



**Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

TESIS:

**“ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE *Tropaeolum tuberosum* Ruiz &
Pavón MASHUA NEGRA”**

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
Químico Farmacéutico**

BACHILLER: URIBE PINTA, Elizabeth

ASESOR: Mg. Q.F. DIAZ URIBE, Julio

LIMA – PERÚ

2016

DEDICATORIA

A Dios por haber guiado mi camino.

A mi familia por todo su apoyo y amor.

A mi hijita que es mi motor y motivo.

AGRADECIMIENTO

A mi asesor de tesis, Mg. Q.F. Julio Díaz Uribe por su apoyo y orientación.

A la Q.F. Bertha Jurado Teixeira por su guía y colaboración en la realización de esta tesis.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación fue determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón, mashua negra. Los tubérculos de mashua negra fueron recolectados en la provincia de Huamanga, distrito de Ayacucho, cultivado a 2,760 m.s.n.m. de altitud. Se preparó el extracto etanólico mediante maceración durante una semana. La marcha fitoquímica realizada al extracto demostró la presencia de flavonoides, antocianinas, carbohidratos, alcaloides, taninos y compuestos fenólicos. La cuantificación de antocianinas totales utilizando el método espectrofotométrico obtuvo un valor de 165,3697 mg de cianidina-3-glucósido/100 g de muestra. Para determinar la actividad antioxidante se utilizó el método DPPH (2,2- difenil –picrilhidrazilo) y como estándar antioxidante al Trolox. Concluyendo que el *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón “mashua negra” presenta actividad antioxidante de 1190,1923 ug equivalente Trolox/g de muestra, esto se debe posiblemente a los flavonoides, antocianinas y taninos presentes en el tubérculo.

PALABRAS CLAVE: Actividad antioxidante, *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón, flavonoides, antocianinas, taninos, método DPPH, Trolox.

ABSTRACT

The objective of this research was to determine the antioxidant activity of ethanol extract of *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón, black mashua. Mashua black tubers were collected in the province of Huamanga, district of Ayacucho, grown to 2,760 m.a.s.l. altitude. Ethanolic extract was prepared by maceration for a week. The phytochemical action performed to extract showed the presence of flavonoids, anthocyanins, carbohydrates, alkaloids, tannin and phenolic compounds. Quantification of anthocyanins using the spectrophotometric method obtained a value of 165,3697 mg of cyanidin-3-glucoside/100g sample. To determine the antioxidant activity DPPH (2,2-diphenyl -picrilhidrazil) method was used as the standard antioxidant Trolox. Concluding that *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón "black mashua" 1190,1923 has antioxidant activity of Trolox equivalent ug/g of sample, this is possibly due to flavonoids, anthocyanins and tannins present in the tuber.

KEYWORDS: Antioxidant activity, *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón, flavonoids, anthocyanins, tannins, DPPH method, Trolox.

ÍNDICE

CARÁTULA.....	i
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	v
ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	x
ÍNDICE DE FOTOS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiii
INTRODUCCIÓN.....	xiv
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	
1.1 Descripción de la Realidad Problemática.....	15
1.2 Formulación del Problema.....	15
1.3 Objetivos de la Investigación	
1.3.1 Objetivo General.....	15
1.3.2 Objetivos Específicos.....	16
1.4 Hipótesis de la Investigación:	
1.4.1 Hipótesis General.....	16
1.4.2 Hipótesis Secundarias.....	16
1.5 Justificación e Importancia de la investigación	
1.5.1 Justificación de la Investigación.....	16
1.5.2 Importancia de la Investigación.....	17

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1	Antecedentes de la Investigación	
2.1.1	Antecedentes Nacionales	18
2.1.2	Antecedentes Internacionales.....	19
2.2	Bases Teóricas	
2.2.1	Mashua: Generalidades.....	20
2.2.2	Origen.....	20
2.2.3	Clasificación Taxonómica.....	21
2.2.4	Características Botánicas de la Especie.....	21
2.2.5	Composición Química	22
2.2.6	Usos.....	24
2.2.7	Radicales Libres.....	24
2.2.8	Antioxidante.....	25
2.2.9	Antioxidantes en Alimentos	26
2.2.10	Compuestos Fenólicos.....	27
2.2.11	Determinación de la Capacidad Antioxidante.....	28
2.3	Definición de Términos Básicos.....	29

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1	Tipo de Investigación.....	30
3.1.1	Método.....	30
3.1.2	Técnica.....	31
3.1.3	Diseño.....	31
3.2	Población y Muestreo de la Investigación.....	31
3.2.1	Población.....	31
3.2.2	Muestra.....	32
3.3	Variables e Indicadores.....	32
3.4	Procedimientos, Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos.....	32

