cupi

Fuente: Certificado oficial de análisis de semillas emitido por la Ing. Susana Chumbiauca Mateo de la Dirección de gestión de la Innovación Agraria del Instituto Nacional de Investigación Agraria – Puno (Anexo 2) (Anexo 3).

2.2.2. Descripción botánica

Es una planta herbácea, presenta una raíz pivotante, profunda de 13 a 16 cm. El tallo es hueco, estriado y ramificado. Las hojas son tribuladas, alternas, con pecíolos cortos, borde dentado, presentan tres nervaduras bien marcadas en el envés. Las inflorescencias son cimosas axilares o terminales, cubiertas por hojas terminales que las protegen de las temperaturas bajas, la flor es de tipo basipeta,

hermafroditas. El grano es de forma subcilíndrico, cónico de 1.0 a 1.2 mm de diámetro¹⁴.

2.2.3. Distribución geográfica

Es una especie cultivada originaria del altiplano entre Perú y Bolivia. En Perú, se cultiva en las zonas altas de Arequipa, Cusco y la Región Puno, a altitudes de 3812 a 4100 msnm. La mayor concentración de producción de cañihua se encuentra en la Región Puno, principalmente en las provincias de Melgar y Puno. En menor escala, se produce en zonas altas de Arequipa y Cusco. En Bolivia, en el altiplano y valles interandinos, de los departamentos de La Paz, Oruro, Cochabamba y Potosí¹⁴.

2.2.4. Composición química

Contienen carbohidratos 3-66 %, proteína 15-18 %, lípidos 6-8 % y cenizas 3-4 % y una alta calidad de proteína con un contenido de lisina de 5-6 %^{15,4}. Compuestos fenólicos como catequina, ácido vainilico, kaemferol, ácido ferúlico, quercetina y resorcinol^{16, 17}.

2.2.5. Usos en medicina tradicional

Entre las propiedades medicinales, se le atribuye la disminución del colesterol, contrarresta el mal de altura (soroche), combate la disentería. La harina de cañihua puede ser consumida por personas alérgicas al gluten, la harina disuelta en agua con vinagre es utilizado para el tratamiento de la fiebre tifoidea¹⁸. Las cenizas de su tallo, llamadas llipta, son usadas cuando se mastica coca. La llipta es rica en calcio y provee los nutrientes esenciales para la dieta de las personas que viven en climas fríos como el de la sierra¹⁹.

2.3. Compuestos fenólicos

Son metabolitos secundarios de las plantas, están divididos en más de 8000 compuestos, poseen un anillo aromático unido a uno o más grupos hidroxilo, incluyendo derivados funcionales (ésteres, glucósidos). Se clasifican principalmente en ácidos fenólicos, flavonoides, taninos, etc²⁰.

2.3.1. Ácidos fenólicos

Son compuestos fenólicos, que se caracterizan por poseer un hidróxilo unido a un anillo aromático. Se clasifican en dos subgrupos, derivados del ácido hidroxibenzoicos (ácido gálico, ácido protocatéquico, vainílico y siríngico) y del ácido hidroxicinámicos (ácido cafeico, ferúlico, *p*-cumárico y sinápico)¹⁶.

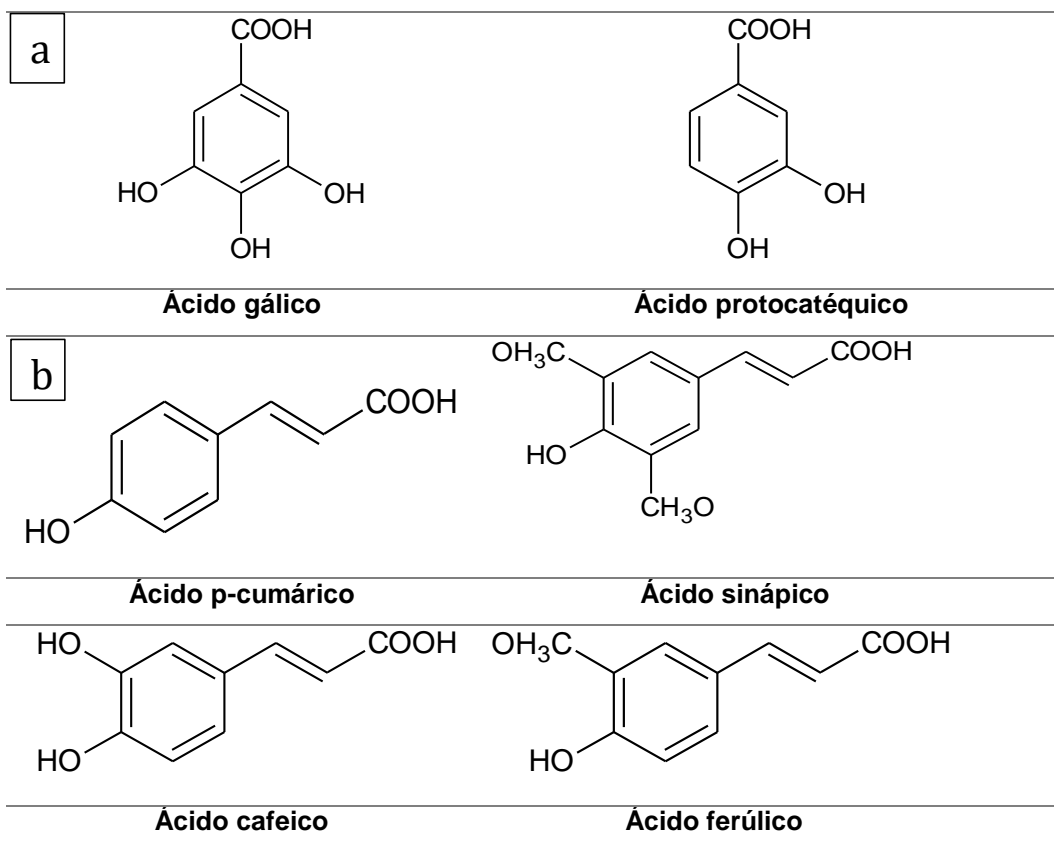


Tabla 1. Estructura de ácidos hidroxibenzoicos (a) e hidroxicinámicos (b)²¹

2.3.2. Flavonoides

Son compuestos polifenólicos, que comparten un esqueleto común de difenilpiranos ($C_6C_3C_6$) formado por 15 carbonos distribuidos en 3 anillos, constan de 2 anillos benceno (A y B), ligados por un anillo heterocíclico (C) de pirano.

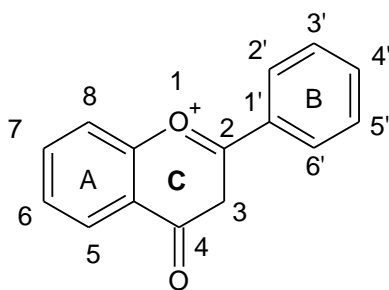


Figura 1. Estructura química del núcleo del flavonoide²²

2.3.2.1. Flavonoles

Es un flavonoide, se obtienen a partir de las flavonas al sustituir el hidrogeno del carbono 3 del anillo C por un hidroxilo. Representados por kaempferol, quercetina, miricetina y rutina, entre otros ²³.

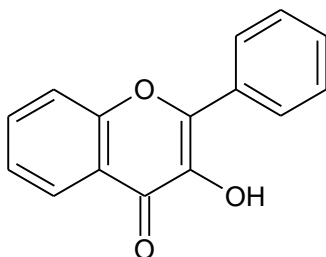


Figura 2. Estructura química de un flavonol²³

Propiedades biológicas de los compuestos fenólicos

Poseen propiedades benéficas para la salud del ser humano, entre las que destacan: efectos positivos en enfermedades cardiovasculares, prevención y tratamiento de distintos tipos de cáncer y, en general, en enfermedades donde el estrés oxidativo pudiera estar involucrado. Principalmente, los efectos positivos, se asociaban a las propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas de los compuestos fenólicos²⁴.

2.4. Radicales libres

Son especies químicas que posee en su estructura uno o más electrones no apareados, lo cual las hace altamente inestables y muy reactivas, sustrae un electrón de átomos o moléculas estables, a las cuales oxida con el fin de alcanzar su propia estabilidad²⁵. Son producidos normalmente durante el metabolismo aerobio que se lleva a cabo principalmente en la mitocondria por diversas reacciones redox. Entre las ROS (especies reactivas de oxígeno) más importantes cabe destacar aniones superóxido, radical hidroxilo, radical alcohilo, radical peroxilo. Otras especies reactivas de especie biológica son las que derivan del nitrógeno (RNS) como el óxido nítrico, entre otros. Dentro de las especies no radicales, existen moléculas como el peróxido de hidrogeno y el peroxinitrito. También son producidos por, contaminantes del aire, radiaciones ionizantes y no ionizantes, drogas, alcohol, bacterias, virus²⁶.

2.5. Antioxidantes

Son compuestos capaces de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres, sin perder su estabilidad electroquímica. Los antioxidantes al colisionar con los radicales libres le cede un electrón, oxidándose a su vez y transformándose en un radical libre no toxico y en algunos casos como la vitamina E, puede regenerarse

a su forma primitiva por la acción de otros²⁷. Se clasifican en endógenos (el superóxido dismutasa, el glutatión peroxidasa y la Catalasa) y exógenos (las vitaminas E y C, Betacaroteno o pro- vitamina A, los flavonoides, los licopenos)²⁶.

2.6. Estrés oxidativo

Término relacionado a las células y a la acción de un radical libre que le afecta, en condiciones normales se da un equilibrio entre la producción de radicales libres u otras especies reactivas con los mecanismos antioxidantes (exógeno y endógeno), este equilibrio permite que la toxicidad por oxidación sea menor y con menos daño celular, cuando se rompe el equilibrio este se podrá asociar con un déficit en el sistema antioxidante o por la proliferación descontrolada de los radicales libres²⁵.

2.7. Germinados

Es un proceso en la cual una semilla se desarrolla hasta convertirse en una nueva planta. Ocurre cuando el embrión se hincha y la cubierta de la semilla se rompe dando lugar al crecimiento de la plántula, para ello es necesario condiciones favorables como la humedad, oxígeno y la temperatura. La germinación desencadena serie de procesos enzimáticos que aumentan su digestibilidad y su valor nutricional²⁸.

2.7.1. Fases de la germinación

- **Fase I – Hidratación.** Se inicia con la entrada de agua en la semilla desde el medio exterior (imbibición). Una vez hidratado, comienzan a activarse toda una serie de procesos metabólicos que son esenciales para las siguientes etapas.
- **Fase II – Germinación.** Ocurre la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas. También se incrementan las actividades enzimáticas. A diferencia de la anterior, esta fase se caracteriza por un cese en la absorción de agua y una actividad metabólica más reducida.
- **Fase III – Crecimiento.** En esta última fase de la germinación, paralelamente al incremento de la actividad metabólica, se produce el crecimiento y emergencia de la radícula a través de las cubiertas seminales de energía que se obtiene mediante la movilización de las reservas nutritivas de la semilla²⁸.

2.7.2. Factores externos en el proceso de germinado

- **Humedad**

La absorción de agua es el primer paso, y el más importante, que tiene lugar durante la germinación; para que la semilla recupere su metabolismo es necesaria la rehidratación de sus tejidos, un exceso de agua dificultaría la llegada de oxígeno al embrión²⁹.

- **Temperatura**

Influye sobre las enzimas que regulan la velocidad de las reacciones bioquímicas que ocurren en la semilla después de la hidratación. La actividad de cada enzima tiene lugar entre un máximo y un mínimo de temperatura, existiendo un óptimo intermedio. Del mismo modo, en el proceso de germinación pueden establecerse unos límites similares²⁹.

- **Oxígeno**

Es necesario como sustrato en las reacciones metabólicas importantes de la semilla, especialmente la respiración. Aunque en los primeros estadios de la germinación los procesos, tales como cuando la radícula rompe el tegumento, las reacciones son de carácter anaeróbico, posteriormente la germinación se hace totalmente dependiente del oxígeno. Si hay mucha agua la semilla no germina, al faltarle el oxígeno, y se pudre²⁹.

Importancia alimenticia y biológica de los germinados

Son una buena fuente de aminoácidos, carbohidratos, fibra y grasa poliinsaturada, benéficas para el corazón y los vasos sanguíneos. Entre sus vitaminas sobresalen la vitamina C, B9 o ácido fólico, beta- caroteno o provitamina A, E y K, sus minerales más notables son: potasio, magnesio, calcio, hierro y zinc. El germinado de alfalfa también es fuente de enzima, que favorecen la digestión; flavonoides de acción antioxidante³⁰. El germinado de la lenteja es rica en flavonoides, destacando su contenido en catequinas y proantocianidinas. Entre los compuestos presentes, destacan los compuestos fenólicos, con propiedades antiinflamatorias como los flavonoides anticancerígenas y antimutagénicas como las flavonas, flavanonas y lignanos³¹.

III.MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

Se realizó en los laboratorios de Farmacia de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.2. Definición de la población y muestra

3.2.1. Población

Semillas de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”, que fueron adquiridas y certificadas por el Instituto de Investigación Agraria – Puno (INIA – Puno)

- Illpa-INIA
- Cupi

3.2.2. Muestra

Cinco gramos de las semillas de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen. “cañihua”. (Anexo 10)

3.3. Metodología para la recolección de datos

3.3.1. Obtención del germinado

Cinco gramos de semilla de cada cultivar de cañihua 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 y en la base conteniendo un papel filtro Whatman, 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 humedad³², la duración del periodo de germinación está basada en la observación. Se determinó la longitud del germinado utilizando una regla, registrándose la longitud en cm. (Anexo 11). Los brotes cosechados del germinado y las semillas sin germinar, fueron desecados a 40 °C en una estufa Memmert, luego fueron trituradas utilizando un mortero de porcelana, las cuales fueron almacenados en frascos hasta su posterior análisis³³.

3.3.2. Obtención del extracto metanólico

Un gramo del germinado y no germinado de las semillas trituradas fueron extraídos con 50 mL de metanol, utilizando un agitador magnético por 4 horas. Se centrifuga a 3000 rpm por 25 minutos y el sobrenadante fue recuperado y vertido en una fiola de 50 mL y llevado a volumen con metanol. Cada uno de los extractos fue conservado en refrigeración hasta su posterior uso³⁴.(Anexo 12 y 13)

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*³⁵, de los extractos diluidos en metanol, se tomaron 150 µL de estas muestras, las cuales fueron colocadas en tubos de ensayo adicionando 2400 µL de agua y 150 µL de Folin-Ciocalteu (0,25 N); se agito 5 min en el vórtex, luego añadimos 300 µL de carbonato de sodio y dejamos reposar 2 h 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 EAG/g de muestra). (Anexo 4 y 14).

3.3.4. Determinación del contenido de flavonoides

El contenido de flavonoides fue determinado utilizando el método descrito por Zhishen *et al*³⁶, con ligeras modificaciones, que es descrito por Thangaraj³⁷. 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, se adicionó 0,15 mL de solución de cloruro de aluminio al 10 %. A los 6 minutos, 2 mL de hidróxido de sodio al 4 % fue adicionado a la mezcla. Inmediatamente, la solución fue completada hasta 5 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 mL). El contenido de flavonoides de los extractos fue expresado como mg equivalentes a quercetina/g de muestra (mg EQ/g de muestra). (Anexo 5 y 15).

3.3.5. Determinación del contenido de flavonol

El contenido del flavonol se determinó utilizando el método descrito por Zhishen *et al*³⁶, con ligeras modificaciones, que es descrito por Thangaraj³⁷. 0,50 mL de una alícuota del extracto fue mezclado con 0,50 mL de agua destilada. Luego se agregó 2 mL de cloruro de aluminio (20 g/1L) y 6 mL de acetato de sodio (50 g/1L), proceder a agitar por 5 min, para después incubar a temperatura ambiente por

2 h y 30 min. La absorbancia de la mezcla final fue determinada a 440 nm. Se preparó una curva de calibración con quercetina (0,2; 0,4; 0,6; 0,8 y 1,0 mL). El contenido de flavonol de los extractos fue expresado como mg equivalentes a quercetina/g de muestra (mg EQ/g de muestra). (Anexo 6 y 16).

3.3.6. Determinación de la actividad antioxidante por el método de secuestro del radical libre 2,2 – difenil –1–picrilhidrazilo (DPPH)

3.3.6.1. Fundamento

El DPPH es uno de los pocos radicales orgánicos estable, presenta una fuerte coloración violeta, es comercialmente disponible y no tiene que ser generado *in situ* como el ABTS. El ensayo se fundamenta en la medición de la capacidad de un antioxidante para estabilizar el radical DPPH, esta medición puede hacerse espectrofotométricamente siguiendo el decaimiento de la absorbancia a 517 nm³⁷. DPPH, consiste en que este radical tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por la reacción de la presencia de una sustancia antioxidante³⁸.

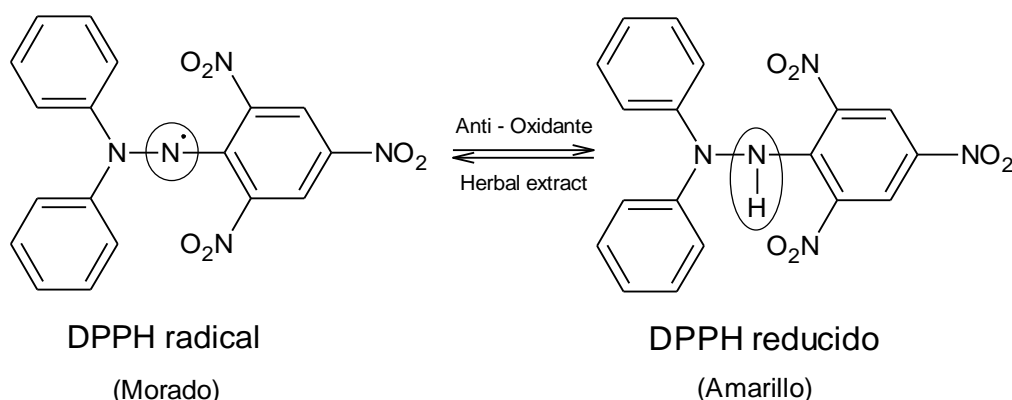


Figura 3. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante³⁸.

3.3.6.2. Procedimiento

El método DPPH empleado es descrito por Brand *et al*⁸⁸, Con algunas modificaciones hechas por Thaipong *et al*⁸⁵. 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. 150 μ L de extractos y 2850 μ L de ST reaccionan en 30 min en la oscuridad, las absorbancias fueron leídas a 515 nm en un espectrofotómetro UV – Vis GENESYS 10. La curva estándar tuvo una concentración entre (25-800 μ M) de trolox. El resultado se expresa en μ mol equivalentes de trolox/g muestra (μ mol ET/g de muestra). (Anexo 7 y 17).

La actividad secuestradora del radical libre DPPH será calculada de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de secuestro del DPPH} = \left[\frac{A_{\text{DPPH}} - A_{\text{mp}}}{A_{\text{DPPH}}} \right] \times 100$$

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

3.3.7.1. Fundamento

El radical ABTS se genera a partir de su precursor el ácido 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolín-6, sulfónico) (ABTS). El radical catiónico obtenido es un compuesto de color verde azulado estable y con un espectro de absorción en el UV-visible. El fundamento de este método consiste en observar la decoloración del radical ABTS debido a la interacción con especies donantes de hidrogeno^{39,40}.

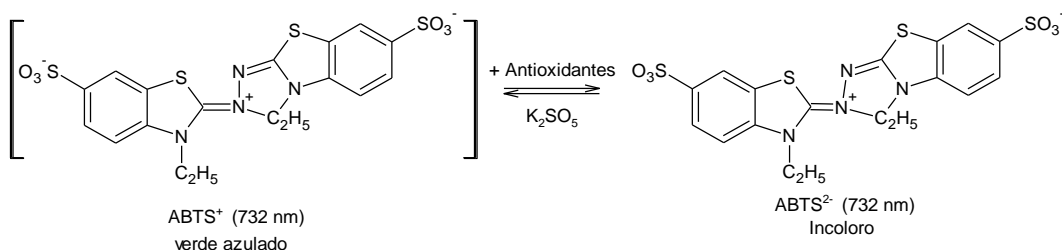


Figura 4. Estructura del ABTS antes y después de la reacción con el antioxidante⁴⁰

3.3.7.2. Procedimiento

Se utilizó el procedimiento descrito por Arnao *et al*⁴², modificado por Thaipong *et al*³⁵. Para el cual se prepara una solución patrón (SP) constituida por 40,6 mg de ABTS y 7 mg de persulfato de potasio, cada uno en frascos de 10 mL con agua destilada, la cual fue mezclada y se dejó reaccionar por 12 horas. La solución de trabajo (ST) fue preparada a partir de 1 mL de SP disuelto en 60 mL de metanol para obtener 0,7 ± 0,02 de absorbancia a 734 nm siguiendo la metodología de Re *et al*⁴³. La muestra (150 µL) será mezclada con 2900 µL de solución de ABTS, dejando reaccionar en la oscuridad por 30 min y se lee la absorbancia a 734 nm. Se preparó una curva estándar con Trolox (25 – 600 µM). Los resultados serán expresados como µmol equivalentes de Trolox/g de muestra (µmol ET/g de muestra). (Anexo 8 y 18).

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

3.3.8.1. Fundamento

Es uno de los métodos más utilizados describe la habilidad reductiva del ion férrico. consiste en medir el incremento en la absorbancia a 593 nm (Azul) que se desarrolla cuando el complejo TPTZ-Fe³⁺ se reduce a TPTZ-Fe²⁺ cuanto más antioxidante es la sustancia objeto de estudio, mayor es la reducción y mayor la concentración de (TPTZ-Fe²⁺) por lo tanto es más alta la señal de absorbancia^{43,44}.

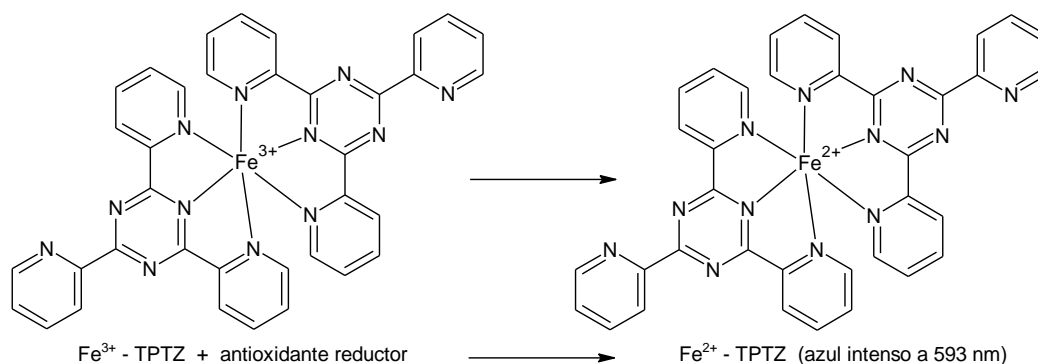


Figura 5. Reacción involucrada en el ensayo FRAP⁴⁴

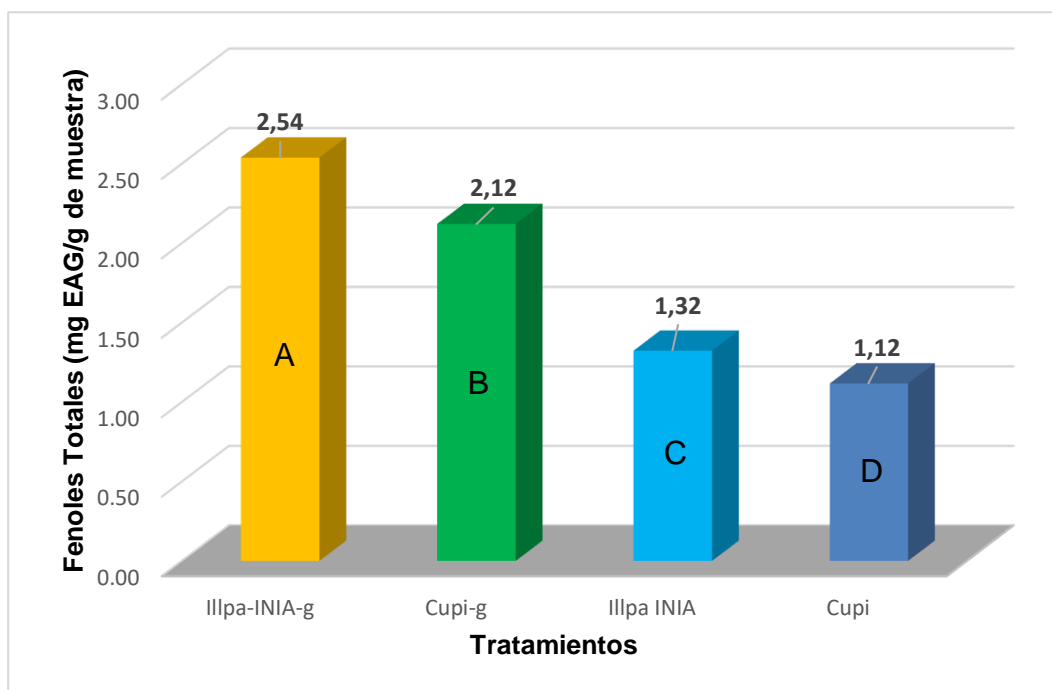
3.3.8.2. Procedimiento

Se realizó según el procedimiento descrito por Benzie y Strain⁴⁶, con modificaciones hechas por Thaipong *et al*³⁵. La solución patrón incluye 310 mg de buffer acetato con 1,6 mL de ácido acético, aforados a 100 mL con agua destilada a un pH 3,6; 31,2 mg de TPTZ (2, 4, 6-tripiridil-triazina) disueltos en una solución de HCl 40 mM y 51,1 mg de solución de cloruro férrico aforados a 10 mL con metanol. 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 y 19).

3.4. Análisis de datos

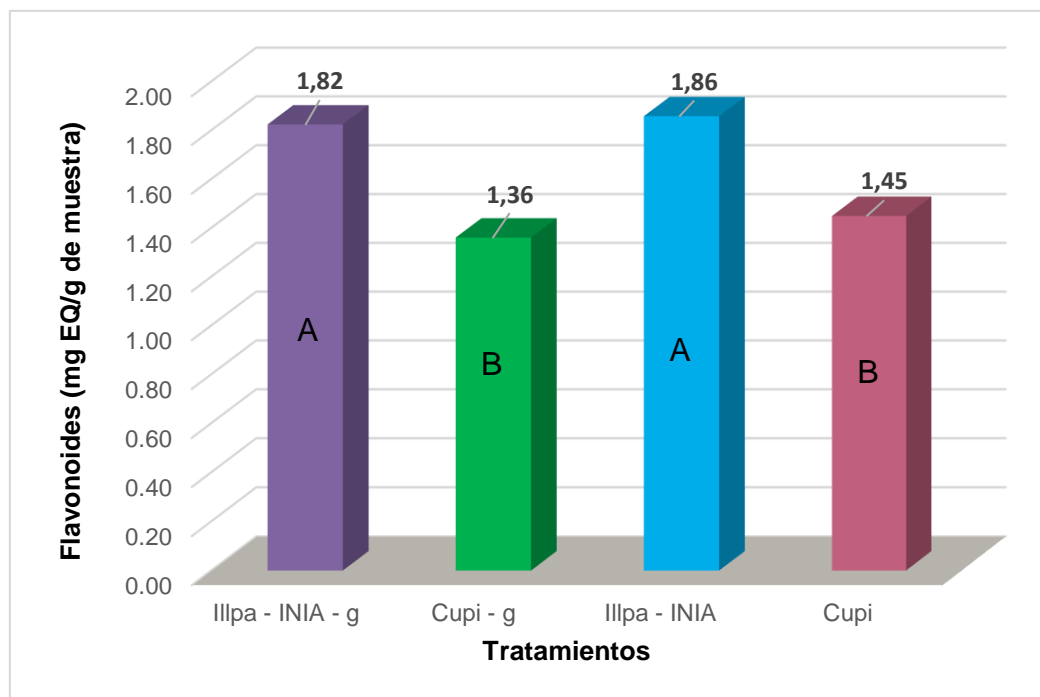
La comparación de dos cultivares en estudio y las semillas sin germinar serán evaluadas mediante análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia estadística de 95 % respectivamente y una prueba complementaria Scheffé.

IV. RESULTADOS



$p < 0,05$

Figura 6. Contenido de fenoles totales, expresados como mg EAG/g de muestra del germinado y no germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.



$p < 0,05$

Figura 7. Contenido de flavonoides, expresados como mg EQ/g de muestra del germinado y no germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.

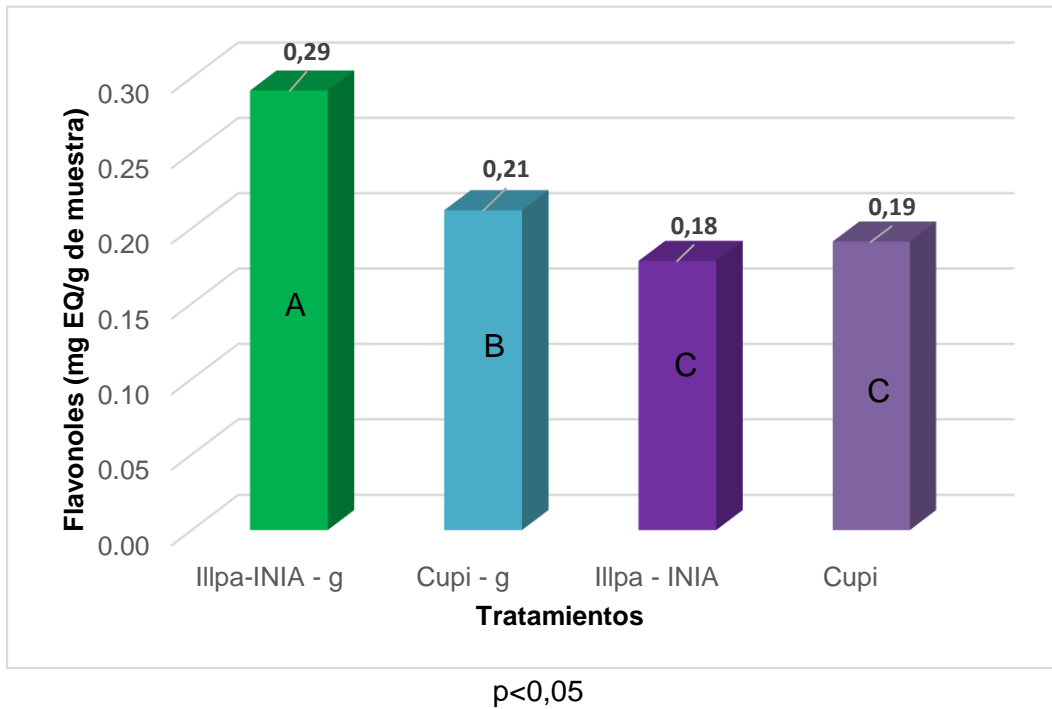


Figura 8. Contenido de flavonoles, expresados como mg EQ/g de muestra del germinado y no germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.

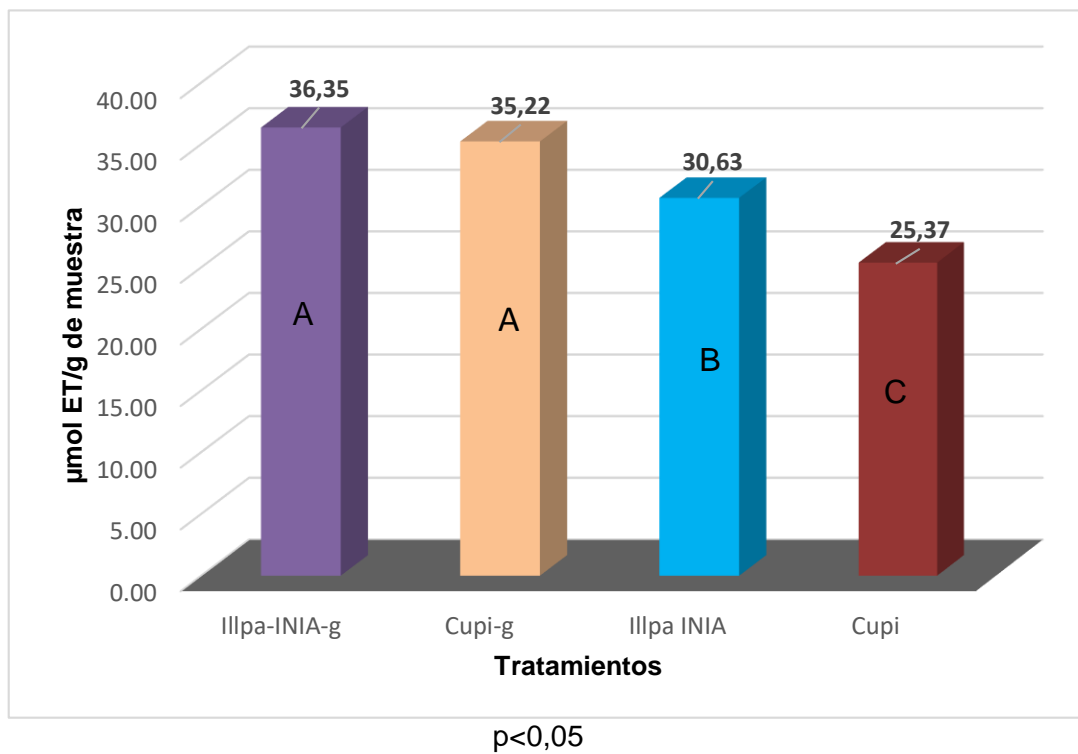
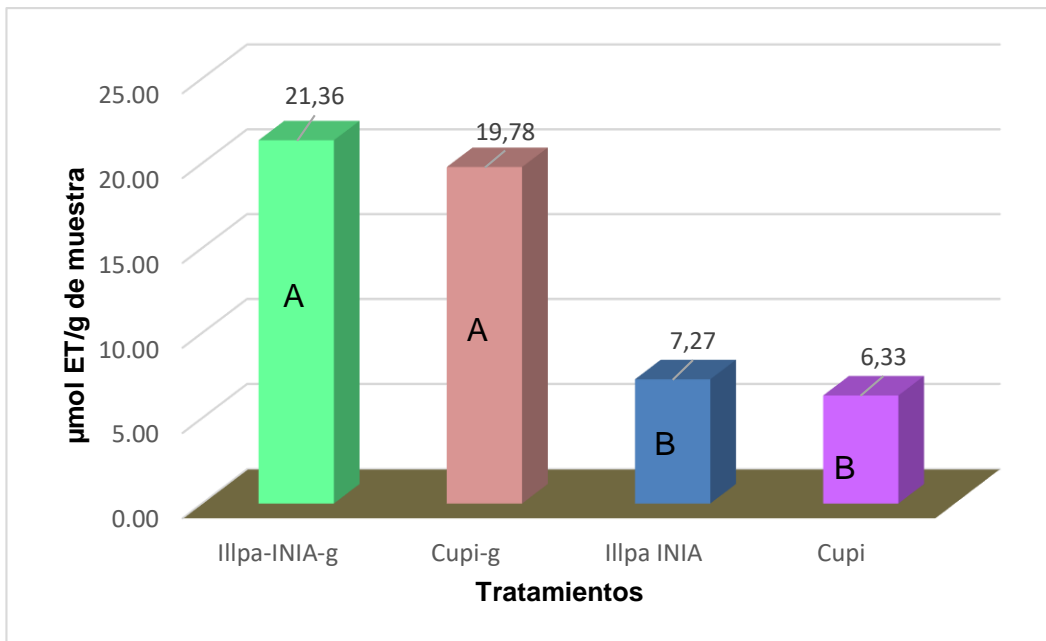
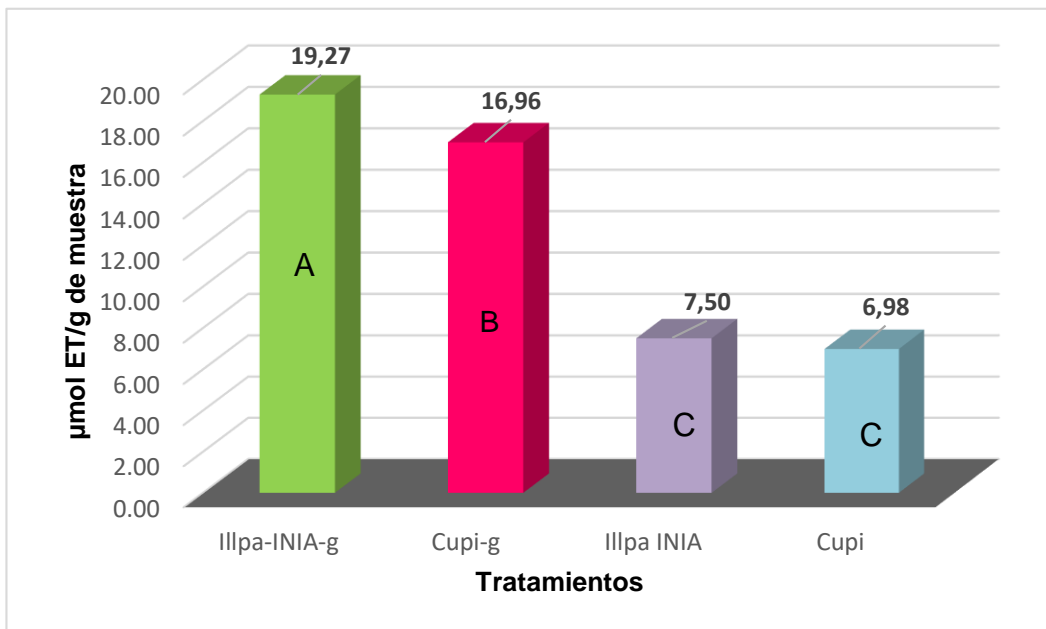


Figura 9. Actividad secuestradora del radical libre DPPH, expresado como µmol ET/g de muestra del germinado y no germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.



p<0,05

Figura 10. Actividad secuestradora del catión radical ABTS, expresado como $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra del germinado y no germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.



p<0,05

Figura 11. Potencial actividad reductora del hierro (FRAP), expresados como $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra del germinado y no germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.

V. DISCUSIÓN

En la figura 6, Se observa que el germinado de los cultivares Illpa-INIA y Cupi presentaron valores de ($2,54 \pm 0,039$ y $2,12 \pm 0,063$ mg EAG/g de muestra respectivamente), mientras que, las semillas sin germinar presentaron valores de $1,32 \pm 0,044$ mg EAG/g de muestra para Illpa – INIA y $1,12 \pm 0,046$ mg EAG/g de muestra para Cupi respectivamente. El incremento de fenoles totales por efecto de la germinación fue aproximadamente de un 90 % en ambos cultivares. Se realizó el análisis de varianza hallándose diferencias altamente significativas ($p < 0,05$), seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Scheffé (Anexo 26), observándose que el germinado de la semilla de la variedad Illpa–INIA tuvo el mayor contenido de fenoles totales y la semilla sin germinar de la variedad Cupi presentó el menor contenido. Cruz⁴⁷, reportó el contenido de fenoles totales de 2 variedades, 16 accesiones y 10 especies silvestres de *Chenopodium pallidicaule* Aellen, en Bolivia, de las 28 muestras analizadas, la accesión Challapata (DK1) tuvo el mayor contenido de fenoles totales con un valor de 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, estos valores son menores a lo que se reporta en este trabajo, además, son especies diferentes a las estudiadas, solamente las estudiaron como semillas. En la obtención del extracto se utilizaron como solvente al metanol y cada muestra fue comparada con una curva estándar de ácido gálico, igual que el presente estudio. Abderrian *et al*⁴⁸, reportaron el contenido de fenoles totales de la semilla de *Chenopodium palliducaule* Aellen sin germinar y germinado de la variedad Cupi, siendo 2,5 mg EAG/g de muestra y de 4,8 mg EAG/g de muestra respectivamente. Se observó que el incremento de fenoles totales fue aproximadamente el doble. Sus valores fueron superiores al reportado en nuestra investigación, debido a que ellos realizaron dos extracciones sucesivas: primero con metanol acidificado y agua (1:1), seguido de acetona: agua (7:3), reuniendo los extractos, al cual llamaron fracción extraíble de compuestos fenólicos, luego,

con el residuo realizaron una hidrólisis con metanol: H₂SO₄ (9:1) y el extracto obtenido fue llamado fracción no extraíble. Finalmente determinaron en ambas fracciones el contenido de compuestos fenólicos. Pero, demuestran que el germinado produce un incremento en el contenido de fenoles totales, de la misma forma que en nuestra investigación. Luna⁴⁹, trabajó con semillas de dos accesiones de cañihua sin precisar el cultivar, determinando el contenido de fenoles totales, en semillas sin germinar y germinado a las 72 horas, reportando en la accesión PIK 0304013 en semilla sin germinar 0,70 mg EAG/ g de muestra y en el germinado 0,78 mg EAG/g de muestra; mientras que la accesión PIK 030133 en semilla sin germinar 0,6325 mg EAG/ g de muestra y en el germinado 0,953 mg EAG/g de muestra. Ambas accesiones tienen diferencias en su contenido de fenoles totales, tanto en semillas germinadas y sin germinar. En consecuencia, se confirma la influencia del tipo de accesión y la germinación en el contenido de fenoles totales. Repo de Carrasco y Encina⁹, estudiaron 11 variedades de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”, reportando el contenido de fenoles totales en el rango de 0,67 ± 0,70 hasta 0,85 ± 0,47 mg EAG/g de muestra, entre las cuales se encuentra las variedades Illpa-INIA y Cupi sin germinar, reportando para Illpa-INIA un valor de 0,77 ± 0,87 mg EAG/g de muestra y Cupi un valor de 0,81 ± 0,90 mg EAG/g, estos valores son menores a los reportados en el presente trabajo, a pesar de que ellos tomaron 5 g de muestra y lo diluyen en 20 mL de metanol. Posiblemente se extrajeron menos compuestos fenólicos, debido a la saturación del solvente de extracción.