3.4.1	Procedimientos.....	32
3.4.2	Técnicas.....	36
3.4.3	Instrumentos.....	41
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS		
4.1	Resultados.....	44
4.2	Análisis e Interpretación de Resultados	51
DISCUSIÓN.....		53
CONCLUSIONES.....		55
RECOMENDACIONES.....		56
FUENTES DE INFORMACIÓN.....		57
ANEXOS.....		61

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA Nº 1: Nombre común.....	20
TABLA Nº 2: Clasificación Taxonómica.....	21
TABLA Nº 3: Composición Química y Nutricional de la mashua.....	23
TABLA Nº 4: Marcha fitoquímica.....	45
TABLA Nº 5: Porcentaje de captación de radicales libres.....	46
TABLA Nº 6: Coeficiente de inhibición (IC ₅₀) del extracto etanólico de <i>Tropaeolum tuberosum</i>	49
TABLA Nº 7: Capacidad antioxidante mediante la IC ₅₀ (ug/ml) del extracto etanólico del <i>Tropaeolum tuberosum</i> R. & P. “mashua negra” y Trolox.....	49
TABLA Nº 8: Actividad antioxidante expresada en función a los microgramos y micromoles equivalente Trolox.....	50
TABLA Nº 9: Cuantificación de antocianinas totales del extracto etanólico del <i>Tropaeolum Tuberosum</i> R. & P. “mashua negra.....	50

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N° 1: Porcentaje de captación de radicales libres.....	47
GRÁFICO N° 2: Curva de concentración vs % captación de radicales libres de <i>Tropaeolum tuberosum</i> R. & P. “mashua negra”.....	48
GRÁFICO N° 3: Curva estándar de Trolox	66

ÍNDICE DE FOTOS

FOTO Nº 1: Tubérculo de <i>Tropaeolum tuberosum</i>	33
FOTO Nº 2: Resultado de la marcha fitoquímica	64
FOTO Nº 3: Resultado de la cuantificación de antocianinas totales.	65
FOTO Nº 4: Resultado de la de la actividad antioxidante.....	65

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA Nº 1: Flujograma de Trabajo.....	35
--	----

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N° 1: Certificación Botánica.....	61
ANEXO N° 2: Matriz de Consistencia.....	62
ANEXO N° 3: Cálculo de antocianinas totales.....	63

INTRODUCCIÓN

El *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón conocido también como mashua es uno de los tubérculos andinos más importantes y es utilizado cuando no se encuentra disponible la papa, olluco y oca.

La siembra de este tubérculo se limita a pequeñas áreas, su cultivo no deja de ser importante, pues forma parte de la dieta de miles de familias campesinas en los Andes.

A los tubérculos se les atribuyen propiedades antiafrodisíacas desde la época de los incas. Además tiene usos nutricionales y medicinales. En los usos medicinales se emplea como tratamiento en litiasis renal, dolencias genitourinarias y anemia.

Existen muchas variedades de mashua las cuales se deben a las antocianinas que son pigmentos responsables del color.

Las antocianinas y los compuestos fenólicos poseen actividades biológicas entre las que destacan sus capacidades antioxidantes y anticancerígena.

Actualmente en los últimos años se ha estimulado el consumo de frutas y hortalizas que poseen altos niveles de antioxidantes, ya que ejercen un efecto benéfico en la salud humana, tales como en el tratamiento y prevención del cáncer, enfermedades de accidentes cerebrovasculares, enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares y otras patologías de carácter inflamatorio, es por ello su interés de estudiarlo.

El presente trabajo pretende realizar un estudio de la **Actividad antioxidante del extracto etanólico de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón mashua negra**; y así poder respaldar las propiedades que se le atribuye para con ello fomentar su consumo y usos en la población; así mismo contribuir con datos e información para futuras investigaciones.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la Realidad Problemática

Según la Organización Mundial de la Salud el cáncer es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo; en 2012 hubo unos 14 millones de nuevos casos y 8,2 millones de muertes relacionadas con el cáncer.¹

Actualmente, se sabe que tanto por causas ambientales (radiación, contaminación) o incluso como consecuencia de nuestro propio metabolismo, se generan algunas moléculas que nos pueden provocar daño. A estas se les conoce como especies reactivas del oxígeno (ERO).²

Los problemas que estas moléculas originan son destrucción de paredes celulares, inactivación de enzimas, debilitamiento de la capacidad defensiva, alteración del sistema inmunológico e incluso alteración del material genético (cáncer).²

Es por ello que existe un creciente interés en el uso de antioxidantes para la prevención y el tratamiento de enfermedades. En el Perú no se ha realizado estudios sobre la actividad antioxidante del extracto etanólico de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón, mashua negra, por lo que este trabajo pretende ser un aporte científico para nuestro país y para las siguientes investigaciones.