En la figura 7, Se observa que el germinado de los cultivares Illpa-INIA y Cupi presentaron valores de 1,82 ± 0,096 y 1,36 ± 0,23 mg EQ/g de muestra respectivamente, mientras que, las semillas sin germinar presentaron valores de 1,86 ± 0,135 mg EQ/g de muestra para Illpa-INIA y 1,45 ± 0,17 mg EQ/g de muestra para Cupi respectivamente. El contenido de flavonoides de las semillas germinadas disminuye ligeramente con respecto a las semillas sin germinar, por lo cual decimos que no hay influencia de la germinación en el contenido de flavonoides. Se realizó el análisis de varianza hallándose diferencias altamente significativas ($p < 0,05$) seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Scheffé (Anexo 27), observándose que existen diferencias entre el germinado y no germinado de ambos cultivares. La variedad Illpa-INIA sin germinar tuvo el mayor contenido de flavonoides y la semilla germinada de la variedad Cupi presentó el menor contenido. Peñarrieta *et al*¹⁶, estudiaron 10 muestras de

Chenopodium pallidicaule “cañihua” en Bolivia, determinando el contenido de flavonoides un rango de 0,63–3,08 mg EC/g de muestra, este valor es ligeramente mayor a los resultados de este estudio, probablemente porque ellos utilizan como muestra las hojas, tallos, semillas y en la obtención del extracto realizaron una doble extracción, primero con el tampón acetato de sodio y luego con la acetona. La absorbancia final de cada muestra lo compararon con la estándar catequina, mientras que en esta investigación se hizo con la quercetina. Asimismo, Repo de Carrasco *et al*⁵⁰, reportaron el contenido de flavonoides de la semilla de *Chenopodium pallidicaule* Aellen de 4 ecotipos estudiados, el ecotipo kello fue la que mostro mayor contenido de flavonoides 1,44 ± 2,5 mg EQ/g de muestra, lo cual es similar a los resultados reportados en la presente investigación, a pesar de que ellos trabajan con un método distinto y la cuantificación lo realizaron por HPLC. Cruz⁴⁷, publicó que entre las 2 variedades, las 16 accesiones y 10 especies silvestres de *Chenopodium pallidicaule* Aellen, reportó valores en un rango de 0,83 y 0,09 mg EC/g de muestra, los cuales son menores a los resultados del presente estudio, la metodología utilizada para la obtención del extracto es igual para ambas investigaciones, pero podría haber influido la variedad, la zona climática, ya que las muestras analizadas son procedentes de Bolivia. Abderrian *et al*⁴⁸, reportaron el contenido de flavonoides de la semilla de *Chenopodium pallidicaule* Aellen sin germinar y germinado de la variedad cupi, siendo 2,2 mg EQ/g de muestra y de 2,25 mg EQ/g de muestra respectivamente. Se observa que estos valores son similares, por lo tanto, decimos que no hubo influencia del geminado en el contenido de flavonoides igual a la presente investigación. Sin embargo, los valores que ellos obtienen son mayores, debido a que ellos realizan una extracción ácida metanólica y una extracción acetónica.

En la figura 8, se muestra el contenido de flavonoles presentes en semillas de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”, germinadas y no germinadas. Se observa que el germinado de los cultivares Illpa -INIA y Cupi presentaron valores de 0,29 ± 0,009 y 0,21 ± 0,011 mg EQ/g respectivamente, mientras que, las semillas sin germinar presentaron valores de 0,18 ± 0,018 mg EQ/g muestra para Illpa – INIA y 0,19 ± 0,005 mg EQ/g muestra para Cupi respectivamente. El incremento de los flavonoles en el cultivar Illpa-INIA fue aproximadamente de un 60 % y en el cultivar Cupi fue de 11 % aproximadamente, con lo cual decimos que hay influencia del germinado en el contenido de flavonoles. Se realizó el análisis de varianza hallándose diferencias altamente

significativas ($p < 0,05$), seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Scheffé (Anexo 28), observándose que el germinado de la semilla de la variedad Illpa-INIA tuvo el mayor contenido de flavonoles y la semilla sin germinar de la variedad Illpa-INIA presentó el menor contenido. Rastrelli *et al*⁶¹, reporta un valor de 1,33g/Kg en semillas sin germinar.

En la figura 9, se observa que el germinado de los cultivares Illpa -INIA y Cupi presentaron valores de $36,35 \pm 0,03$ y $35,32 \pm 0,71$ $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra, mientras que, las semillas sin germinar presentaron valores de $30,63 \pm 1,68$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra para Illpa-INIA y $25,37 \pm 1,67$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra para Cupi respectivamente. El incremento de la actividad antioxidante en las semillas germinadas fue aproximadamente de un 18 % para el cultivar Illpa-INIA y un 38 % para el cultivar Cupi. Se realizó el análisis de varianza hallándose diferencias altamente significativas ($p < 0,05$), seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Scheffé (Anexo 29), observándose que el germinado de la semilla de la variedad Illpa-INIA tuvo mayor actividad antioxidante y la semilla sin germinar de la variedad Cupi menor actividad. Cruz⁴⁷, estudio la determinación de la actividad antioxidante con 2 variedades, 16 accesiones y 10 especies silvestres de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”, encontrando que la accesión challapata (DK1) presento mayor actividad antioxidante $45,38$ $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra y el valor mínimo correspondió a la especie silvestre (C-OR) con $0,95$ $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra. Se observa que el valor máximo es ligeramente superior a los resultados de la presente investigación, pese a que se usó la misma metodología en la obtención del extracto y en la determinación de la actividad antioxidante. En la diferencia con nuestros resultados pudo haber influido las especies ya que son distintas a las estudiadas y la procedencia es de Bolivia. Repo de Carrasco y Encina⁹, estudiaron 11 variedades de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”, determinando la actividad antioxidante en un rango de $0,367 \pm 1,54$ hasta $6,036 \pm 20,25$ $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra, entre las cuales se encuentra las variedades Illpa-INIA y Cupi sin germinar, reportando para Illpa-INIA un valor de $5,68 \pm 56,75$ $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra y Cupi un valor de $4,66 \pm 33,54$ $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra, estos valores son menores a los reportados en el presente trabajo. Para la obtención del extracto ellos tomaron 5 g de muestra y lo diluyen en 25 mL de metanol, lo cual pudo haber ocasionado una saturación del solvente. Utilizaron la misma metodología para la determinación de la actividad antioxidante con una ligera diferencia que el DPPH que diluyeron se ajustó a una absorbancia

de $1,1 \pm 0,02$. Repo de Carrasco *et al*⁶², determinaron la Capacidad Antioxidante por el método DPPH de dos variedades de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”, Cupi y Ramis no germinado cuyos valores fueron $16,8 \pm 5,50$ y $16,2 \pm 5,33$ $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra respectivamente, estos valores comparados con el cultivar cupi no germinado son menores. La obtención del extracto se realiza con metanol, pero no especifica la relación de cantidades; en cuanto a las muestras fueron obtenidas del mismo departamento para cada investigación.

En la figura 10, se muestra la capacidad antioxidante por el método ABTS, en semillas de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”, germinadas y no germinadas. Se observa que el germinado de los cultivares Illpa -INIA y Cupi presentaron valores de $21,36 \pm 0,279$ y $19,78 \pm 1,206$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra respectivamente, mientras que, las semillas sin germinar presentaron valores de $7,27 \pm 0,475$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra para Illpa – INIA y $6,33 \pm 0,790$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra para Cupi respectivamente. Se realizó el análisis de varianza hallándose diferencias altamente significativas ($p < 0,05$), seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Scheffé (Anexo 30), observándose que el germinado de la semilla de la variedad Illpa– INIA tuvo mayor capacidad antioxidante y la semilla sin germinar de la variedad Cupi menor actividad. Peñarrieta *et al*⁶⁰, reportaron la actividad antioxidante de 10 muestras de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua” en Bolivia, cuyos valores están en un rango de $1,8 - 7,8$ $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra, estos valores son similares a lo que se reporta en esta investigación, a pesar que la extracción lo realizaron con el tampón de acetato de sodio y luego con la acetona; para la actividad antioxidante se usa la misma metodología en ambos estudios. Cruz⁴⁷, estudio la actividad antioxidante de 2 variedades, 16 accesiones y 10 especies silvestres de *Chenopodium pallidicaule* Aellen, la accesión Challapata (DK1) presenta mayor capacidad antioxidante con un valor de $9,28$ $\mu\text{mol/g}$ de muestra, lo cual es mayor a lo que se obtuvo en las semillas sin germinar, este resultado podría ser por las diferentes muestras analizadas en cada estudio y la procedencia, ya que se utiliza la misma metodología para determinar esta actividad. Abderrahim *et al*⁶⁸, reportaron la actividad antioxidante de la semilla de *Chenopodium pallidicaule* Aellen, germinado y sin germinar de la variedad Cupi, siendo 100 y 73 $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra respectivamente, valores superiores a esta investigación, sin embargo, se observa que el germinado produce un incremento en la actividad antioxidante, similar a nuestra investigación.

En la figura 11, se muestra la capacidad antioxidante por el método FRAP, en semillas de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”, germinadas y no germinadas. Se observa que el germinado de los cultivares Illpa-INIA y Cupi presentaron valores de $19,27 \pm 0,41$ y $16,96 \pm 0,57$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra, mientras que, las semillas sin germinar presentaron valores de $7,50 \pm 0,77$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra para Illpa-INIA y $6,98 \pm 0,86$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra para Cupi respectivamente. El incremento de la capacidad antioxidante fue aproximadamente de un 60 % en ambos cultivares por efecto de la germinación. Se realizó el análisis de varianza hallándose diferencias altamente significativas ($p < 0,05$), seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Scheffé (Anexo 31), observándose que el germinado de la semilla de la variedad Illpa-INIA tuvo mayor capacidad antioxidante y la semilla sin germinar de la variedad Cupi presentó el menor contenido. Peñarrieta *et al*¹⁶, estudiaron la actividad antioxidante de 10 muestras de cañihua en Bolivia, reportando un rango de 2,7–18,1 $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra. Este valor es mayor a los reportados en esta investigación debido a que realizaron una doble extracción para la obtención del extracto. En cuanto a la actividad antioxidante siguieron la misma metodología que en el presente estudio. Según Cruz⁴⁷, publicó la actividad antioxidante en 2 variedades, 16 accesiones y 10 especies silvestres de *Chenopodium pallidicaule* Aellen, en Bolivia, encontró valores en un rango de 0,81-8,96 $\mu\text{mol TE/g}$ de muestra, los cuales son similares a los resultados que se obtuvo en el presente trabajo de investigación, a pesar que las especies estudiadas son distintas.

VI. CONCLUSIONES

1. El germinado de las semillas de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua” de los cultivares Illpa-INIA y Cupi presentan capacidad antioxidante.
2. El germinado de las semillas de cañihua, cultivares Illpa-INIA y Cupi presenta contenido de fenoles totales de 2,54 y 2,12 mg EAG/g de muestra; flavonoides de 1,82 y 1,36 mg EQ/g de muestra; flavonoles de 0,29 y 0,21 mg EQ/g de muestra respectivamente. Las semillas sin germinar de los cultivares Illpa-INIA y Cupi presenta fenoles totales de 1,32 y 1,12 mg EAG/g de muestra; flavonoides 1,86 y 1,45 mg EQ/g de muestra; flavonoles 0,18 y 0,19 mg EQ/g de muestra respectivamente.
3. El germinado de las semillas de cañihua, cultivares Illpa-INIA y Cupi presenta capacidad antioxidante, por el método DPPH 36,35 y 35,22 $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra; por el método FRAP 21,36 y 19,78 $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra; por el método ABTS 19,27 y 16,96 $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra respectivamente. En semillas no germinadas por el método DPPH 30,63 y 25,37 $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra; por el método ABTS 7,27 y 6,33 $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra; por el método FRAP 7,50 y 6,98 $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra respectivamente.
4. El germinado de las semillas de cañihua tiene mayor contenido de fenoles totales, flavonoles y capacidad antioxidante en relación a las semillas sin germinar.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar el ensayo de actividad antioxidante con el germinado de otras variedades de la semilla de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”, para identificar cuál de ellas tiene mejor actividad antioxidante.
2. Se recomienda el consumo de granos de cañihua, porque su calidad nutricional es completa y se complementa con su calidad de alimento funcional antioxidante; a la vez que compite su valor con frutas de mayores dimensiones.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bidwell, R. Fisiología Vegetal. México. AGT. Editor, S.A; 1990.
2. Racines, A. Investigación de los germinados de lenteja, quínoa, zanahoria, mostaza y su aplicación a la gastronomía actual. [Tesis para obtener Título de administrador gastronómico]. Ecuador: Universidad Tecnológica Equinoccial. Facultad de Turismo y Preservación Ambiental, Hotelería y Gastronomía; 2011.
3. Yasuko E, Piedade M. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) as Functional Food. Revista Brasileira de Ciências da Saúde. 2010. 24 (8): 62-67 pp.
4. Repo de Carrasco R, Espinoza C, Jacobsen S. Nutritional value and use of the Andean crops quinoa (*Chenopodium quinoa*) and kaniwa (*Chenopodium pallidicaule*), Food Rev.2003; (19): 179-189.
5. Zamora S. Antioxidantes: Micronutrientes en lucha por la salud. Rev. chil. Nutr; 2007; (34):17-26.
6. Finkel T, Holbrook N. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. Bethesda. National Institutes of Health. 2000.
7. 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". [Informe Final de Investigación. Unidad de Investigación e Innovación]. Perú: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de Ciencias de la Salud; 2016.
8. 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". [Informe Final de Investigación. Unidad de Investigación e Innovación]. Perú: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de Ciencias de la Salud; 2017.
9. Repo de Carrasco R, Encina C. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de cereales andinos: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), Kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) y Kiwicha (*Amaranthus caudatus*). Rev. Sociedad Química Perú. 2008; 74(2): 85-99.
10. Castillo E. Determinación de los compuestos antioxidantes durante la germinación y extrusión en la cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) [Tesis para optar Título de Ingeniero Agroindustrial]. Perú: Universidad del Altiplano. Facultad de Ciencias Agrarias ;2010.

11. Tarzi B, Gharachorllo M, Baharinia M, Mortazavi S. The effect of germination on phenolic content and antioxidant activity of chickpea. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2012; 11(4):137 - 1143.
12. Gharachorloo M, Tarzi BG, Baharinia M, Hemaci AH. Antioxidant activity and phenolic content of germinated lentil (*Lens culinaris*). *Journal of Medicinal Plants Research*. 2012;(30): 4562 - 4566.
13. Aucasime I. Descripción personal de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho-Perú. 2018.
14. Apaza V. Manejo y mejoramiento de kañiwa. Instituto Nacional de Innovación Agraria – INIA. Centro de Investigación de Recursos Naturales y Medio Ambiente. Editorial Altiplano E.I.R.L. 2010.p.4.
15. Gross R, Koch F, Malaga I, Miranda A, et al. Chemical composition and protein quality of some local Andean food sources, *Food Chem*. 1989; (34): 25–13.
16. Peñarrieta M, Alvarado A, Åkesson B and Bergenstahl B. Total antioxidant capacity and content of flavonoids and other phenolic compounds in canihua (*Chenopodium pallidicaule*): An Andean pseudocereal. *Mol. Nutr. Food Res*. 2008;(52): 708-717.
17. Rastrelli L, Saturnino P, Schettino O and Dini A. Studies on the constituents of *Chenopodium pallidicaule* (Cañihua) seeds, isolation and characterization of two new flavonol glycosides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.1995; (43): 2020-2024.
18. Nina A. Comportamiento agronómico de diez accesiones de cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) en zonas áridas. [Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero Agrónomo]. Perú: Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa; 2014.
19. Repo de Carrasco R, Hellström J, Juha P; Mattila P. Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Food Chemistry*. 2009 (120): 128–133.
20. Escobar M. Extracción de compuestos fenólicos de las cáscaras de cítricos producidos en México. [Tesis para optar el Título de: Maestra en Ciencias en Alimentos]. México: Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de ciencias biológicas; 2010.

21. Teran R. Diseño de mezclas de compuestos fenólicos en función a su eficacia antioxidante en el aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis*). [Tesis para optar el grado de magíster scientiae en tecnología de alimentos]. Perú: universidad nacional agraria la molina; 2014.
22. Pietta G. Flavonoids as antioxidants. Journal Product natural Review. 2000(63): 1035- 1042.
23. Willits M, Giovanni M, Prata R, Kramer C, Luca V, Steffens J, Grase, G. Bio-fermentation of modified flavonoids: an example of in vivo diversification of secondary metabolites. Phytochem. 2004; (65):31-41.
24. Lambert J, Hong J, Yang G, Liao J, Yang C. Inhibition of carcinogenesis by polyphenols: evidence from laboratory investigations. Am. J. Clin. Nutr. 2005; (81): 284-291.
25. Coronado M, Salvador H, Gutiérrez L, Vázquez M, Radilla C. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. Rev Chil Nutr. 2015; 42 (2): 206-211.
26. Jauam G. Consumo de Antioxidantes Naturales y Esteroles Vegetales en Adultos Mayores entre 65 y 75 años con Dislipidemia. [Tesis para obtener el Título de Grado de Licenciatura en Nutrición]. Argentina: Universidad Abierta Interamericana; 2011.
27. Poggio M. Consumo de antioxidantes naturales en personas con dislipidemia.[Tesis para obtener el Título de Grado de Licenciatura en Nutrición]. Argentina: Universidad Abierta Interamericana; 2012.
28. Pita J, Pérez F. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Secretaría General Técnica. Dpto. Biología Vegetal. Ingeniería Técnica Agrícola. 1998.Madrid.
29. García F, Roselló J, Santamarina P. Introducción al funcionamiento de las plantas. Editorial Univ. Politécnica de Valencia. España.2006. p.163-169
30. Dueñas M, Hernández T, Estrella I. Changes in the content of bioactive polyphenolic compounds of lentils by the action of exogenous enzymes. Effect on their antioxidant activity. Food Chem. 2007; (101): 90-97.
31. Sharma G, Srivastava A, Prakash D. Phytochemicals of nutraceutical importance: their role in health and diseases. Pharmacol. 2011; (2) 408-427.

32. Carciochi R, Manrique G, Dimitrov K. Changes in phenolic composition and antioxidant activity during germination of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd). *International Food Research Journal*. 2014;21(2): 2767 - 773.
33. 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. 34(1): 68-78.
34. Palombini S, Claus T, Maruyama S, Gohara A, Souza A, Souza N, Visentainer J, Gomes S, Matsuhita M. Evaluation of nutritional compounds in new amaranth and quinoa cultivars. *Food Sci. Technol, Campinas*. 2013 33(2): 339 - 344.
35. 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 Anal*. 2006; (19): 669-675.
36. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*. 1999; (64): 555-559.
37. Thangaraj P. *Pharmacological Assays of Plant - Based Natural Products*. Series: Progress in Drug Research 71. Editor: K.D. Rainsford. 1^o edition. Springer Ediciones, 2016.
38. Brand W, Cuveler M, Berset C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Food Sci. Technol*. 1995; (28): 25-30.
39. Amorin F. *Química Nova Interativa*, Sociedade Brasileira de Química. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rio de Janeiro - Nilópolis Campus. 2010.
40. Peláez E. Actividad antioxidante del extracto en diclorometano de *Palicourea guianensis* Aubl. (*Rubiaceae*). [Tesis de pregrado]. Colombia: Universidad Tecnológica de Pereira, 2009.
41. Marfil R. Parámetros de calidad y componentes con interés nutricional del aceite de argán (*Argania spinosa*). [Tesis Doctoral]. España: Universidad de Granada; 2008.
42. Arnao M, Cano A, Acosta M. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry*. 2001: 239 – 244.

43. Re R, Pellegrini N, Pannala A, Yang M, Rice C. Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 2009;(26):1231-1237.
44. Sulbaran B, Ojeda G, Berrade M, Fernández V, Peña. Evaluación de la actividad antioxidante del tomate crudo y procesado. *Rev.Fac.Agron.* 2011; (28): 273-291.
45. Prior R, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005;(53) :4290-4302.
46. Benzie I, Strain J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assays. *Analytical Biochemistry*. 1996; (239): 70 – 76.
47. Cruz D. Antioxidantes en variedades y líneas nuevas de cañihua (*Chenopodium pallidicaule*). [Tesis para obtener el Grado de Magister Scientiarum]. Bolivia: Universidad Mayor de San Andrés. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas; 2013.
48. Abderrian F, Huanatico E, Repo-Carrasco R, Arribas S, Gonzalez M, Condezo L. Effect of germination on total phenolic compounds, total antioxidant capacity, Maillard reaction products and oxidative stress markers in canihua (*Chenopodium pallidicaule*). *Journal of Cereal Science* 2012.
49. Luna E. Influencia del germinado y cocción húmeda en compuestos bioactivos de dos accesiones de cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen). [Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero agroindustrial]. Perú: Universidad Nacional del Altiplano. Facultad de Ciencias Agrarias. Puno; 2015.
50. Repo-Carrasco R, Hellström J, Juha P; Mattila P. Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Food Chemistry*. 2009; (120): 128–133.
51. Rastrelli L, Saturnino P, Schettino O and Dini A. Studies on the constituents of *Chenopodium pallidicaule* (Cañihua) seeds, isolation and characterization of two new flavonol glycosides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1995; (43): 2020-2024.

52. Repo-Carrasco R, Acevedo A, Icochea J. and Kallio H. Chemical and Functional Characterization of Kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) Grain, Extrudate and Bran. *Plant Foods Hum Nutr.*2009; (64): 94–101.

ANEXOS

Anexo 1. Certificado de identificación botánica de *Chenopodium pallidicaule* Aellen "cañihua". Ayacucho 2019.

CONSTANCIA

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

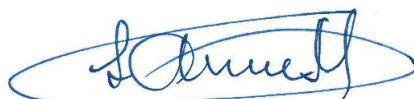
Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, Srta. Yulisa Carla, CENTENO JANAMPA, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

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 pallidicaule</i> Aellen. |
| N.V. | : | "cañihua" |


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

Ayacucho, 1 de Octubre del 2018



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

Anexo 2. Certificado oficial de *Chenopodium pallidicaule* Aellen "cañihua" cultivar Illpa-INIA. Ayacucho 2019



PERÚ Ministerio de
Agricultura y Riego

"Uno del Buen Servicio al Ciudadano"

Dirección
de Gestión de la
Innovación Agraria

LABORATORIO OFICIAL DE ANÁLISIS DE CALIDAD DE SEMILLAS
 Av. La Molina Nº 1981, Lima 12 - Perú. Telefax: (511) 349-2600 Anexo: 269 http://www.inia.gob.pe

CERTIFICADO OFICIAL DE ANÁLISIS DE LOTE DE SEMILLAS
 Nº 0387 -2017-INIA-DGIA-SDRIA-ARES

| Información Declarada por el Solicitante | | | | | | | | | |
|--|--|---|--|--|-----------------------------|--|--|-----------------------------------|--|
| Nombre: | | EEA ILLPA - INIA Puno | | | | | | | |
| Dirección: | | Rinconada Salcedo s/n. Dist. Puno, Prov. Puno - Dpto. Puno. | | | | | | | |
| RUC: | | 20448637663 | | | | | | | |
| Información del Lote | | | | | | | | | |
| Especie: | | <i>Chenopodium pallidicaule</i> | | | Cultivar: Illpa INIA | | | Clase / Categoría: No Certificada | |
| Nº Envases: | | 69 | | | Peso del Lote (kg): 3,450.0 | | | Código del Lote: NC-ILL1-007-16 | |

| Datos del Muestreo | |
|--|--------------------------------|
| Muestreador: Ing. José Limache Jarecca | Fecha del muestreo: 13/09/2017 |

| Resultados de los Análisis | | | Nº de Solicitud de Análisis: Nº 0737-2017 | | | | | | |
|---|----------------|---|---|--------------------|--|------------------|---------------------|------------------|--------------------------|
| Peso recibido (gramos): 259.00 | | Fecha de recepción de la muestra: 19/09/2017 | | | Fecha de término del análisis: 22/09/2017 | | | | |
| ANÁLISIS DE PUREZA | | | PRUEBA DE GERMINACION | | | | | | CONTENIDO DE HUMEDAD (%) |
| % en peso | | | Número de días | % en número | | | | | |
| Semilla pura | Materia inerte | Otras semillas | | Plántulas normales | Semillas duras | Semillas frescas | Plántulas anormales | Semillas muertas | |
| 99.7% | 0.3% | 0.0% | 3 | 98% | 0% | 0% | 0% | 2% | 11.02% |
| Clase de materia inerte: Tegumentos de semillas. | | | | | | | | | |
| Otras semillas: --- | | | | | | | | | |
| Otras Determinaciones: --- | | | | | | | | | |

| Observaciones: |
|---|
| Siembra sobre papel y puesta de ensayo al ciclo 25°C constante. |

| | |
|--|---|
| Lugar y Fecha: La Molina, 25 de setiembre 2017. |  <p>INSTITUTO NACIONAL DE INNOVACIÓN AGRARIA Dirección de Gestión de la Innovación Agraria Sub dirección de Registro de la Innovación Agraria Área de Registro de Semillas</p> <p>INCUBADOR DE SEMILLAS MATEO Registro de Laboratorio Oficial de Análisis de Semillas</p> <p>Firma y Sello</p> |
|--|---|

"Semilla: Insumo primordial para la Seguridad Alimentaria"

Av. La Molina 1981
 La Molina, Lima 12, Perú
 T: (511) 349-2600 anexo 205
 E: dgia@inia.gob.pe

Anexo 3. Certificado oficial de *Chenopodium pallidicaule* Aellen. "cañihua" cultivar Cupi. Ayacucho 2019.



PERÚ

Ministerio de
Agricultura y Riego

Instituto Nacional de Innovación Agraria

Dirección
de Gestión de la
Innovación Agraria

"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

LABORATORIO OFICIAL DE ANÁLISIS DE CALIDAD DE SEMILLAS

Av. La Molina N° 1981, Lima 12 - Perú. Telefax: (511) 349-2600 Anexo: 289 http://www.inia.gob.pe


CERTIFICADO OFICIAL DE ANÁLISIS DE LOTE DE SEMILLAS
N° 0388 -2017-INIA-DGIA-SDRIA-ARES

| | | | |
|---|---|---------------------|----------------|
| Información Declarada por el Solicitante | | | |
| Nombre: | EEA ILLPA - INIA Puno | | |
| Dirección: | Rinconada Salcedo s/n. Dist. Puno, Prov. Puno - Dpto. Puno. | | |
| RUC: | 20448637663 | | |
| Información del Lote | | | |
| Especie: | <i>Chenopodium pallidicaule</i> | Cultivar: | Cupi |
| | | Clase / Categoría: | No Certificada |
| N° Envases: | 69 (a) | Peso del Lote (kg): | 3,439.0 ✓ |
| | | Código del Lote: | NC-ILL1-006-16 |

| | |
|---------------------------|---------------------------|
| Datos del Muestreo | |
| Muestreador: | Ing. José Limache Jarecca |
| Fecha del muestreo: | 13/09/2017 |

| | | | | | | | | | |
|---|----------------|----------------|---|--|----------------|--|---------------------|---------------------------------|--------|
| Resultados de los Análisis | | | | N° de Solicitud de Análisis: N° 0735-2017 | | | | | |
| Peso recibido (gramos): 302.00 | | | Fecha de recepción de la muestra: 19/09/2017 | | | Fecha de término del análisis: 22/09/2017 | | | |
| ANÁLISIS DE PUREZA | | | PRUEBA DE GERMINACION | | | | | CONTENIDO DE HUMEDAD (%) | |
| % en peso | | | Número de días | % en número | | | | | |
| Semilla pura | Materia inerte | Otras semillas | | Plántulas normales | Semillas duras | Semillas frescas | Plántulas anormales | Semillas muertas | |
| 99.9% | 0.1% | 0.0% | 3 | 95% | 0% | 0% | 2% | 3% | 11.02% |
| Clase de materia inerte: Tegumentos de semillas, paja. | | | | | | | | | |
| Otras semillas: --- | | | | | | | | | |
| Otras Determinaciones: --- | | | | | | | | | |

| |
|---|
| Observaciones: |
| a. El lote muestreado esta conformado por sesenta y ocho (68) envases de 50 kg y 1 (un) envase de 39 kg. |
| b. Siembra sobre papel y puesta de ensayo al ciclo 25°C constante. |

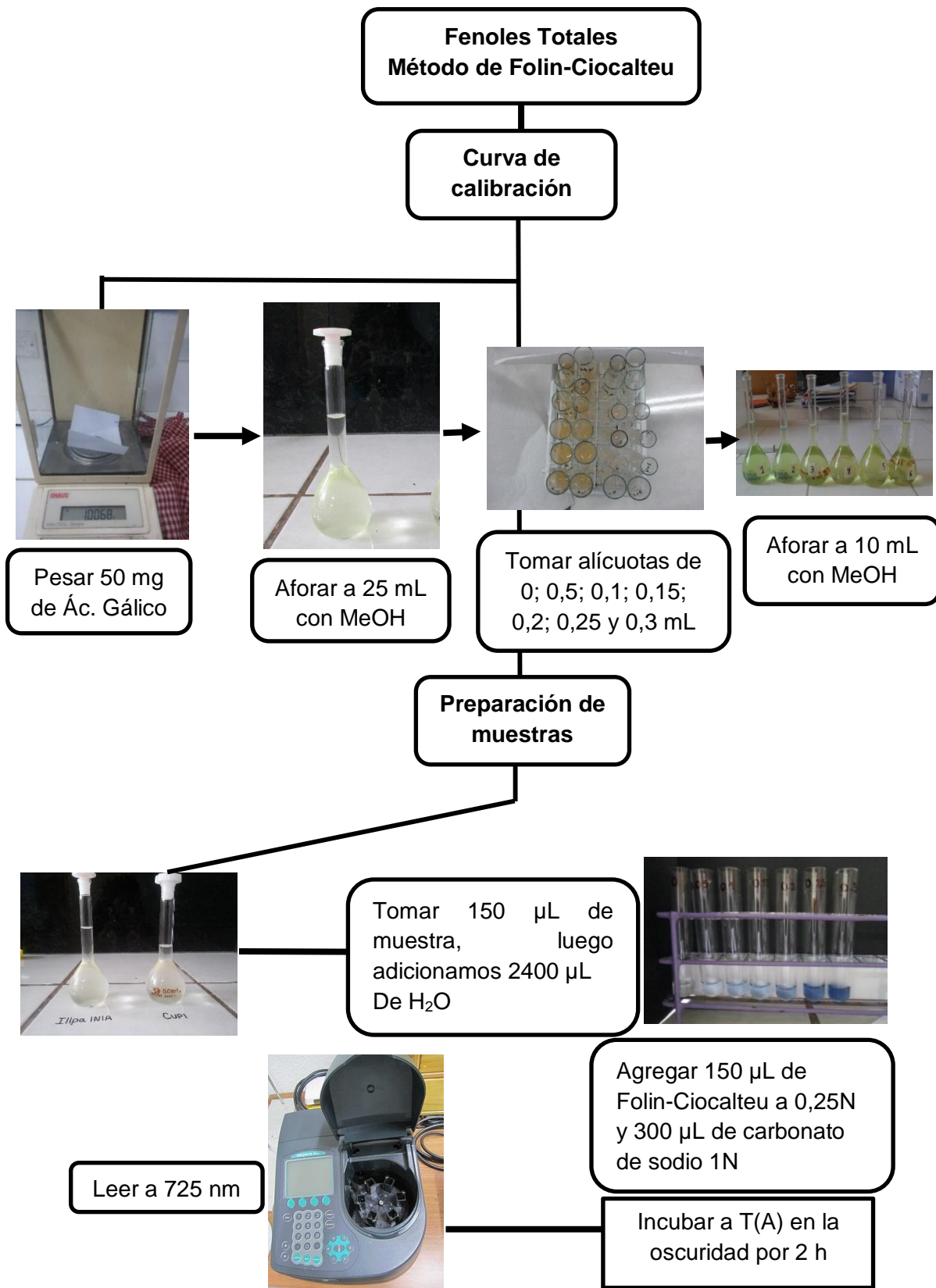
| | |
|----------------------------------|--|
| Lugar y Fecha: |  INSTITUTO NACIONAL DE INNOVACIÓN AGRARIA Dirección de Gestión de la Innovación Agraria Subdirección de Registro de la Innovación Agraria Oficina de Registro de Semillas ING. SUSANA CHAMPAUCA MATEO Responsable Laboratorio Oficial de Análisis de Semillas Firma y Sello |
| La Molina, 25 de setiembre 2017. | |

"Semilla: Insumo primordial para la Seguridad Alimentaria"

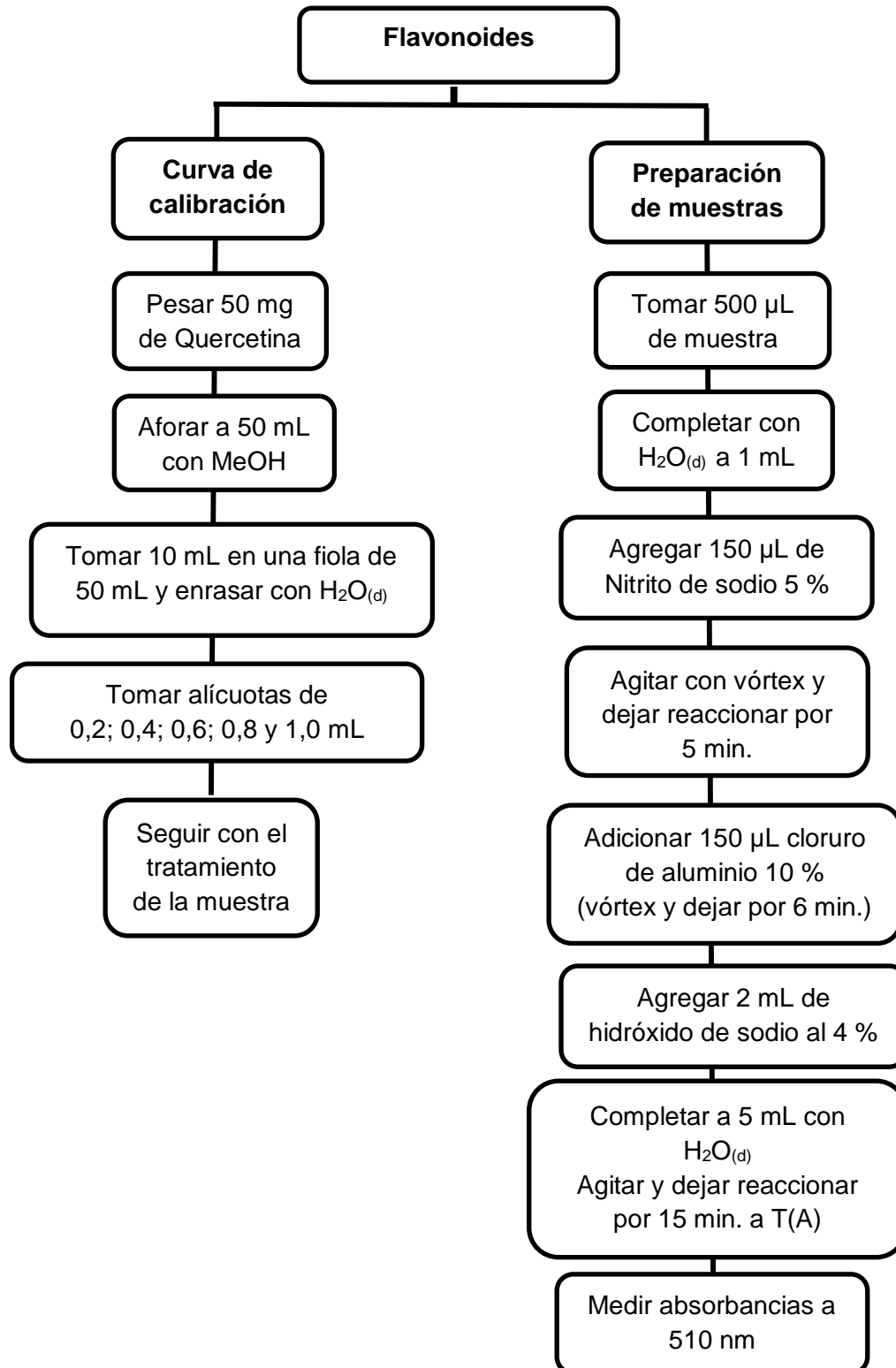
www.inia.gob.pe

Av. La Molina 1981
La Molina, Lima 12, Perú
T: (511) 349-2600 anexo 205
E: dgia@inia.gob.pe

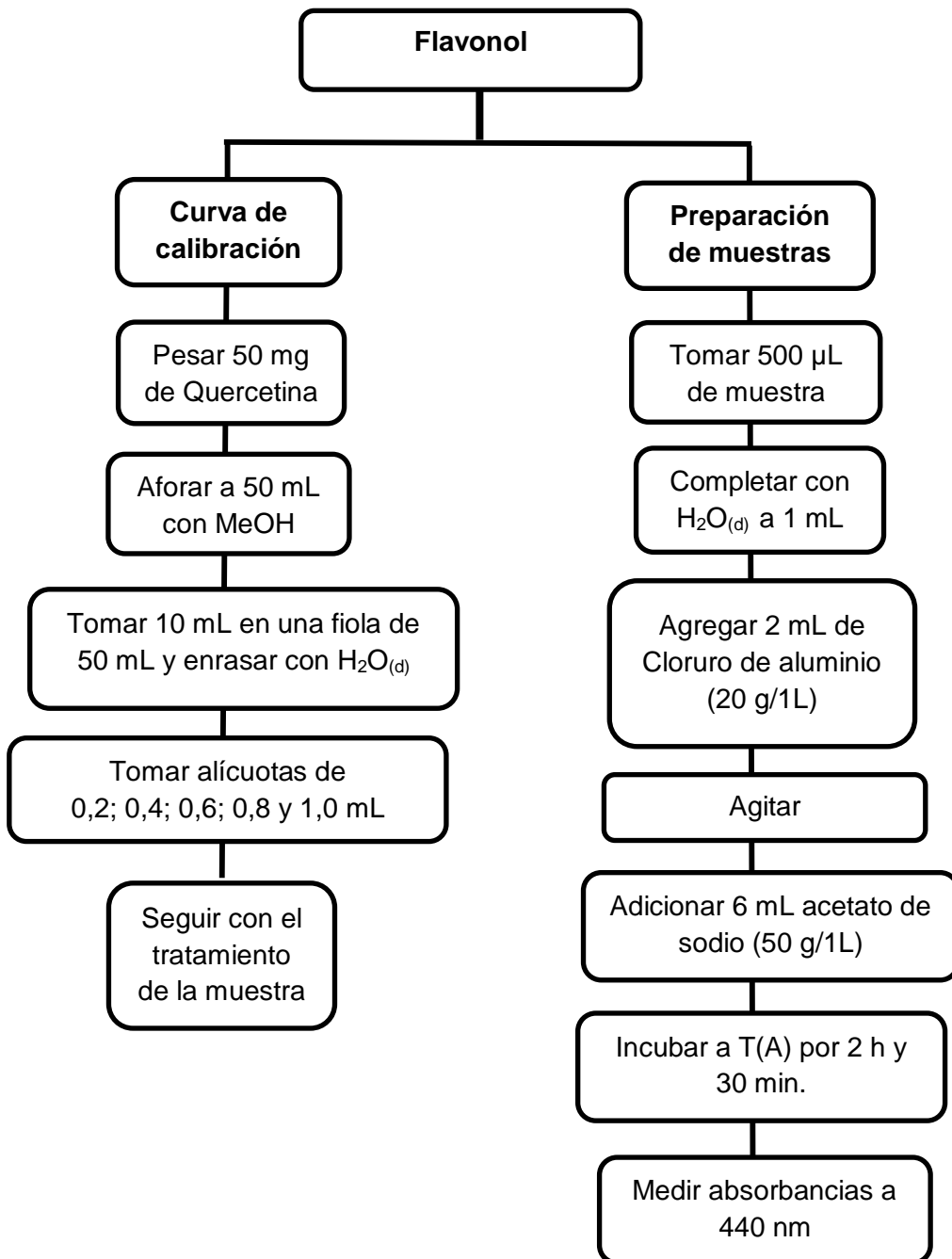
Anexo 4. Flujograma para la cuantificación de fenoles totales del germinado y no germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen "cañihua". Ayacucho 2019.