1.2 Formulación del Problema

¿El extracto etanólico de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón, mashua negra, presentará actividad antioxidante?

1.3 Objetivos de la Investigación

1.3.1 Objetivo General

Determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón, mashua negra.

1.3.2 Objetivos Específicos

1.3.2.1 Identificar los metabolitos presentes en el extracto etanólico de ***Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón**, mashua negra.

1.3.2.2 Determinar el coeficiente de inhibición (IC₅₀) del extracto etanólico de ***Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón**, mashua negra.

1.3.2.3 Cuantificar las antocianinas totales en el extracto etanólico de ***Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón**, mashua negra.

1.4 Hipótesis de la Investigación

1.4.1 Hipótesis General

El extracto etanólico de ***Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón**, mashua negra posee actividad antioxidante frente al radical DPPH (2,2-difenil –picrilhidrazilo).

1.4.2 Hipótesis Secundarias.

1.4.2.1 El extracto etanólico de ***Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón**, mashua negra tiene metabolitos presentes.

1.4.2.2 El extracto etanólico de ***Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón**, mashua negra posee un coeficiente de inhibición (IC₅₀) óptimo para reducir en un 50% la concentración inicial del radical libre DPPH⁺.

1.4.2.3 El extracto etanólico de ***Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón**, mashua negra, contiene altas concentraciones de antocianina.

1.5 Justificación e Importancia de la Investigación

1.5.1 Justificación de la Investigación

La mashua presenta compuestos fenólicos que tienen muchas acciones terapéuticas, como para el tratamiento contra el colesterol, cáncer de colon; así mismo combaten lo

que es el stress oxidativo causado por los radicales libres ya que los compuestos fenólicos son un potente antioxidante. La mashua tiene muchas variedades; esta investigación se enfocará en estudiar específicamente sobre la mashua negra dado porque esta variedad no ha sido muy estudiada. Según la literatura, se tiene información que el extracto de mashua podría contener compuestos fenólicos con actividad antioxidante de ahí la conveniencia de realizar este estudio.

1.5.2 Importancia de la Investigación

El Perú es un país que tiene muchas variedades de especies botánicas las cuales tiene importancia en la salud de la población. Pero hacen falta investigaciones sobre ellas ya que solo se conoce por métodos tradicionales.

Los resultados de este estudio podrán servir para determinar si la concentración de compuestos fenólicos indicaría la actividad antioxidante de dicho extracto; esto contribuiría al conocimiento y la utilización en las personas que contengan problemas de salud.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la Investigación

2.1.1 Antecedentes Nacionales

La investigación realizada por Cuya Ayala RA (2008), denominada **EFFECTO DE SECADO SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA HARINA DE MASHUA (*Tropaeolum tuberosum* R & P)** en este estudio se determinó el cultivar de mashua que contenga mayor actividad antioxidante, entre los cuatro cultivares de mashua: “kello”, “yana ñawi”, “zapallo amarillo” y “cheqchi”, en estado fresco mediante el método 2,2, Difenil-1-Picril Hidrazilo (DPPH). Los resultados obtenidos indican que existe diferencias de actividad antioxidante de los cuatro cultivares de mashua; correspondiendo el mayor contenido, al cultivar “zapallo amarillo” con 587,781 µg Eq. Trolox /g.³

La investigación realizada por Ríos Luci CP (2004), denominada **CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DE ALGUNOS COMPUESTOS BIOACTIVOS Y DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE PRESENTE EN DIEZ GENOTIPOS DE MASHUA (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) Y A LA EVALUACIÓN DE SU ESTABILIDAD** en este estudio se determinaron algunas características funcionales presentes en 10 genotipos de mashua: capacidad antioxidante (método del ABTS) y contenido de antocianinas. Los resultados indican una alta variabilidad para las características funcionales entre los diferentes genotipos de mashua, así se tuvo una capacidad antioxidante con un rango de 1045,18 a 10002,35 ug de Trolox equivalente /g de materia fresca. Los

genotipos que presentaron mayor capacidad antioxidante fueron ARB – 5241 (9800,43 ug Trolox equiv./g) y DP-0224 (9309,26 ug Trolox equiv./g) ambos de coloración morada, mientras que el de menor capacidad antioxidante fue el de DP-0203 (955.03 ug Trolox equiv./g) de coloración amarilla. El contenido de antocianinas se encontró entre 85,13 y 205,03 mg de cianidina – 3 glucósido/100 g de materia fresca. Los genotipos con mayor contenido de antocianinas fueron DP-0224 (205.03 mg de cianidina -3-glucósido/ 100 g de muestra) y ARB-5241 (147 mg de cianidina -3-glucósido/ 100 g de muestra) ambos de coloración morada.⁴