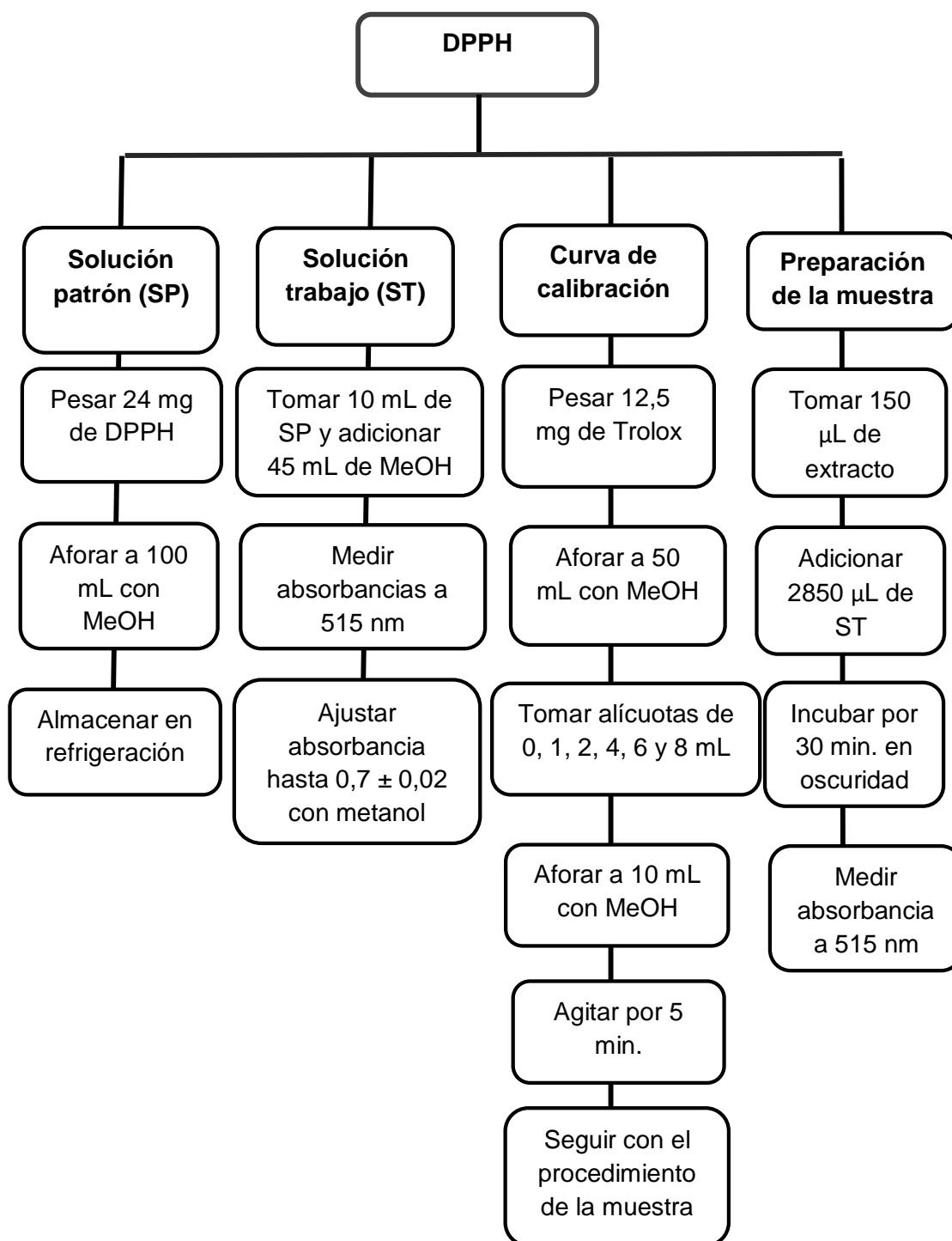
Anexo 5. Flujograma para la cuantificación de flavonoides del germinado y no germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.



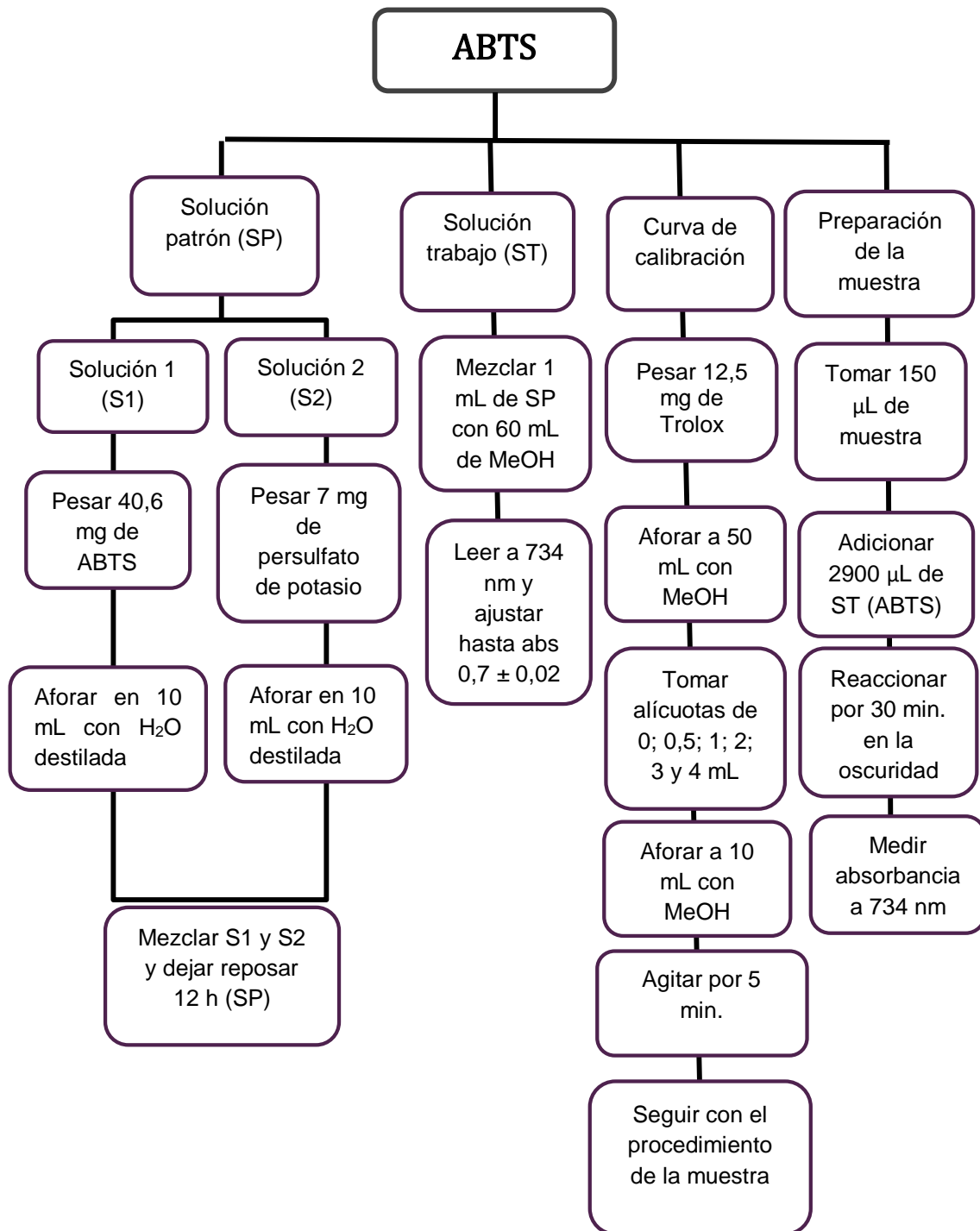
Anexo 6. Flujograma para la cuantificación de flavonol del germinado y no germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.



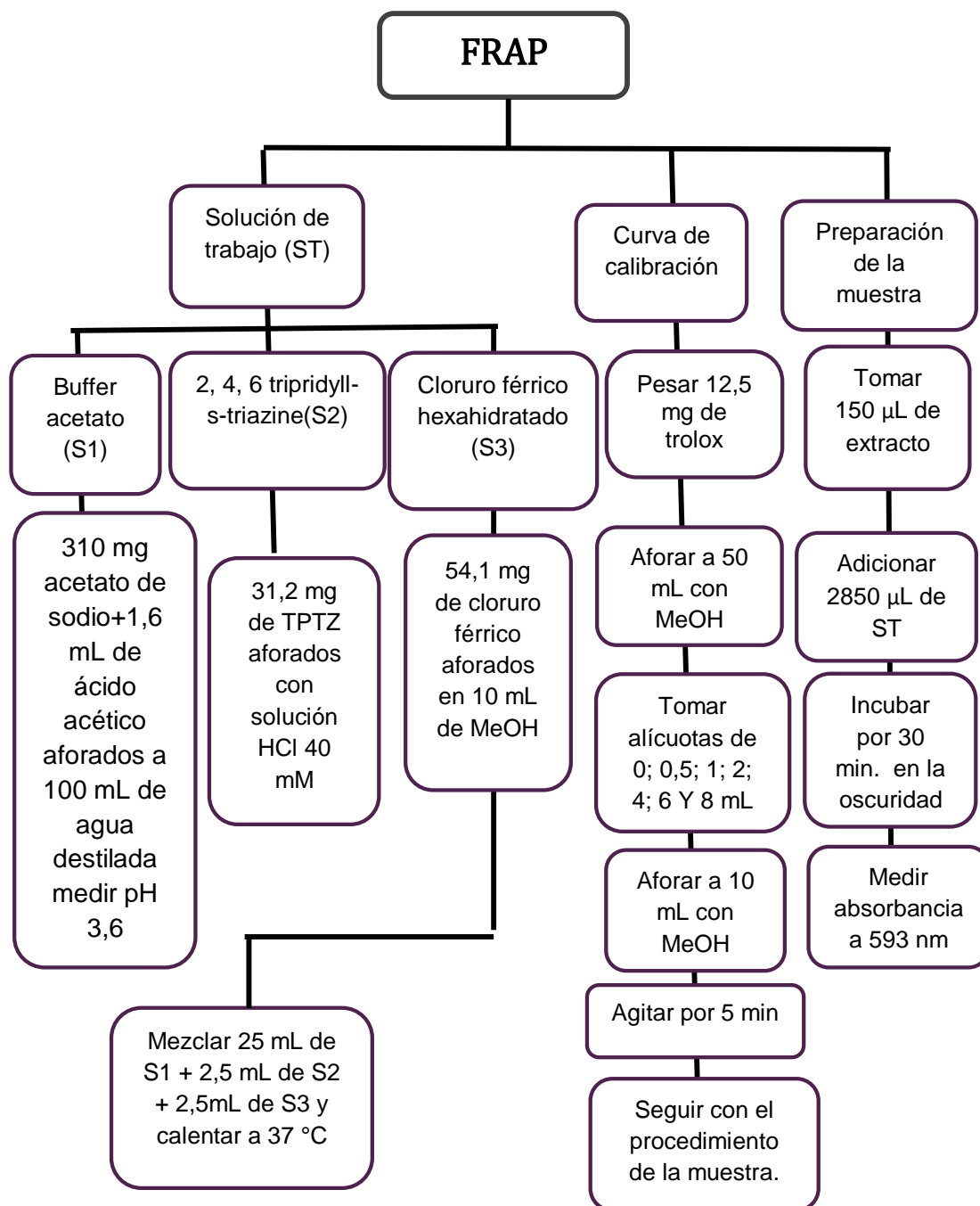
Anexo 7. Flujograma para la determinación de la actividad secuestradora del radical libre DPPH de las semillas germinadas y sin germinar de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen. Ayacucho 2019.



Anexo 8. Flujograma para la determinación de la actividad secuestradora del catión radical ABTS de las semillas germinadas y sin germinar de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen. Ayacucho 2019.



Anexo 9. Flujoograma para la determinación de la actividad reductora del hierro FRAP de las semillas germinadas y sin germinar de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen. Ayacucho 2019.



Anexo 10. Fotografías de semillas de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.



Anexo 11. Fotografías del germinado y la altura alcanzada durante la germinación de las semillas *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.



Anexo 12. Fotografías del procedimiento para la obtención del extracto metanólico del germinado y no germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.



Secado de semillas germinadas y sin germinar en estufa a 40 °C.



Proceso de triturado.



Se tomó 1 g de muestra y se agregó 50 mL de metanol.



Se agitó por 4 h y se llevó a centrifuga por 30 min a 300 rpm. El sobrenadante se vació a una fiola de 50 mL y se enrasó con metanol.

Anexo 13. Fotografías del extracto metanólico del germinado y no germinar de las semillas de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.

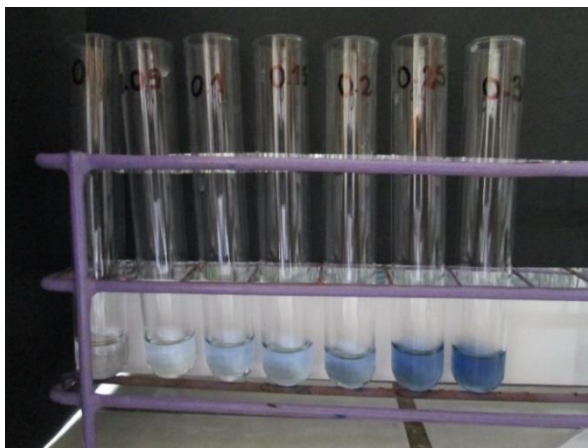


Germinados

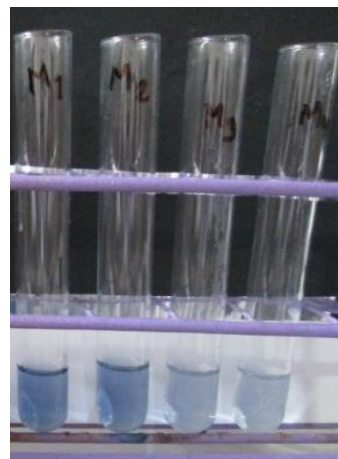


Sin germinar

Anexo 14. Fotografías del estándar y las muestras de dos cultivares, germinados y sin germinar en la cuantificación de fenoles totales de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.

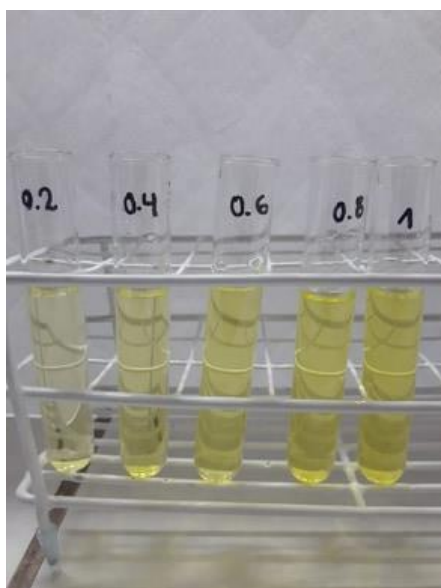


Resultados del estándar después de agregar los reactivos correspondientes



Resultados de las muestras. M1 y M2 (Germinados) M3 y M4(no germinados)

Anexo 15. Fotografías del estándar y las muestras de dos cultivares, germinados y sin germinar en la cuantificación de flavonoides de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.

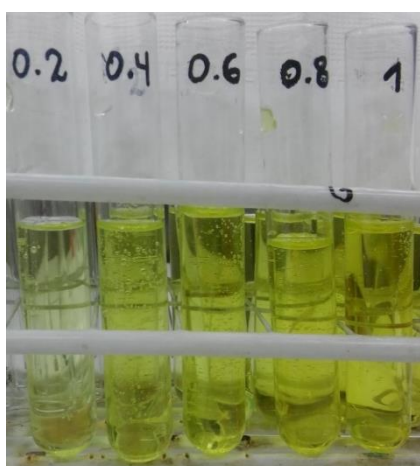


Resultados del estándar después de agregar los reactivos correspondientes

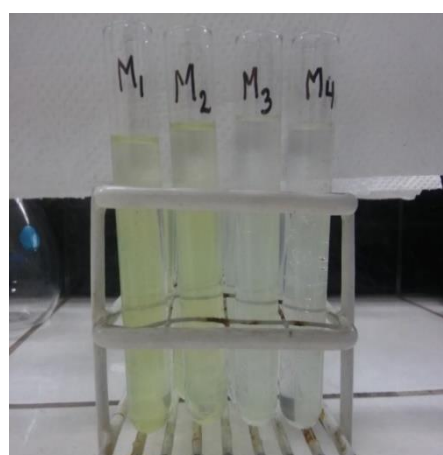


Resultados de las muestras.
M1 y M2 (Germinados)
M3 y M4 (no germinados)

Anexo 16. Fotografías del estándar y las muestras de dos cultivares, germinados y sin germinar en la cuantificación de flavonoles de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.



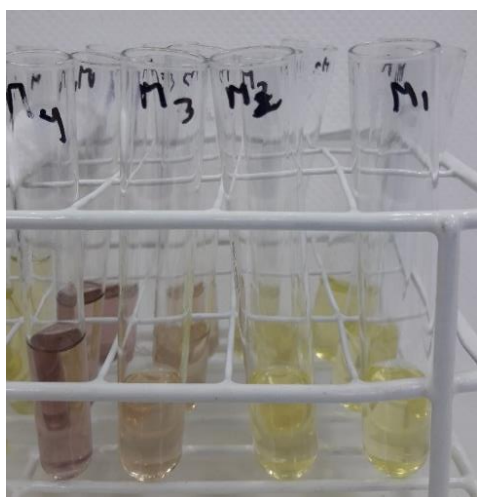
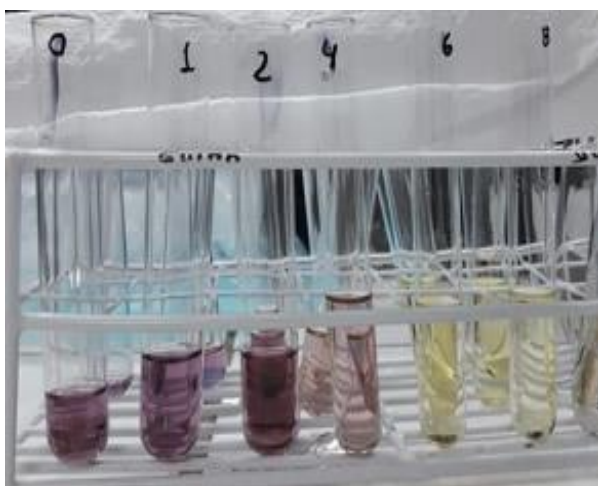
Resultados del estándar después de agregar los reactivos correspondientes



Resultados de las muestras.
M1 y M2 (Germinados)
M3 y M4 (No germinados)

Anexo 17. Fotografías del estándar y las muestras de dos cultivares, germinados y sin germinar en la determinación de la actividad secuestradora del radical libre DPPH de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.

Estándar

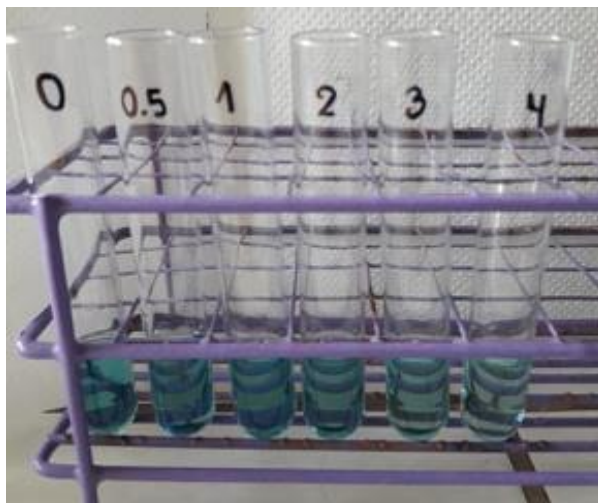


Resultados de las muestras.
M1 y M2 (Germinados)
M3 y M4 (No germinados)



Después de reposar 30 minutos en la oscuridad se procedió a medir las absorbancias a 515 nm.

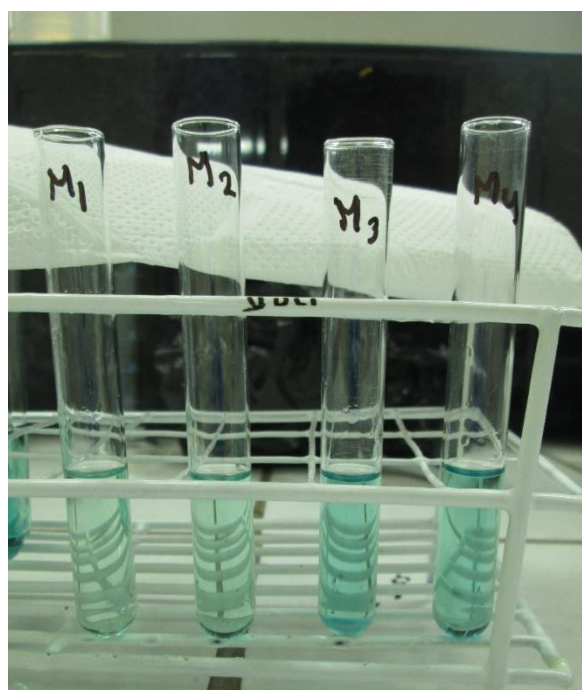
Anexo 18. Fotografías del estándar y las muestras de dos cultivares, germinados y sin germinar en la determinación de la actividad secuestradora del catión radical ABTS de *Chenopodium pallidicaule* Aellen "cañihua". Ayacucho 2019.



Preparación de la mezcla de reacción de estándar y la muestra.

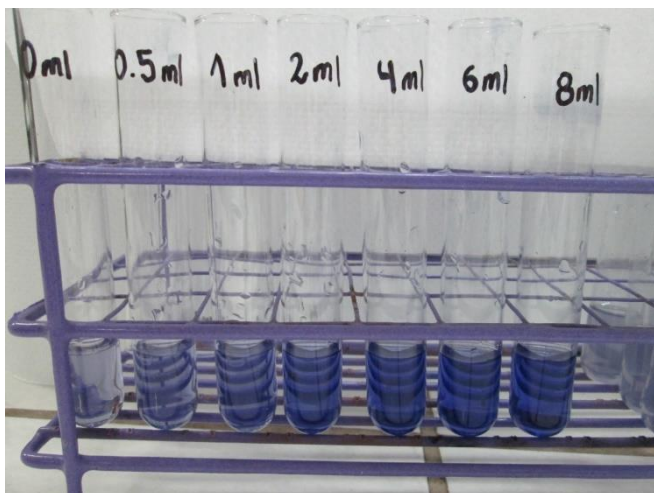


Después de reposar 2 h en la oscuridad se procedió a medir las absorbancias a 734 nm.



Resultados de las muestras.
M1 y M2 (Germinados)
M3 y M4 (No germinados)

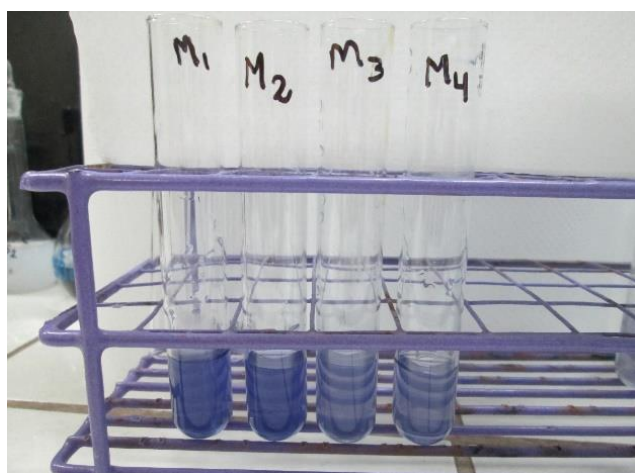
Anexo 19. Resultados del estándar y las muestras de dos cultivares, germinados y sin germinar en la determinación de la actividad reductora del hierro FRAP de *Chenopodium pallidicaule* Aellen "cañihua". Ayacucho 2019.



Preparación de la mezcla de reacción de estándar y la muestra.



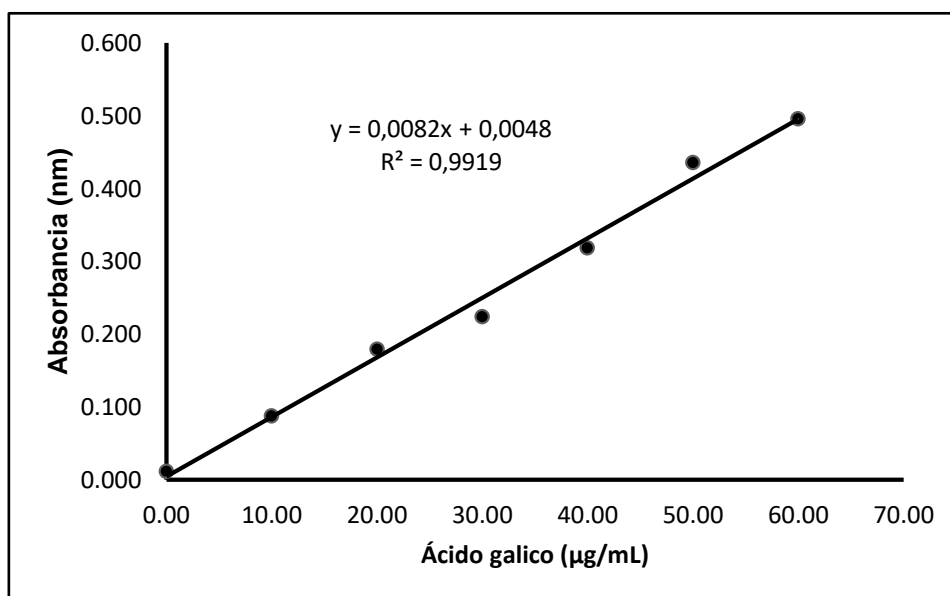
Después de reposar 30 minutos en la oscuridad se procedió a medir las absorbancias a 593 nm.



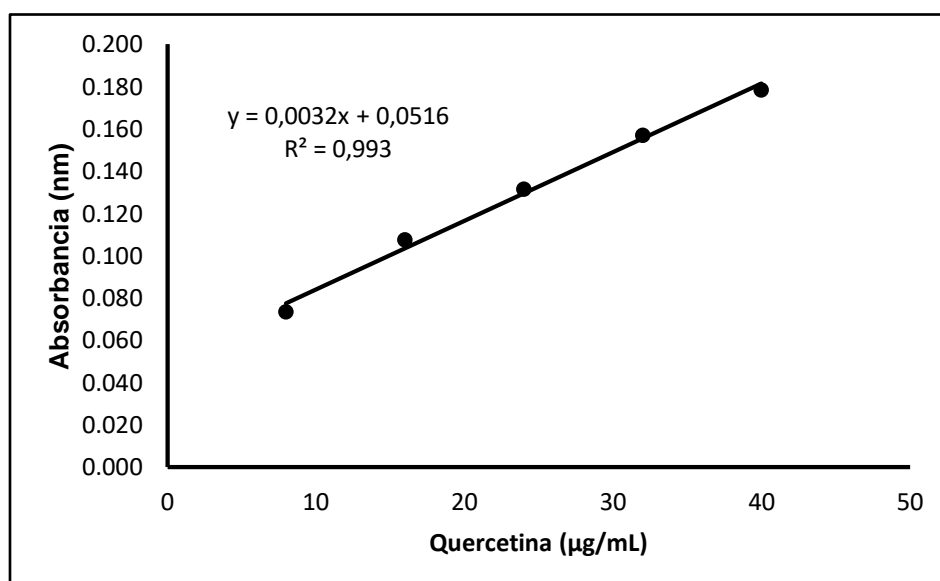
Resultados de las muestras.
M1 y M2 (Germinados)
M3 y M4 (No germinados)



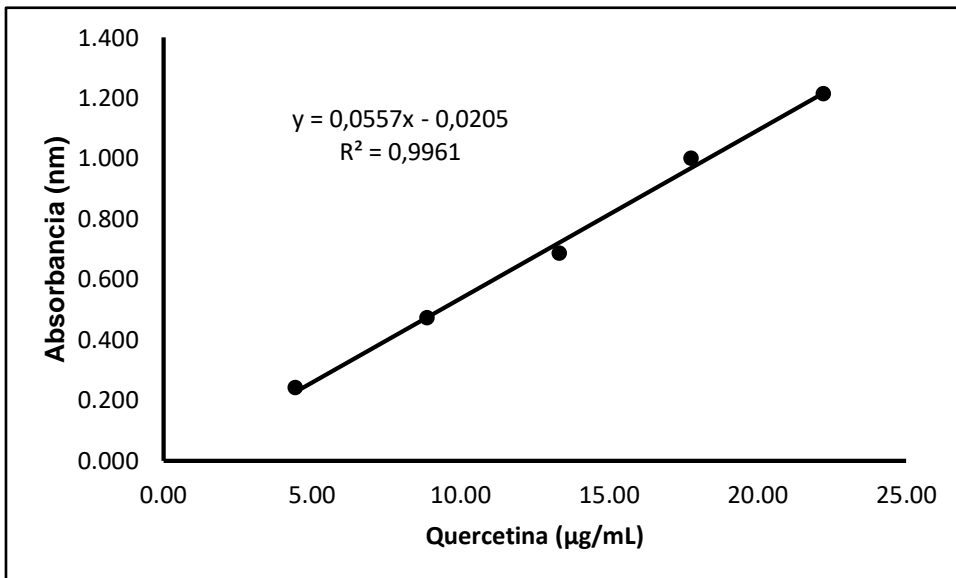
Anexo 20. Curva de calibración del ácido gálico (estándar) para fenoles totales Ayacucho 2019.



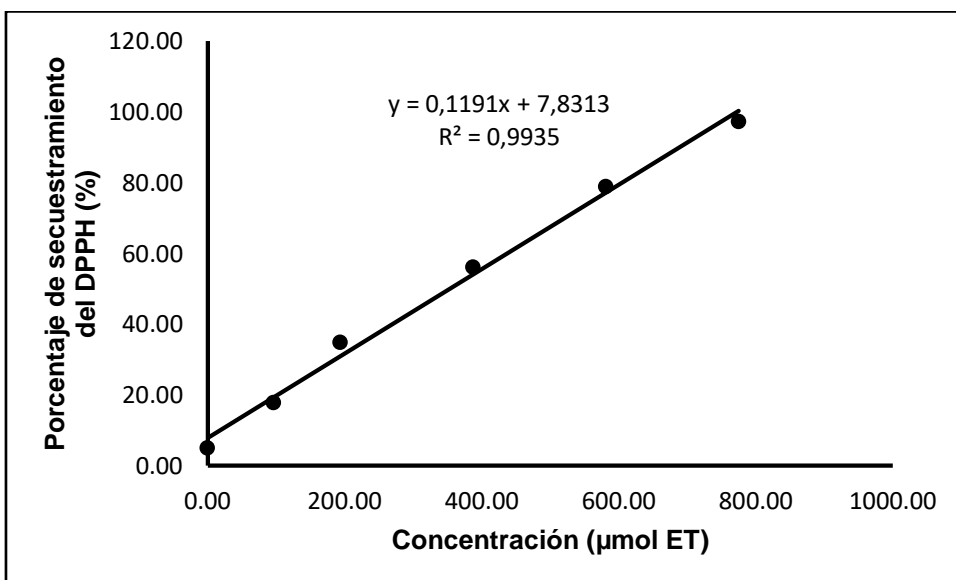
Anexo 21. Curva de calibración de la quercetina (estándar) para flavonoides. Ayacucho 2019.



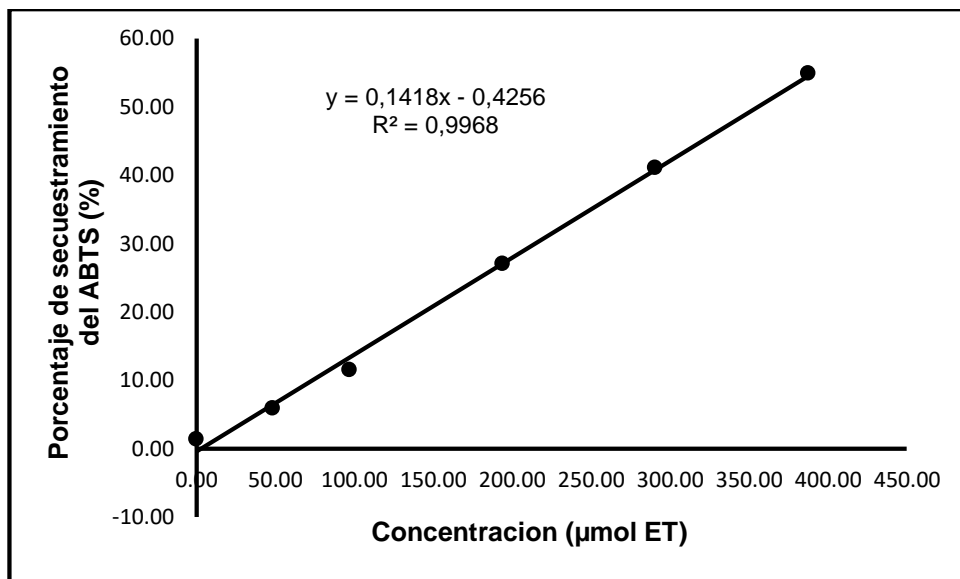
Anexo 22. Curva de calibración de la quercetina (estándar) para flavonoles. Ayacucho 2019.



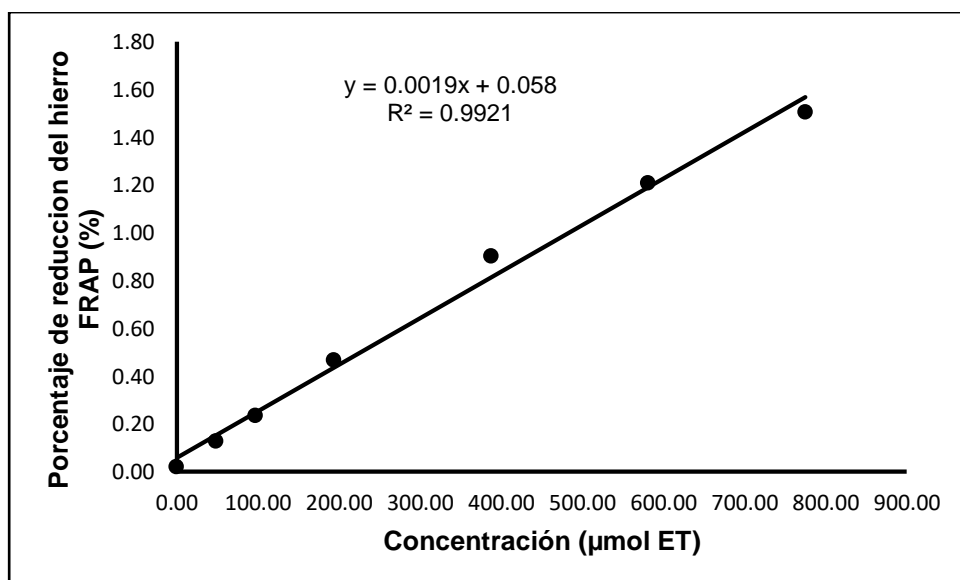
Anexo 23. Curva de calibración con el trolox para determinar el porcentaje de secuestro del radical DPPH. Ayacucho 2019.



Anexo 24. Curva de calibración con el trolox para determinar el porcentaje de secuestro del catión radical ABTS. Ayacucho 2019.



Anexo 25. Curva de calibración con el trolox para determinar la actividad reductora del hierro (FRAP). Ayacucho 2019.



Anexo 26. Análisis de varianza factorial y la prueba complementaria de Scheffé para fenoles totales del germinado y no germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.

ANOVA de un factor

Fenoles totales (mg/g de muestra)

| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|--------------|-------------------|----|------------------|---------|------|
| Inter-grupos | 8,074 | 3 | 2,691 | 265,122 | ,000 |
| Intra-grupos | ,203 | 20 | ,010 | | |
| Total | 8,277 | 23 | | | |

Fenoles totales (mg/g de muestra)

Scheffé^a

| Tratamientos | N | Subconjunto para alfa = 0.05 | | | |
|--------------|---|------------------------------|--------|--------|--------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Cupi | 6 | 1,1150 | | | |
| Illpa-INIA | 6 | | 1,3200 | | |
| Cupi-g | 6 | | | 2,1183 | |
| Illpa-INIA-g | 6 | | | | 2,5400 |
| 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 27. Análisis de varianza factorial y la prueba complementaria de Scheffé para flavonoides del germinado y no germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.

ANOVA de un factor

Flavonoides (mg/g de muestra)

| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|--------------|-------------------|----|------------------|--------|------|
| Inter-grupos | 1,173 | 3 | ,391 | 13,958 | ,000 |
| Intra-grupos | ,560 | 20 | ,028 | | |
| Total | 1,734 | 23 | | | |

Flavonoides (mg/g de muestra)

Scheffé^a

| Tratamientos | N | Subconjunto para alfa = 0.05 | |
|--------------|---|------------------------------|--------|
| | | 1 | 2 |
| Cupi-g | 6 | 1,3617 | |
| Cupi | 6 | 1,4467 | |
| Illpa-INIA-g | 6 | | 1,8250 |
| Illpa-INIA | 6 | | 1,8583 |
| Sig. | | ,855 | ,989 |

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

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

Anexo 28. Análisis de varianza factorial y la prueba complementaria de Scheffé para flavonol del germinado y no germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.

ANOVA de un factor

Flavonoles(mg/g de muestra)

| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|--------------|-------------------|----|------------------|--------|------|
| Inter-grupos | ,047 | 3 | ,016 | 99,635 | ,000 |
| Intra-grupos | ,003 | 20 | ,000 | | |
| Total | ,050 | 23 | | | |

Flavonoles(mg/g de muestra)

Scheffé^a

| Tratamientos | N | Subconjunto para alfa = 0.05 | | |
|------------------|---|------------------------------|-------|-------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| ILLPA - INIA | 6 | ,1750 | | |
| CUPI | 6 | ,1917 | ,1917 | |
| CUPI - g | 6 | | ,2117 | |
| ILLPA - INIA - g | 6 | | | ,2900 |
| Sig. | | ,183 | ,083 | 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 la prueba complementaria de Scheffé de la actividad antioxidante por el método DPPH del germinado y no germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.

ANOVA de un factor

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

| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|--------------|-------------------|----|------------------|--------|------|
| Inter-grupos | 224,883 | 3 | 74,961 | 49,163 | ,000 |
| Intra-grupos | 12,198 | 8 | 1,525 | | |
| Total | 237,081 | 11 | | | |

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

Scheffé^a

| Tratamientos | N | Subconjunto para alfa = 0.05 | | |
|--------------|---|------------------------------|---------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| Cupi | 3 | 25,3767 | | |
| Illpa-INIA | 3 | | 30,6333 | |
| Cupi-g | 3 | | | 35,2167 |
| Illpa-INIA-g | 3 | | | 36,3500 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | ,743 |

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

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

Anexo 30. Análisis de varianza factorial y la prueba complementaria de Scheffé de la actividad antioxidante por el método ABTS del germinado y no germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen "cañihua". Ayacucho 2019.

ANOVA de un factor

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

| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|--------------|-------------------|----|------------------|---------|------|
| Inter-grupos | 574,049 | 3 | 191,350 | 320,640 | ,000 |
| Intra-grupos | 4,774 | 8 | ,597 | | |
| Total | 578,824 | 11 | | | |

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

Scheffé^a

| Tratamientos | N | Subconjunto para alfa = 0.05 | |
|--------------|---|------------------------------|---------|
| | | 1 | 2 |
| Cupi | 3 | 6,3267 | |
| Illpa-INIA | 3 | 7,2733 | |
| Cupi-g | 3 | | 19,7833 |
| Illpa-INIA-g | 3 | | 21,3600 |
| Sig. | | ,552 | ,181 |

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

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

Anexo 31. Análisis de varianza factorial y la prueba complementaria de Scheffé de la actividad antioxidante por el método FRAP del germinado y no germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.

ANOVA de un factor

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

| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|--------------|-------------------|----|------------------|---------|------|
| Inter-grupos | 363,292 | 3 | 121,097 | 265,691 | ,000 |
| Intra-grupos | 3,646 | 8 | ,456 | | |
| Total | 366,939 | 11 | | | |

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

Scheffé^a

| Tratamientos | N | Subconjunto para alfa = 0.05 | | |
|--------------|---|------------------------------|---------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| Cupi | 3 | 6,9800 | | |
| Illpa-INIA | 3 | 7,5000 | | |
| Cupi-g | 3 | | 16,9633 | |
| Illpa-INIA-g | 3 | | | 19,2700 |
| Sig. | | ,827 | 1,000 | 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 32. Matriz de consistencia. Ayacucho 2019.

| TÍTULO | PROBLEMA | OBJETIVOS | HIPÓTESIS | MARCO TEORICO | VARIABLE | DISEÑO METODOLOGICO |
|--|--|--|--|--|---|--|
| Capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos en el germinado de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen "cañihua". Ayacucho 2018. | ¿Cuál de los germinados de los cultivares en estudio presentará mayor capacidad antioxidante en relación a su contenido de compuestos fenólicos y comparado con la semilla sin germinar? | <p>Objetivo general.</p> <ul style="list-style-type: none"> Determinar la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en el germinado de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen "cañihua". Ayacucho 2018 <p>Objetivos específicos.</p> <ul style="list-style-type: none"> Determinar el contenido de fenoles totales, flavonoides y flavonoles del germinado y no germinado de la semilla de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen "cañihua". Determinar la capacidad antioxidante por los métodos DPPH, ABTS y FRAP del germinado y no germinado de la semilla de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen "cañihua". Comparar el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante del germinado y no germinado de la semilla de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen "cañihua". | <ul style="list-style-type: none"> Hi: El germinado de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen "cañihua" presenta mayor capacidad antioxidante en relación a su contenido de compuestos fenólicos, comparadas con las semillas sin germinar. | <p><i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen "cañihua".</p> <p>Descripción botánica. Distribución geográfica. Composición química. Usos en medicina tradicional.</p> <p>Compuestos fenólicos. Clasificación: Fenoles totales, Flavonoides y Flavonoles</p> <p>Radicales libres. Antioxidantes. Estrés oxidativo. Germinado. Fases de la germinación. Factores externos para el proceso del germinado.</p> <p>Importancia alimenticia y biológica de los germinados. Métodos para evaluar la capacidad antioxidante. DPPH. ABTS. FRAP.</p> | <p>V.I: Compuestos fenólicos presentes en el germinado de los cultivares Illpa-INIA y Cupi de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen "cañihua".</p> <p>Indicador: Fenoles totales (mg EAG/g de muestra). Flavonoides (mg EQ/g de muestra) Flavonoles (mg EQ/g de muestra).</p> <p>V.D: Capacidad antioxidante.</p> <p>Indicador:</p> <ul style="list-style-type: none"> Captación del radical libre DPPH expresado como $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra. Captación del cation radical ABTS expresado como $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra. Capacidad Reductora del Hierro (FRAP) expresado como $\mu\text{mol ET/g}$ muestra. | <p>Tipo de investigación Básico- descriptivo</p> <p>Método Población Semilla de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen "cañihua".</p> <ul style="list-style-type: none"> Illpa-INIA Cupi <p>Muestra Cinco gramos de semillas de dos cultivares de <i>Chenopodium pallidicaule</i> Aellen.</p> <p>Análisis de datos La comparación de dos cultivares en estudio y las semillas sin germinar serán evaluadas mediante análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia estadística de 95 % respectivamente y una prueba complementaria Scheffé.</p> |

Capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en el germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2018.