2.1.2 Antecedentes Internacionales

La investigación realizada por Paucar Anasi Sonia (2014), denominada **COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE DOS VARIEDADES MASHUA (*Tropaeolum tuberosum*): AMARILLA CHAUCHA Y ZAPALLO** en este estudio se determinó la capacidad antioxidante utilizando el método ABTS (Acido 2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6- sulfónico). Se comprobó que la variedad “Zapallo” en estado fresco (6.59 μmol Trolox/g tejido) contiene mayor actividad antioxidante que la variedad “Amarilla Chauca” (3.00 μmol Trolox/g tejido).⁵

La investigación realizada por el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Quito (Ecuador), 1997; denominada **EVALUACION FITOQUIMICA CUALITATIVA DE LA PRESENCIA DE TERPENOIDES, ESTEROIDES, COMPUESTOS FENOLICOS Y ALCALOIDES EN 10 MATERIALES PROMISORIOS DE JICAMA, MASHUA, MISO Y ACHIRA** en este estudio se identificó los metabolitos presentes en el tubérculo mashua (*Tropaeolum*

tuberosum Ruíz & Pavón) obteniendo presencia escasa de saponinas; presencia abundante de compuestos fenólicos (taninos, compuestos polihidroxifenólicos), flavonoides mayores (flavona) y flavonoides menores (leucoantocianidinas) ; y ausencia de alcaloides.⁶

2.2 Bases Teóricas

2.2.1 Mashua: Generalidades

Tropaeolum tuberosum Ruíz & Pavón “Mashua”, es el cuarto tubérculo más importante después de la papa, olluco y oca. Es conocida también como “mashwa”, “añu”, “isaño” o “cubio”⁷.

TABLA N° 1: NOMBRE COMÚN

Quechua	mashua, añu, apiñu, apiña-mama.
Aymara	isau, issanu, kkayacha
Español	mashua (majua, mafua, maxua), mashuar, añú, anyú (Perú); cubios, navios, navo (Colombia); isaño, isañu, apilla. (Bolivia).
Ingles	mashua, anu.

FUENTE: National Research Council, 1989.⁸

2.2.2 Origen

La mashua es una planta originaria de la región andina. Su cultivo se ha extendido desde Colombia hasta el norte de Argentina⁹. Las mayores áreas de siembra se encuentran en Perú y Bolivia.⁹

En el Perú ha sido cultivada desde épocas preincaicas y está representada en la cerámica de esos tiempos. Existen evidencias arqueológicas que sus tubérculos ya eran

consumidos desde hace más de 7500 años. La primera evidencia arqueológica de la mashua data de 650-1350 d.C.¹⁰ en los sedimentos de la cueva Huachumachay, situada en el valle de Jauja, Perú¹¹.

2.2.3 Clasificación Taxonómica

Posición taxonómica de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981.

TABLA N° 2: CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Rosidae
Orden	Geraniales
Familia	Tropaeolaceae
Genero	<u>Tropaeolum</u>
Especie	<u>Tropaeolum tuberosum</u> R. & P.

FUENTE: Anexo N° 01

2.2.4 Características Botánicas de la Especie

A. Descripción Botánica

La mashua es una planta herbácea, perenne, semierecta de 20 a 80 cm de alto, de tallos aéreos, cilíndricos y delgados de 2 a 4 mm de diámetro, muy ramificados. Presentan un follaje frondoso sus colores puede variar de verde amarillento a verde oscuro.^{12, 13}

Tiene hojas ovaladas de color verde oscuro brillante en el haz y más claras en el envés. Puede ser de tres, cuatro o

cinco lóbulos. Sus flores son solitarias de diferentes colores que van de anaranjadas o rojizas.¹⁴

Los tubérculos tienen forma cónica alargada. Además tiene un sabor picante.

B. Distribución

Su hábitat se ha extendido desde Colombia hasta el norte de Argentina, entre los 2400 hasta los 4300 msnm. Las mayores áreas de siembra se encuentran en Perú y Bolivia.

C. Cultivo

La mashua es una especie rústica, que puede crecer a temperaturas bajas y en suelos pobres, no requiere de fertilizantes. Además, es resistente a nematodos, insectos y otras plagas. Por ello se utiliza como cerco perimétrico para la protección de otros cultivos. Su ciclo de cultivo varía entre 6 y 9 meses.