Yulisa Carla Centeno Janampa¹, Edwin Carlos Enciso Roca², Pablo Común Ventura³, José Yarlequé Mujica⁴. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

RESUMEN

El presente trabajo contribuye a revalorizar la cañihua, grano andino cuyo potencial es tanto nutricional como funcional por su actividad antioxidante. Los compuestos polifenólicos de carácter antioxidante, presentes en los alimentos, son responsables de la reducción del riesgo de enfermedades asociadas con el estrés oxidativo. El objetivo fue determinar la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en el germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”, comparadas con las semillas sin germinar. Las muestras se adquirieron en el Instituto Nacional de Investigación Agraria-Puno, los cultivares fueron Illpa-INIA y Cupi, se desarrolló 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, la determinación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu, flavonoides y flavonol por el método del cloruro de aluminio, la actividad antioxidante por los métodos de la capacidad secuestradora del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), secuestro del catión radical ácido 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS) y el potencial antioxidante reductor del hierro (FRAP). Para determinar la capacidad antioxidante por los métodos mencionados se usó como estándar el trolox. El germinado de los cultivares Illpa-INIA y Cupi presentaron mayor contenido de fenoles totales (2,54 y 2,12 mg EAG/g de muestra) y flavonoles (0,29 y 0,21 mg EAG/g de muestra) en comparación a las semillas sin germinar, mientras que en el contenido de flavonoides no se mostró influencia del germinado. En cuanto a la capacidad antioxidante los cultivares Illpa-INIA y Cupi germinados presentaron mayor capacidad antioxidante por los métodos DPPH (36,35 y 35,22 mg ET/g de muestra), ABTS (21,36 y 19,78 mg ET/g de muestra); y FRAP (19,27 y 16,96 mg ET/g de muestra). En conclusión, el germinado de los cultivares Illpa-INIA y Cupi tuvieron mayor actividad antioxidante que las semillas sin germinar ($p < 0,05$).

Palabras Clave: *Chenopodium pallidicaule* Aellen, germinado de las semillas, compuestos fenólicos, actividad antioxidante.

SUMMARY

The present work contributes to revalue the cañihua, Andean grain whose potential is both nutritional and functional due to its antioxidant activity. Antioxidant polyphenolic compounds, present in food, are responsible for reducing the risk of diseases associated with oxidative stress. The objective was to determine the antioxidant capacity of the phenolic compounds present in the germination of two cultivars of *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”, compared to the non-germinated seeds. The samples were acquired at the National Institute of Agrarian Research-Puno, the cultivars were Illpa-INIA and Cupi, it was developed in the Pharmacy laboratories of the Faculty of Health Sciences of the UNSCH. Seed germination was obtained, the determination of total phenols by the Folin-Ciocalteu method, flavonoids and flavonol by the aluminum chloride method, the antioxidant activity by the methods of the radical sequestration capacity 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), sequestration of the cationic acid 2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid (ABTS) radical and the iron-reducing antioxidant potential (FRAP). To determine the antioxidant capacity by the aforementioned methods, trolox was used as standard. The sprouts of the Illpa-INIA and Cupi cultivars had a higher content of total phenols (2.54 and 2.12 mg EAG / g sample) and flavonols (0.29 and 0.21 mg EAG / g sample) in comparison to the seeds without germination, while in the flavonoid content no influence of the germinated was shown. Regarding the antioxidant capacity, the germinated Illpa-INIA and Cupi cultivars had a higher antioxidant capacity by the DPPH methods (36.35 and 35.22 mg ET / g sample), ABTS (21.36 and 19.78 mg ET / g of sample); and FRAP (19.27 and 16.96 mg ET / g sample). In conclusion, the sprouting of the Illpa-INIA and Cupi cultivars had greater antioxidant activity than the non-germinated seeds ($p < 0.05$).

Keywords: *Chenopodium pallidicaule* Aellen, seed sprouts, phenolic compounds, antioxidant activity.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha incrementado el interés por las investigaciones relacionadas al germinado de las semillas, lo cual es un proceso que consiste en la absorción de agua, la reactivación del metabolismo y la iniciación del crecimiento del embrión de una semilla¹, produce cambios bioquímicos, que se manifiestan en el contenido de ciertos metabolitos con importancia biológica, este proceso necesita condiciones ambientales favorables, como la presencia de oxígeno, temperatura, y la humedad que determinan la calidad de los germinados². *Chenopodium quinoa* Will “quinua” y *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”, son pseudocereales las cuales además de poseer carbohidratos, tienen una alta calidad proteica, contenido de fibra y recientes estudios demuestran que poseen propiedades antioxidantes que contribuyen a su calidad funcional³. El contenido de flavonoides de las especies de *Chenopodium* fue excepcionalmente alto en comparación con otros alimentos ricos en compuestos fenólicos (flavonoides) como los berries, donde los niveles de antioxidantes son de 5 a 10 veces inferiores que los encontrados en la quinua y cañihua⁴. Los antioxidantes son sustancias que pueden inhibir o retardar el proceso oxidativo, interfiriendo con la iniciación o propagación de las reacciones en cadena de la auto oxidación. Los radicales libres son especies químicas que contienen uno o más electrones desapareados, es altamente reactiva ya que tienden a captar un electrón de otros átomos con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica⁵. El exceso está relacionado con una mayor incidencia de diversas enfermedades degenerativas como cáncer, enfermedades cardíacas, inflamación, artritis, disfunción cerebral, aceleración del envejecimiento⁶.

Para la determinación de la capacidad antioxidante en especies vegetales se vienen utilizando métodos *in vitro* e *in vivo*, los cuales se caracterizan por ser ensayos rápidos, reproducibles, sensibles y simples. De lo anteriormente expuesto se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo general

Determinar la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en el germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2018.

Objetivos específicos:

- Determinar el contenido de fenoles totales, flavonoides y flavonoles del germinado y no germinado de la semilla de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”.
- Determinar la capacidad antioxidante por los métodos DPPH, ABTS y FRAP del germinado y no germinado de la semilla de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”.
- Comparar el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante del germinado y no germinado de la semilla de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”.

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

Se realizó en los laboratorios de Farmacia de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.2. Definición de la población y muestra

3.2.1. Población

Semillas de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”, que fueron adquiridas y certificadas por el Instituto de Investigación Agraria – Puno (INIA – Puno)

- Illpa-INIA

- Cupi

3.2.2. Muestra

Cinco gramos de las semillas de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen. “cañihua”. (Anexo 10)

3.3. Metodología para la recolección de datos

3.3.1. Obtención del germinado

Cinco gramos de semilla de cada cultivar de cañihua 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 y en la base conteniendo un papel filtro Whatman, 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 humedad³², la duración del periodo de germinación está basada en la observación. Se determinó la longitud del germinado utilizando una regla, registrándose la longitud en cm. (Anexo 11).

Los brotes cosechados del germinado y las semillas sin germinar, fueron desecados a 40 °C en una estufa Memmert, luego fueron trituradas utilizando un mortero de porcelana, las cuales fueron almacenados en frascos hasta su posterior análisis³³.

3.3.2. Obtención del extracto metanólico

Un gramo del germinado y no germinado de las semillas trituradas fueron extraídos con 50 mL de metanol, utilizando un agitador magnético por 4 horas. Se centrifuga a 3000 rpm por 25 minutos y el sobrenadante fue recuperado y vertido en una fiola de 50 mL y llevado a volumen con metanol. Cada uno de los extractos fue conservado en refrigeración hasta su posterior uso³⁴.(Anexo 12 y 13)

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*³⁵, de los extractos diluidos en metanol, se tomaron 150 µL de estas muestras, las cuales fueron colocadas en tubos de ensayo adicionando 2400 µL de agua y 150 µL de Folin-Ciocalteu (0,25 N); se agito 5 min en el vórtex, luego añadimos 300 µL de carbonato de sodio y dejamos reposar 2 h 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 EAG/g de muestra). (Anexo 4 y 14).

3.3.4. Determinación del contenido de flavonoides

El contenido de flavonoides fue determinado utilizando el método descrito por Zhishen *et al*³⁶, con ligeras modificaciones, que es descrito por Thangaraj³⁷. 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, se adicionó 0,15 mL de solución de cloruro de aluminio al 10 %. A los 6 minutos, 2 mL de hidróxido de sodio al 4 % fue adicionado a la mezcla. Inmediatamente, la solución fue completada hasta 5 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 mL).

El contenido de flavonoides de los extractos fue expresado como mg equivalentes a quercetina/g de muestra (mg EQ/g de muestra). (Anexo 5 y 15).

3.3.5. Determinación del contenido de flavonol

El contenido del flavonol se determinó utilizando el método descrito por Zhishen *et al*³⁶, con ligeras modificaciones, que es descrito por Thangaraj³⁷. 0,50 mL de una alícuota del extracto fue mezclado con 0,50 mL de agua destilada. Luego se agregó 2 mL de cloruro de aluminio (20 g/1L) y 6 mL de acetato de sodio (50 g/1L), proceder a agitar por 5 min, para después incubar a temperatura ambiente por

2 h y 30 min. La absorbancia de la mezcla final fue determinada a 440 nm. Se preparó una curva de calibración con quercetina (0,2; 0,4; 0,6; 0,8 y 1,0 mL). El contenido de flavonol de los extractos fue expresado como mg equivalentes a quercetina/g de muestra (mg EQ/g de muestra). (Anexo 6 y 16).

3.3.6. Determinación de la actividad antioxidante por el método de secuestro del radical libre 2,2 – difenil –1–picrilhidrazilo (DPPH)

3.3.6.1. Fundamento

El DPPH es uno de los pocos radicales orgánicos estable, presenta una fuerte coloración violeta, es comercialmente disponible y no tiene que ser generado *in situ* como el ABTS. El ensayo se fundamenta en la medición de la capacidad de un antioxidante para estabilizar el radical DPPH, esta medición puede hacerse espectrofotométricamente siguiendo el decaimiento de la absorbancia a 517 nm³⁷.

DPPH, consiste en que este radical tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por la reacción de la presencia de una sustancia antioxidante³⁸.

3.3.6.2. Procedimiento

El método DPPH empleado es descrito por Brand *et al*³⁸, Con algunas modificaciones hechas por Thaipong *et al*³⁵. 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. 150 µL de extractos y 2850 µL de ST reaccionan en 30 min en la oscuridad, las absorbancias fueron leídas a 515 nm en un espectrofotómetro UV – Vis GENESYS 10. La curva estándar tuvo una concentración entre (25-800 µM) de trolox. El resultado se expresa en µmol equivalentes de trolox/g muestra (µmol ET/g de muestra). (Anexo 7 y 17).

La actividad secuestradora del radical libre DPPH será calculada de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de secuestro del DPPH} = \left[\frac{A_{\text{DPPH}} - A_{\text{mp}}}{A_{\text{DPPH}}} \right] \times 100$$

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 radical ABTS se genera a partir de su precursor el ácido 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolín-6, sulfónico) (ABTS). El radical catiónico obtenido es un compuesto de color verde azulado estable y con un espectro de absorción en el UV-visible. El fundamento de este método consiste en observar la decoloración del radical ABTS debido a la interacción con especies donantes de hidrogeno^{39,40}.

3.3.7.2. Procedimiento

Se utilizó el procedimiento descrito por Arnao *et al*⁴², modificado por Thaipong *et al*³⁵. Para el cual se prepara una solución patrón (SP) constituida por 40,6 mg de ABTS y 7 mg de persulfato de potasio, cada uno en frascos de 10 mL con agua destilada, la cual fue mezclada y se dejó reaccionar por 12 horas. La solución de trabajo (ST) fue 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 siguiendo la metodología de Re *et al*⁴³. La muestra (150 μL) será mezclada con 2900 μL de solución de ABTS, dejando reaccionar en la oscuridad por 30 min y se lee la absorbancia a 734 nm. Se preparó una curva estándar con Trolox (25 – 600 μM). Los resultados serán expresados como μmol equivalentes de Trolox/g de muestra ($\mu\text{mol ET/g}$ de muestra). (Anexo 8 y 18).

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

3.3.8.1. Fundamento

Es uno de los métodos más utilizados describe la habilidad reductiva del ion férrico. consiste en medir el incremento en la absorbancia a 593 nm (Azul) que se desarrolla cuando el complejo TPTZ- Fe^{+3} se reduce a TPTZ- Fe^{+2} cuanto más antioxidante es la sustancia objeto de estudio, mayor es la reducción y mayor la concentración de (TPTZ- Fe^{+2}) por lo tanto es más alta la señal de absorbancia^{43,44}.

3.3.8.2. Procedimiento

Se realizó según el procedimiento descrito por Benzie y Strain⁴⁶, con modificaciones hechas por Thaipong *et al*³⁵. La solución patrón incluye 310 mg de buffer acetato con 1,6 mL de ácido acético, aforados a 100 mL con agua destilada a un pH 3,6; 31,2 mg de TPTZ (2, 4, 6-tripiridil-triazina) disueltos en una solución de HCl 40 mM y 51,1 mg de solución de cloruro férrico aforados a 10 mL con metanol. 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 FeCl_3 . 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 ($\mu\text{mol ET/g}$ de muestra). (Anexo 9 y 19).

3.4. Análisis de datos

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

RESULTADOS

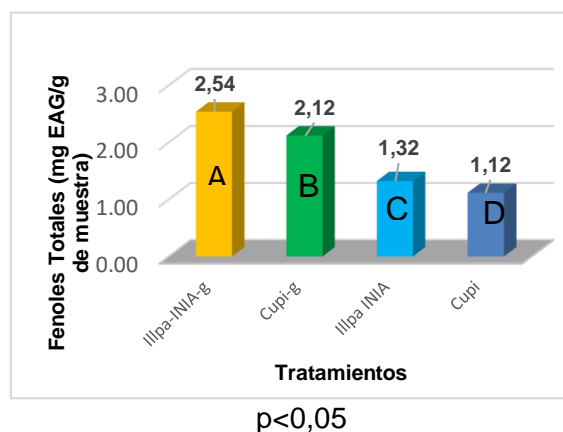


Figura 6. Contenido de fenoles totales, expresados como mg EAG/g de muestra del germinado y no germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.

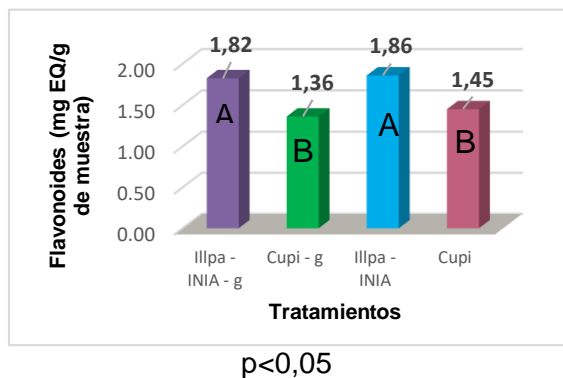


Figura 7. Contenido de flavonoides, expresados como mg EQ/g de muestra del germinado y no germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.

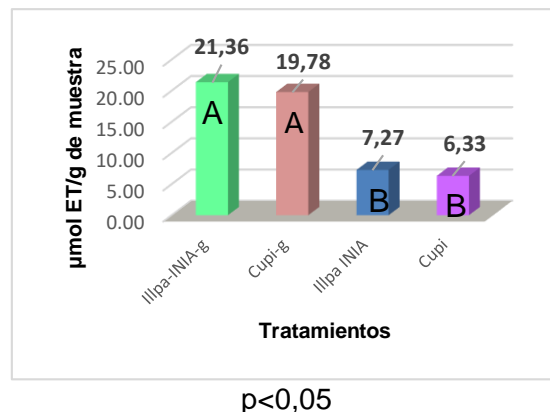


Figura 10. Actividad secuestradora del catión radical ABTS, expresado como µmol ET/g de muestra del germinado y no germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.

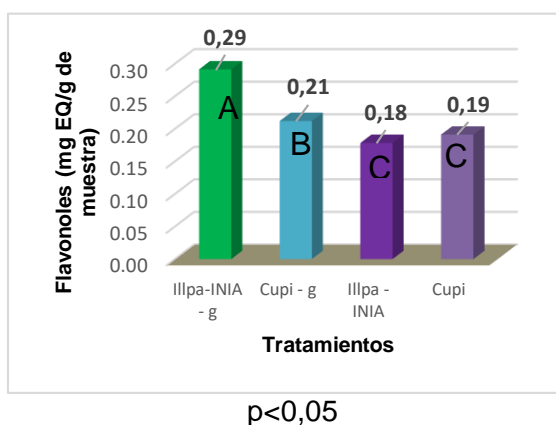


Figura 8. Contenido de flavonoles, expresados como mg EQ/g de muestra del germinado y no germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.

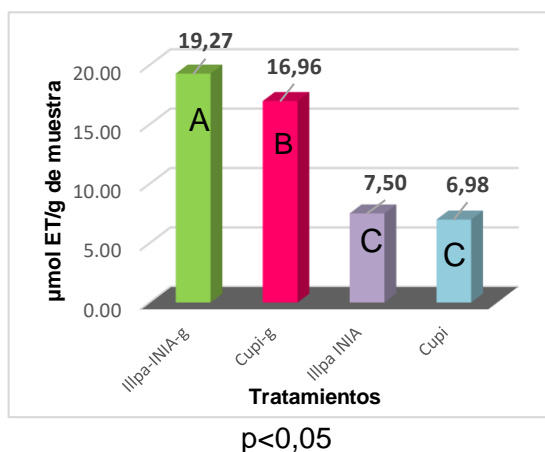


Figura 11. Potencial reductora del hierro (FRAP), expresados como µmol ET/g de muestra del germinado y no germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.

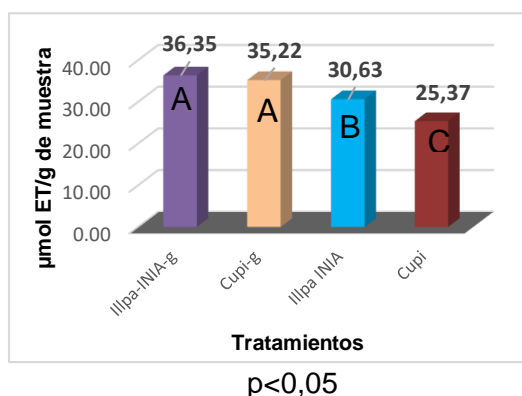


Figura 9. Actividad secuestradora del radical libre DPPH, expresado como µmol ET/g de muestra del germinado y no germinado de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”. Ayacucho 2019.

DISCUSION

En la figura 6, Se observa que el germinado de los cultivares Illpa-INIA y Cupi presentaron valores de $(2,54 \pm 0,039$ y $2,12 \pm 0,063$ mg EAG/g de muestra respectivamente), mientras que, las semillas sin germinar presentaron valores de $1,32 \pm 0,044$ mg EAG/g de muestra para Illpa – INIA y $1,12 \pm 0,046$ mg EAG/g de muestra para Cupi respectivamente. El incremento de fenoles totales por efecto de la germinación fue aproximadamente de un 90 % en ambos cultivares.

Se realizó el análisis de varianza hallándose diferencias altamente significativas ($p < 0,05$), seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Scheffé (Anexo 26), observándose que el germinado de la semilla de la variedad Illpa-INIA tuvo el mayor contenido de fenoles totales y la semilla sin germinar de la variedad Cupi presentó el menor contenido. Cruz⁴⁷, reportó el contenido de fenoles totales de 2 variedades, 16 accesiones y 10 especies silvestres de *Chenopodium pallidicaule* Aellen, en Bolivia, de las 28 muestras analizadas, la accesión Challapata (DK1) tuvo el mayor contenido de fenoles totales con un valor de 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, estos valores son menores a lo que se reporta en este trabajo, además, son especies diferentes a las estudiadas, solamente las estudiaron como semillas. En la obtención del extracto se utilizaron como solvente al metanol y cada muestra fue comparada con una curva estándar de ácido gálico, igual que el presente estudio. Abderrian *et al*⁴⁸, reportaron el contenido de fenoles totales de la semilla de *Chenopodium palliducaule* Aellen sin germinar y germinado de la variedad Cupi, siendo 2,5 mg EAG/g de muestra y de 4,8 mg EAG/g de muestra respectivamente. Se observó que el incremento de fenoles totales fue aproximadamente el doble. Sus valores fueron superiores al reportado en nuestra investigación, debido a que ellos realizaron dos extracciones sucesivas: primero con metanol acidificado y agua (1:1), seguido de acetona: agua (7:3), reuniendo los extractos, al cual llamaron fracción extraíble de compuestos fenólicos, luego, con el residuo realizaron una hidrólisis con metanol: H₂SO₄ (9:1) y el extracto obtenido fue llamado fracción no extraíble. Finalmente determinaron en ambas fracciones el contenido de compuestos fenólicos. Pero, demuestran que el germinado produce un incremento en el contenido de fenoles totales, de la misma forma que en nuestra investigación. Luna⁴⁹, trabajó con semillas de dos accesiones de cañihua sin precisar el cultivar, determinando el contenido de fenoles totales, en semillas sin germinar y germinado a las 72 horas, reportando en la accesión PIK 0304013 en semilla sin germinar 0,70 mg EAG/ g de muestra y en el germinado 0,78 mg EAG/g de muestra;

mientras que la accesión PIK 0301133 en semilla sin germinar 0,6325 mg EAG/ g de muestra y en el germinado 0,953 mg EAG/g de muestra. Ambas accesiones tienen diferencias en su contenido de fenoles totales, tanto en semillas germinadas y sin germinar. En consecuencia, se confirma la influencia del tipo de accesión y la germinación en el contenido de fenoles totales. Repo de Carrasco y Encina⁹, estudiaron 11 variedades de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”, reportando el contenido de fenoles totales en el rango de $0,67 \pm 0,70$ hasta $0,85 \pm 0,47$ mg EAG/g de muestra, entre las cuales se encuentra las variedades Illpa-INIA y Cupi sin germinar, reportando para Illpa-INIA un valor de $0,77 \pm 0,87$ mg EAG/g de muestra y Cupi un valor de $0,81 \pm 0,90$ mg EAG/g, estos valores son menores a los reportados en el presente trabajo, a pesar de que ellos tomaron 5 g de muestra y lo diluyen en 20 mL de metanol. Posiblemente se extrajeron menos compuestos fenólicos, debido a la saturación del solvente de extracción.