D. Variedades

Se ha encontrado variación en el color de tubérculo formas, tamaños, características de yemas y coloración de la pulpa. Miden entre 5 a 15 cm. El color de la piel del tubérculo puede variar desde gris, blanco, amarillo, naranja, rojizo, púrpura morado y negro. Sobre la piel pueden presentarse generalmente jaspes oscuros, rayas o pintas cortas, moradas o púrpuras que se distribuyen en el ápice y debajo de las yemas.¹⁴

2.2.5 Composición Química

La Mashua es un tubérculo que contiene carbohidratos, proteínas, calcio, hierro, fósforo, fibra y glucosinolatos. Algunas variedades de este tubérculo pueden contener apreciables cantidades de carotenos (vitamina A), vitamina

C, además tiene una cantidad elevada de aminoácidos esenciales.¹⁵

TABLA N° 3: COMPOSICIÓN QUÍMICA Y NUTRICIONAL DE LA MASHUA (EN 100 GRAMOS DE MATERIA FRESCA)

Composición	Rango
Energía (Kcal)	35-52
Humedad (%)	79.2 – 93.8
Proteína (g)	1.1 – 2.7
Carbohidratos (g)	7.0 – 10.5
Fibra (g)	0.5 – 1.5
Cenizas (g)	0.6 – 1.1
Grasa (g)	0.5 – 0.9
Azúcares (g)	5.37 – 9.33
Potasio (mg)	1.28 – 1.76
Fósforo (mg)	0.61 – 0.83
Calcio (mg)	10 – 13
Hierro (mg)	0.8 – 1.1
Vitamina A (mg)	0.1
Riboflavina (mg)	0.12
Niacina (mg)	0.67
Vitamina C (mg)	77.5
B-caroteno equivalente (ug)	10

FUENTE: Tapia *et al* (2007)¹⁶, Collazos *et al.*¹⁷ (1993), Meza *et al.*¹⁵ (1997), King (1986) citado por Ramallo¹⁸ (1999), National Reserach Council⁸ (1989).

2.2.6 Usos

Alimento: Los tubérculos se consumen cocidos se utiliza como ingredientes en sopas, guisos, encurtidos, mermelada, postres.

Medicinal: Se utiliza en el tratamiento contra las dolencias genito-urinarias. Como antibacteriano contra ***Cándida albicans***, ***Escherichia coli*** y ***Staphylococcus***; otras cualidades curativas es que actúa como diurético y antianémico.

Antiafrodisiaco: Disminuye la cantidad de testosterona y dihidrotestosterona en la sangre. Se dice que reduce el instinto sexual.

2.2.7 Radicales Libres

Los radicales libres son todas aquellas especies químicas, cargadas o no, que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración espacial que genera gran inestabilidad, al faltarle ese electrón, este lo toma prestado de la membrana celular y produce así otro radical libre más, dando lugar a una reacción en cadena que ocasiona daño celular (oxidativo), al interactuar con las principales biomoléculas del organismo

Pero también los radicales libres del oxígeno cumplen una función fisiológica beneficiosa en el organismo como la de participar en la fagocitosis, favorecen la síntesis de colágeno, favorecen la síntesis de prostaglandinas, activan enzimas de la membrana celular, disminuyen la síntesis de catecolaminas por las glándulas suprarrenales, modifican la biomembrana y favorecen la quimiotaxis¹⁹.

La vida biológica media del radical libre es de microsegundos. Nuestro cuerpo produce unas enzimas

como la catalasa o la dismutasa, que son las encargadas de neutralizar a estos radicales libres.

Estos son causantes de casi todas las enfermedades que afectan al ser humano y a los animales tales como el cáncer, enfermedades cardiovasculares, enfermedades degenerativas, afecciones inmunitarias y otras.

2.2.8 Antioxidante

Los antioxidantes son sustancias capaces de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. La oxidación es una reacción química de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante. Las reacciones de oxidación pueden producir radicales libres que comienzan reacciones en cadena que dañan las células, llegando finalmente a destruir nuestras células. Los antioxidantes terminan estas reacciones quitando intermedios del radical libre e inhiben otras reacciones de oxidación oxidándose ellos mismos. Debido a esto es que los antioxidantes son a menudo agentes reductores tales como tioles o polifenoles²⁰.

Los antioxidantes se encuentran contenidos en los vegetales tubérculos, cítricos, frutas, raíces, etc.

Clasificación de los Antioxidantes

Se clasifican en:

- A. Antioxidantes Primarios: Su función es de captar radicales libres. Incluyen compuestos fenólicos, y se destruyen durante el período de inducción.
- B. Antioxidantes Secundarios: Actúan por mecanismos que no están relacionados con la captación de radicales libres. Incluyen su unión a metales pesados, captación del oxígeno, conversión de hidroperóxidos a especies no radicales, absorción de la radiación UV o desactivación del oxígeno singulete. Normalmente, los antioxidantes

secundarios solo poseen actividad antioxidante en presencia de un segundo componente minoritario, lo cual puede observarse en el caso de agentes secuestradores, tal como el ácido cítrico, que sólo es efectivo en presencia de iones metálicos, y agentes reductores tal como el ácido ascórbico que sólo es efectivo en presencia de tocoferoles u otros antioxidantes primarios.