En la figura 7, Se observa que el germinado de los cultivares Illpa-INIA y Cupi presentaron valores de $1,82 \pm 0,096$ y $1,36 \pm 0,23$ mg EQ/g de muestra respectivamente, mientras que, las semillas sin germinar presentaron valores de $1,86 \pm 0,135$ mg EQ/g de muestra para Illpa-INIA y $1,45 \pm 0,17$ mg EQ/g de muestra para Cupi respectivamente. El contenido de flavonoides de las semillas germinadas disminuye ligeramente con respecto a las semillas sin germinar, por lo cual decimos que no hay influencia de la germinación en el contenido de flavonoides. Se realizó el análisis de varianza hallándose diferencias altamente significativas ($p < 0,05$) seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Scheffé (Anexo 27), observándose que existen diferencias entre el germinado y no germinado de ambos cultivares. La variedad Illpa-INIA sin germinar tuvo el mayor contenido de flavonoides y la semilla germinada de la variedad Cupi presentó el menor contenido. Peñarrieta *et al*¹⁶, estudiaron 10 muestras de *Chenopodium pallidicaule* “cañihua” en Bolivia, determinando el contenido de flavonoides un rango de 0,63–3,08 mg EC/g de muestra, este valor es ligeramente mayor a los resultados de este estudio, probablemente porque ellos utilizan como muestra las hojas, tallos, semillas y en la obtención del extracto realizaron una doble extracción, primero con el tampón acetato de sodio y luego con la acetona. La absorbancia final de cada muestra lo compararon con la estándar catequina, mientras que en esta investigación se hizo con la quercetina.

Asimismo, Repo de Carrasco *et al*⁶⁰, reportaron el contenido de flavonoides de la semilla de *Chenopodium pallidicaule* Aellen de 4 ecotipos estudiados, el ecotipo kello fue la que mostro mayor contenido de flavonoides $1,44 \pm 2,5$ mg EQ/g de muestra, lo cual es similar a los resultados reportados en la presente investigación, a pesar de que ellos trabajan con un método distinto y la cuantificación lo realizaron por HPLC. Cruz⁴⁷, publicó que entre las 2 variedades, las 16 accesiones y 10 especies silvestres de *Chenopodium pallidicaule* Aellen, reportó valores en un rango de 0,83 y 0,09 mg EC/g de muestra, los cuales son menores a los resultados del presente estudio, la metodología utilizada para la obtención del extracto es igual para ambas investigaciones, pero podría haber influido la variedad, la zona climática, ya que las muestras analizadas son procedentes de Bolivia. Abderrian *et al*⁴⁸, reportaron el contenido de flavonoides de la semilla de *Chenopodium pallidicaule* Aellen sin germinar y germinado de la variedad cupi, siendo 2,2 mg EQ/g de muestra y de 2,25 mg EQ/g de muestra respectivamente. Se observa que estos valores son similares, por lo tanto, decimos que no hubo influencia del geminado en el contenido de flavonoides igual a la presente investigación. Sin embargo, los valores que ellos obtienen son mayores, debido a que ellos realizan una extracción ácida metanólica y una extracción acetónica.

En la figura 8, se muestra el contenido de flavonoles presentes en semillas de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”, germinadas y no germinadas. Se observa que el germinado de los cultivares Illpa -INIA y Cupi presentaron valores de $0,29 \pm 0,009$ y $0,21 \pm 0,011$ mg EQ/g respectivamente, mientras que, las semillas sin germinar presentaron valores de $0,18 \pm 0,018$ mg EQ/g muestra para Illpa – INIA y $0,19 \pm 0,005$ mg EQ/g muestra para Cupi respectivamente. El incremento de los flavonoles en el cultivar Illpa-INIA fue aproximadamente de un 60 % y en el cultivar Cupi fue de 11 % aproximadamente, con lo cual decimos que hay influencia del germinado en el contenido de flavonoles. Se realizó el análisis de varianza hallándose diferencias altamente significativas ($p < 0,05$), seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Scheffé (Anexo 28), observándose que

el germinado de la semilla de la variedad Illpa-INIA tuvo el mayor contenido de flavonoles y la semilla sin germinar de la variedad Illpa-INIA presentó el menor contenido. Rastrelli *et al*⁶¹, reporta un valor de 1,33g/Kg en semillas sin germinar.

En la figura 9, se observa que el germinado de los cultivares Illpa -INIA y Cupi presentaron valores de $36,35 \pm 0,03$ y $35,32 \pm 0,71$ $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra, mientras que, las semillas sin germinar presentaron valores de $30,63 \pm 1,68$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra para Illpa-INIA y $25,37 \pm 1,67$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra para Cupi respectivamente. El incremento de la actividad antioxidante en las semillas germinadas fue aproximadamente de un 18 % para el cultivar Illpa-INIA y un 38 % para el cultivar Cupi. Se realizó el análisis de varianza hallándose diferencias altamente significativas ($p < 0,05$), seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Scheffé (Anexo 29), observándose que el germinado de la semilla de la variedad Illpa-INIA tuvo mayor actividad antioxidante y la semilla sin germinar de la variedad Cupi menor actividad. Cruz⁴⁷, estudio la determinación de la actividad antioxidante con 2 variedades, 16 accesiones y 10 especies silvestres de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”, encontrando que la accesión challapata (DK1) presento mayor actividad antioxidante $45,38$ $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra y el valor mínimo correspondió a la especie silvestre (C-OR) con $0,95$ $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra. Se observa que el valor máximo es ligeramente superior a los resultados de la presente investigación, pese a que se usó la misma metodología en la obtención del extracto y en la determinación de la actividad antioxidante. En la diferencia con nuestros resultados pudo haber influido las especies ya que son distintas a las estudiadas y la procedencia es de Bolivia. Repo de Carrasco y Encina⁹, estudiaron 11 variedades de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”, determinando la actividad antioxidante en un rango de $0,367 \pm 1,54$ hasta $6,036 \pm 20,25$ $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra, entre las cuales se encuentra las variedades Illpa-INIA y Cupi sin germinar, reportando para Illpa-INIA un valor de $5,68 \pm 56,75$ $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra y Cupi un valor de $4,66 \pm 33,54$ $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra, estos valores son menores a los reportados en el presente trabajo. Para la obtención del extracto ellos tomaron 5 g de muestra y lo diluyen en 25 mL de metanol, lo cual pudo haber ocasionado una saturación del solvente. Utilizaron la misma metodología para la determinación de la actividad antioxidante con una ligera diferencia que el DPPH que diluyeron se ajustó a una

absorbancia de $1,1 \pm 0,02$. Repo de Carrasco *et al*⁶², determinaron la Capacidad Antioxidante por el método DPPH de dos variedades de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”, Cupi y Ramis no germinado cuyos valores fueron $16,8 \pm 5,50$ y $16,2 \pm 5,33$ $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra respectivamente, estos valores comparados con el cultivar cupi no germinado son menores. La obtención del extracto se realiza con metanol, pero no especifica la relación de cantidades; en cuanto a las muestras fueron obtenidas del mismo departamento para cada investigación.

En la figura 10, se muestra la capacidad antioxidante por el método ABTS, en semillas de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”, germinadas y no germinadas. Se observa que el germinado de los cultivares Illpa -INIA y Cupi presentaron valores de $21,36 \pm 0,279$ y $19,78 \pm 1,206$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra respectivamente, mientras que, las semillas sin germinar presentaron valores de $7,27 \pm 0,475$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra para Illpa – INIA y $6,33 \pm 0,790$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra para Cupi respectivamente. Se realizó el análisis de varianza hallándose diferencias altamente significativas ($p < 0,05$), seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Scheffé (Anexo 30), observándose que el germinado de la semilla de la variedad Illpa– INIA tuvo mayor capacidad antioxidante y la semilla sin germinar de la variedad Cupi menor actividad. Peñarrieta *et al*⁶⁰, reportaron la actividad antioxidante de 10 muestras de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua” en Bolivia, cuyos valores están en un rango de $1,8 - 7,8$ $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra, estos valores son similares a lo que se reporta en esta investigación, a pesar que la extracción lo realizaron con el tampón de acetato de sodio y luego con la acetona; para la actividad antioxidante se usa la misma metodología en ambos estudios. Cruz⁴⁷, estudio la actividad antioxidante de 2 variedades, 16 accesiones y 10 especies silvestres de *Chenopodium pallidicaule* Aellen, la accesión Challapata (DK1) presenta mayor capacidad antioxidante con un valor de $9,28$ $\mu\text{mol/g}$ de muestra, lo cual es mayor a lo que se obtuvo en las semillas sin germinar, este resultado podría ser por las diferentes muestras analizadas en cada estudio y la procedencia, ya que se utiliza la misma metodología para determinar esta

actividad. Abderrahim *et al*⁴⁸, reportaron la actividad antioxidante de la semilla de *Chenopodium pallidicaule* Aellen, germinado y sin germinar de la variedad Cupi, siendo 100 y 73 $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra respectivamente, valores superiores a esta investigación, sin embargo, se observa que el germinado produce un incremento en la actividad antioxidante, similar a nuestra investigación.

En la figura 11, se muestra la capacidad antioxidante por el método FRAP, en semillas de dos cultivares de *Chenopodium pallidicaule* Aellen “cañihua”, germinadas y no germinadas. Se observa que el germinado de los cultivares Illpa -INIA y Cupi presentaron valores de $19,27 \pm 0,41$ y $16,96 \pm 0,57$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra, mientras que, las semillas sin germinar presentaron valores de $7,50 \pm 0,77$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra para Illpa–INIA y $6,98 \pm 0,86$ $\mu\text{mol ET/g}$ muestra para Cupi respectivamente. El incremento de la capacidad antioxidante fue aproximadamente de un 60 % en ambos cultivares por efecto de la germinación. Se realizó el análisis de varianza hallándose diferencias altamente significativas ($p < 0,05$), seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Scheffé (Anexo 31), observándose que el germinado de la semilla de la variedad Illpa–INIA tuvo mayor capacidad antioxidante y la semilla sin germinar de la variedad Cupi presentó el menor contenido. Peñarrieta *et al*¹⁶, estudiaron la actividad antioxidante de 10 muestras de cañihua en Bolivia, reportando un rango de $2,7 - 18,1$ $\mu\text{mol ET/g}$ de muestra. Este valor es mayor a los reportados en esta investigación debido a que realizaron una doble extracción para la obtención del extracto. En cuanto a la actividad antioxidante siguieron la misma metodología que en el presente estudio. Según Cruz⁴⁷, publicó la actividad antioxidante en 2 variedades, 16 accesiones y 10 especies silvestres de *Chenopodium pallidicaule* Aellen, en Bolivia, encontró valores en un rango de $0,81 - 8,96$ $\mu\text{mol TE/g}$ de muestra, los cuales son similares a los resultados que se obtuvo en el presente trabajo de investigación, a pesar que las especies estudiadas son distintas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bidwell, R. Fisiología Vegetal. México. AGT. Editor, S.A; 1990.
2. Racines, A. Investigación de los germinados de lenteja, quínoa, zanahoria, mostaza y su aplicación a la gastronomía actual. [Tesis para obtener Título de administrador gastronómico]. Ecuador:

- Universidad Tecnológica Equinoccial. Facultad de Turismo y Preservación Ambiental, Hotelería y Gastronomía; 2011.
3. Yasuko E, Piedade M. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) as Functional Food. Revista Brasileira de Ciencias da Saúde. 2010. 24 (8): 62-67 pp.
 4. Repo de Carrasco R, Espinoza C, Jacobsen S. Nutritional value and use of the Andean crops quinoa (*Chenopodium quinoa*) and kaniwa (*Chenopodium pallidicaule*), Food Rev.2003; (19): 179-189.
 5. Zamora S. Antioxidantes: Micronutrientes en lucha por la salud. Rev. chil. Nutr; 2007; (34):17-26.
 6. Finkel T, Holbrook N. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. Bethesda. National Institutes of Health. 2000.
 7. 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". [Informe Final de Investigación. Unidad de Investigación e Innovación]. Perú: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de Ciencias de la Salud; 2016.
 8. 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". [Informe Final de Investigación. Unidad de Investigación e Innovación]. Perú: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de Ciencias de la Salud; 2017.
 9. Repo de Carrasco R, Encina C. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de cereales andinos: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), Kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) y Kiwicha (*Amaranthus caudatus*). Rev. Sociedad Química Perú. 2008; 74(2): 85-99.
 10. Castillo E. Determinación de los compuestos antioxidantes durante la germinación y extrusión en la cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) [Tesis para optar Título de Ingeniero Agroindustrial]. Perú: Universidad del Altiplano. Facultad de Ciencias Agrarias ;2010.
 11. Tarzi B, Gharachorloo M, Baharinia M, Mortazavi S. The effect of germination on phenolic content and antioxidant activity of chickpea. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 2012; 11(4):137 - 1143.
 12. Gharachorloo M, Tarzi BG, Baharinia M, Hemaci AH. Antioxidant activity and phenolic content of germinated lentil (*Lens culinaris*). Journal of Medicinal Plants Research. 2012;(30): 4562 - 4566.
 13. Aucasime I. Descripción personal de *Chenopodium pallidicaule* Aellen "cañihua". Ayacucho-Perú. 2018.
 14. Apaza V. Manejo y mejoramiento de kañiwa. Instituto Nacional de Innovación Agraria – INIA. Centro de Investigación de Recursos Naturales y Medio Ambiente. Editorial Altiplano E.I.R.L. 2010.p.4.
 15. Gross R, Koch F, Malaga I, Miranda A, et al. Chemical composition and protein quality of some local Andean food sources, Food Chem. 1989; (34): 25–13.
 16. Peñarrieta M, Alvarado A, Åkesson B and Bergenstahl B. Total antioxidant capacity and content of flavonoids and other phenolic compounds in canihua (*Chenopodium pallidicaule*): An Andean pseudocereal. Mol. Nutr. Food Res. 2008;(52): 708-717.
 17. Rastrelli L, Saturnino P, Schettino O and Dini A. Studies on the constituents of *Chenopodium pallidicaule* (Cañihua) seeds, isolation and characterization of two new flavonol glycosides. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 1995; (43): 2020-2024.
 18. Nina A. Comportamiento agronómico de diez accesiones de cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) en zonas áridas. [Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero Agrónomo]. Perú: Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa; 2014.
 19. Repo de Carrasco R, Hellström J, Juha P; Mattila P. Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*). Food Chemistry. 2009 (120): 128–133.
 20. Escobar M. Extracción de compuestos fenólicos de las cáscaras de cítricos producidos en México. [Tesis para optar el Título de: Maestra en Ciencias en

- Alimentos]. México: Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de ciencias biológicas; 2010.
21. Teran R. Diseño de mezclas de compuestos fenólicos en función a su eficacia antioxidante en el aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis*). [Tesis para optar el grado de magíster scientiae en tecnología de alimentos]. Perú: universidad nacional agraria la Molina; 2014.
 22. Pietta G. Flavonoids as antioxidants. Journal Product natural Review. 2000(63): 1035- 1042.
 23. Willits M, Giovanni M, Prata R, Kramer C, Luca V, Steffens J, Grase, G. Bio-fermentation of modified flavonoids: an example of in vivo diversification of secondary metabolites. Phytochem. 2004; (65):31-41.
 24. Lambert J, Hong J, Yang G, Liao J, Yang C. Inhibition of carcinogenesis by polyphenols: evidence from laboratory investigations. Am. J. Clin. Nutr. 2005; (81): 284-291.
 25. Coronado M, Salvador H, Gutiérrez L, Vázquez M, Radilla C. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. Rev Chil Nutr. 2015; 42 (2): 206-211.
 26. Jauam G. Consumo de Antioxidantes Naturales y Esteroles Vegetales en Adultos Mayores entre 65 y 75 años con Dislipidemia. [Tesis para obtener el Título de Grado de Licenciatura en Nutrición]. Argentina: Universidad Abierta Interamericana; 2011.
 27. Poggio M. Consumo de antioxidantes naturales en personas con dislipidemia. [Tesis para obtener el Título de Grado de Licenciatura en Nutrición]. Argentina: Universidad Abierta Interamericana; 2012.
 28. Pita J, Pérez F. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Secretaría General Técnica. Dpto. Biología Vegetal. Ingeniería Técnica Agrícola. 1998. Madrid.
 29. García F, Roselló J, Santamarina P. Introducción al funcionamiento de las plantas. Editorial Univ. Politécnica de Valencia. España. 2006. p.163-169
 30. Dueñas M, Hernández T, Estrella I. Changes in the content of bioactive polyphenolic compounds of lentils by the action of exogenous enzymes. Effect on their antioxidant activity. Food Chem. 2007; (101): 90-97.
 31. Sharma G, Srivastava A, Prakash D. Phytochemicals of nutraceutical importance: their role in health and diseases. Pharmacol. 2011; (2) 408-427.
 32. Carciochi R, Manrique G, Dimitrov K. Changes in phenolic composition and antioxidant activity during germination of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd). International Food Research Journal. 2014;21(2): 2767 - 773.
 33. 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. 34(1): 68-78.
 34. Palombini S, Claus T, Maruyama S, Gohara A, Souza A, Souza N, Visentainer J, Gomes S, Matsuhita M. Evaluation of nutritional compounds in new amaranth and quinoa cultivars. Food Sci. Technol, Campinas. 2013 33(2): 339 - 344.
 35. 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 Anal. 2006; (19): 669-675.
 36. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chem. 1999; (64): 555-559.
 37. Thangaraj P. Pharmacological Assays of Plant - Based Natural Products. Series: Progress in Drug Research 71. Editor: K.D. Rainsford. 1st edition. Springer Ediciones, 2016.
 38. Brand W, Cuveler M, Berset C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. Food Sci. Technol. 1995; (28): 25-30.
 39. Amorin F. Química Nova Interativa, Sociedade Brasileira de Química. Instituto Federal de Educação, Ciência y Tecnología de Río de Janeiro - Nilópolis Campus. 2010.
 40. Peláez E. Actividad antioxidante del extracto en diclorometano de *Palicourea guianensis* Aubl. (*Rubiaceae*). [Tesis de pregrado]. Colombia: Universidad Tecnológica de Pereira, 2009.
 41. Marfil R. Parámetros de calidad y componentes con interés nutricional del aceite de argán (*Argania spinosa*). [Tesis Doctoral]. España: Universidad de Granada; 2008.

42. Arnao M, Cano A, Acosta M. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry*. 2001; 239 – 244.
43. Re R, Pellegrini N, Pannala A, Yang M, Rice C. Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 2009;(26):1231-1237.
44. Sulbaran B, Ojeda G, Berrade M, Fernández V, Peña. Evaluación de la actividad antioxidante del tomate crudo y procesado. *Rev.Fac.Agron*. 2011; (28): 273-291.
45. Prior R, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005;(53) :4290-4302.
46. Benzie I, Strain J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assays. *Analytical Biochemistry*. 1996; (239): 70 – 76.
47. Cruz D. Antioxidantes en variedades y líneas nuevas de cañihua (*Chenopodium pallidicaule*). [Tesis para obtener el Grado de Magister Scientiarum]. Bolivia: Universidad Mayor de San Andrés. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas; 2013.
48. Abderrian F, Huanatico E, Repo-Carrasco R, Arribas S, Gonzalez M, Condezo L. Effect of germination on total phenolic compounds, total antioxidant capacity, Maillard reaction products and oxidative stress markers in canihua (*Chenopodium pallidicaule*). *Journal of Cereal Science* 2012.
49. Luna E. Influencia del germinado y cocción húmeda en compuestos bioactivos de dos accesiones de cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen). [Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero agroindustrial]. Perú: Universidad Nacional del Altiplano. Facultad de Ciencias Agrarias. Puno; 2015.
50. Repo-Carrasco R, Hellström J, Juha P; Mattila P. Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Food Chemistry*. 2009; (120): 128–133.
51. Rastrelli L, Saturnino P, Schettino O and Dini A. Studies on the constituents of *Chenopodium pallidicaule* (Cañihua) seeds, isolation and characterization of two new flavonol glycosides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1995; (43): 2020-2024.
52. Repo-Carrasco R, Acevedo A, Icochea J. and Kallio H. Chemical and Functional Characterization of Kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) Grain, Extrudate and Bran. *Plant Foods Hum Nutr*. 2009; (64): 94–101.