2.2.9 Antioxidantes en Alimentos

A. Antioxidantes Naturales

Las plantas producen una variedad de antioxidantes contra daño molecular de especies reactivas y por lo que se les atribuyen propiedades preventivas contra enfermedades. La mayoría de los antioxidantes naturales son compuestos fenólicos, y su eficacia depende de la reacción del hidrógeno fenólico con los radicales libres, de la estabilidad de los radicales antioxidantes formados durante la reacción con los radicales libres y de las sustituciones químicas presentes en su estructura básica, que probablemente es el factor que contribuye la actividad de los antioxidantes naturales estables.

Actualmente las investigaciones apuntan a la actividad antioxidante de fuentes naturales, ya que demuestran que son eficaces y seguras.

B. Antioxidantes Sintéticos

Los antioxidantes sintéticos contienen sustituciones alquílicas para mejorar su solubilidad en grasas y aceites. Son muy estables al calor y se usan a menudo para estabilizar las grasas de los productos cocinados y fritos.

Entre los que destacan: el hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), butilhidroquinona terciaria (TBHQ) y los esteres del ácido gálico.

Pero este tipo de antioxidantes son cuestionados porque se han reportado estudios que serían carcinogénicos.

2.2.10 Compuestos Fenólicos

Los compuestos fenólicos se caracterizan por ser uno de los grupos de compuestos presentes en el reino vegetal, siendo parte importante de la dieta tanto humana como animal. Constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, consideradas metabolitos secundarios de las plantas. Presentan un gran interés nutricional por su contribución al mantenimiento de la salud. Se les ha atribuido propiedades biológicas, farmacológicas y medicinales.

Clasificación de Compuestos Fenólicos

A. No Flavonoides

Los no flavonoides se subdividen en compuestos como los ácidos fenólicos, estilbenos y taninos hidrosolubles.

Los ácidos fenólicos distinguen dos familias distintas, la serie benzoica y la serie cinámica que se pueden encontrar en forma libre o esterificada con azúcares.

B. Flavonoides

Son compuestos de bajo peso molecular que comparten el esqueleto común de difenilpiranos, constituido por dos anillos fenilo unidos a través de un anillo pirano heterocíclico.

Los flavonoides es el grupo más ampliamente distribuido (flavonoles, flavonas, isoflavonas, flavanonas, antocianinas y flavanonas), son constituyentes naturales de los alimentos vegetales y proporcionan, en gran medida, el flavor, color y textura de estos alimentos.

Los flavonoides se encuentran en frutas, verduras, semillas y flores, así como en cerveza, vino, té verde, té negro y soja.

El creciente interés en los flavonoides se debe a la apreciación de su amplia actividad farmacológica, ya que se ha descrito efectos protectores contra patologías tales como diabetes mellitus, cáncer, cardiopatías.

Las antocianinas son compuestos hidrosolubles. Son los responsables de la coloración, rosa, malva, violeta y azul en muchos frutos, flores y otras partes de la planta. Actualmente ha ganado importancia por ser un colorante natural y por su propiedad antioxidante.

2.2.11 Determinación de la Capacidad Antioxidante

Método de determinación de la actividad secuestradora del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH).

Fundamento:

El fundamento del método desarrollado por Brand-Williams *et al.* (1995)²¹, consiste en que el DPPH es un radical libre y acepta un electrón o un radical hidrógeno para convertirse en una molécula diamagnética estable y es de color azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido o transparente por reacción con una sustancia antioxidante.

Para evaluar la potencia antioxidante mediante el barrido de radicales libres en las muestras del análisis, se registra la densidad óptica de los radicales DPPH. La actividad antioxidante se medirá mediante el descenso en la absorbancia a 517 nm.

Por diferencia de absorbancia se determina el porcentaje de captación de radical libre.

2.3 Definición de Términos Básicos

- ABTS: Ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico).
- Antocianina: Son pigmentos de color azulado, rojo oscuro o morado que contienen las plantas.
- Antioxidantes: Son moléculas capaces de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas.
- Biomoléculas: Son moléculas que solamente se encuentran en la materia viva. Lo constituyen los glúcidos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos.
- DPPH: Radical 2,2 – Difenil - 1- picrildrazilo
- Extracto: Sustancia obtenida de una planta o de un tejido animal mediante un disolvente como el alcohol o por evaporación.
- Flavonoides: Son antioxidantes naturales como compuestos fenólicos.
- Fenólicos: Parte de los antioxidantes naturales.
- ROS: Especies oxígeno reactivas. Son generalmente moléculas muy pequeñas altamente reactivas debido a la presencia de una capa de electrones de valencia no apareada.
- *Tropaeolum tuberosum*: La mashua, conocida también como “añu”, “isaño” o “cubio”, es una planta herbácea perenne originaria de la región andina.
- TEAC: Actividad Equivalente a Trolox (μg). Mide la capacidad antioxidante de una sustancia.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Tipo de Investigación

Aplicada

Se utilizaron equipos, materiales, reactivos y métodos específicos para identificar los metabolitos presentes, cuantificar las antocianinas totales y determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón “*mashua negra*” y obtener nueva información que contribuyan a los resultados de la presente investigación.

Transversal

La obtención y análisis de la información obtenida de la muestra se realizó entre julio a octubre del 2016.

3.1.1 Método

Científico

Este trabajo de investigación siguió todas las exigencias que requiere dicho método partiendo de un problema, objetivos, hipótesis, variables e indicadores.

Descriptivo

Se describe el proceso de la investigación desde la obtención de la muestra del tubérculo *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón “*mashua negra*”, sus características físicas y propiedades, además también se presentan las etapas para la obtención del extracto etanólico hasta la evaluación de resultados obtenidos.

Inductivo

Se evaluó una muestra de 20 g de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón “*mashua negra*” y se determinaron sus metabolitos presentes, antocianinas totales y la actividad antioxidante.

Cualitativo

Dado que se realizó la marcha fitoquímica del extracto etanólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra”.

Cuantitativo

Los resultados obtenidos de la muestra como es la cuantificación de antocianinas totales y la actividad antioxidante se procesaron estadísticamente desde la perspectiva cuantitativa.

3.1.2 Técnica

Se utilizaron la marcha fitoquímica para identificar los metabolitos presentes, el para cuantificar antocianinas totales y la captación del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) para determinar la actividad antioxidante.

3.1.3 Diseño

No experimental

Debido a que el presente trabajo se basó en la observación y el análisis de los resultados obtenidos de la identificación de metabolitos presentes mediante la marcha fitoquímica, la cuantificación de antocianinas totales por el método espectrofotométrico y la actividad antioxidante con el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) en la muestra del extracto etanólico de mashua negra.

De campo

Este trabajo corresponde al área de química y bioquímica para la realización de esta investigación.

3.2 Población y Muestreo de la Investigación

3.2.1 Población

Los tubérculos de la planta *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “Mashua negra” recurso vegetal procedente de la

provincia de Huamanga, distrito de Ayacucho, cultivado a 2,760 m.s.n.m.

3.2.2 Muestra

Extractos etanólicos obtenidos del tubérculo de la planta *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “Mashua negra”.

La preparación del extracto etanólico se efectuó en el laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

3.3 Variables e Indicadores

VARIABLES	INDICADORES
<p>VARIABLE INDEPENDIENTE (X) Extracto etanólico de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruíz & Pavón mashua negra.</p>	<p>Marcha fitoquímica: - Ausencia (-) - Presencia (+)</p>
<p>VARIABLE DEPENDIENTE (Y) Actividad antioxidante del extracto etanólico de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruíz & Pavón mashua negra.</p>	<p>Efecto antioxidante expresado en % de captación de radicales libres.</p>

3.4 Procedimientos, Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos

3.4.1 Procedimientos

A) Identificación taxonómica de la muestra

La identificación del recurso vegetal se realizó de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist (1981).

Dicha clasificación se realizó por el Biólogo Hamilton Beltrán.

B) Acondicionamiento de la muestra

A continuación se describen las operaciones realizadas para acondicionar la muestra.

- Recolección

Los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “Mashua negra” fueron recolectados en el Distrito de Ayacucho, en la Provincia de Huamanga, cultivados a 2,760 m.s.n.m.

FOTO N° 1: TUBÉRCULO DE *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “MASHUA NEGRA”



- Selección

Se realizó de manera manual con el fin de utilizar sólo aquellos que se encuentran en buen estado y desechar los tubérculos que presentaban estado de descomposición o signos de deterioro, golpes, rajaduras.

- Lavado

Proceso que se realizó con agua potable, para la eliminación de la tierra adherida a la superficie y cualquier otro elemento extraño al tubérculo.

- Desinfección

Los tubérculos fueron sumergidos en agua clorada durante 5 minutos con la finalidad de reducir la posible carga microbiana.

- Pesado

Para determinar futuros balances.

- Envasado

Los tubérculos fueron envasados en bolsas de polietileno de alta densidad.

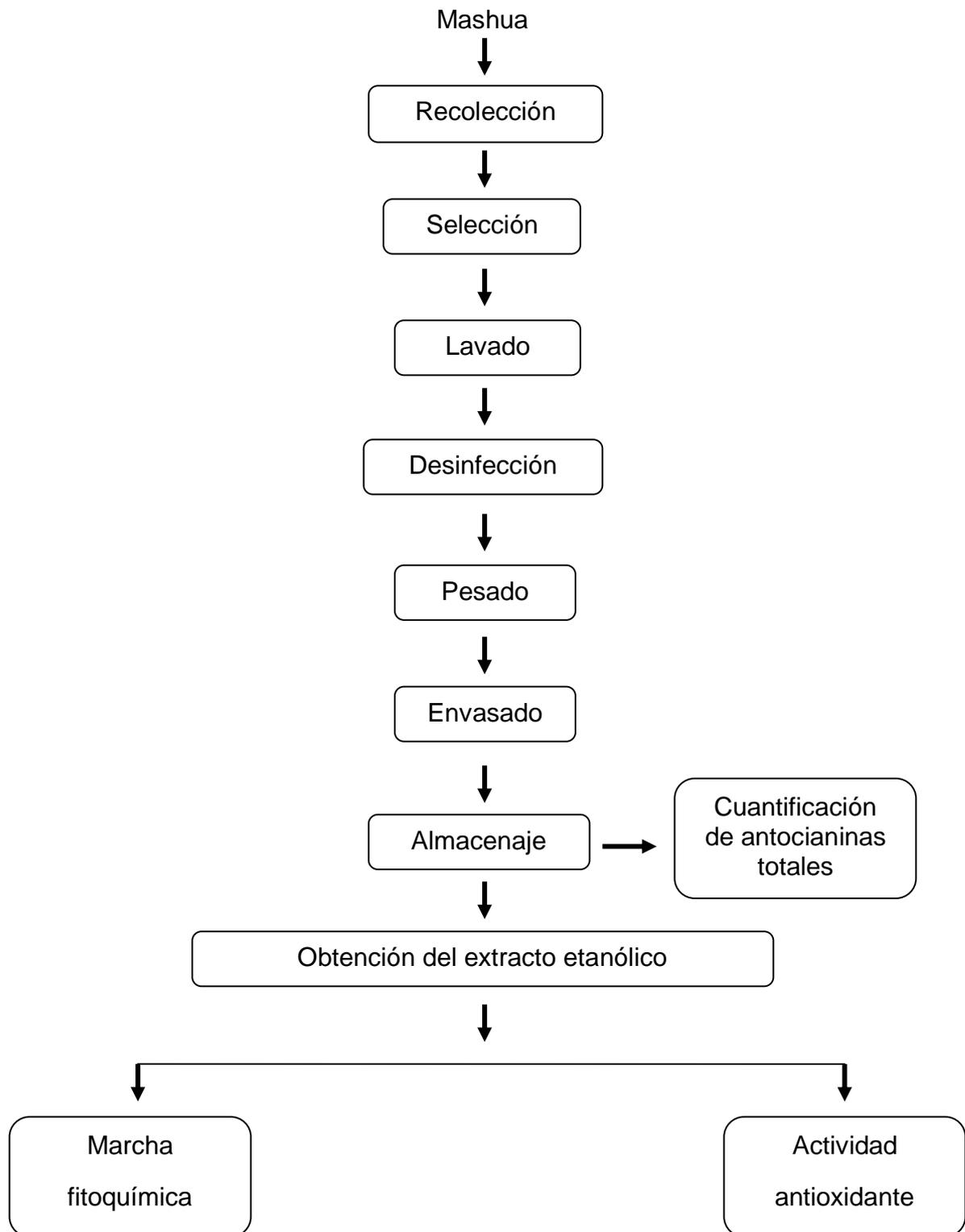
- Almacenaje

Los tubérculos fueron congelados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su análisis. Para evitar la activación enzimática.

C) Preparación del extracto etanólico

Se cortaron en trozos muy pequeños 20 gramos de tubérculo de mashua negra y fue colocado en un frasco ambar, al cual se le añadió un volumen de 100 mililitros de etanol de 96°C y se maceró por 7 días, con agitación periódica de 15 minutos diarios para optimizar la extracción de los metabolitos primarios y secundarios, luego se filtró.

FIGURA N° 1: FLUJOGRAMA DE TRABAJO



FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

3.4.2 Técnicas

A) Marcha Fitoquímica

El análisis fitoquímico cualitativo se realizó con pruebas fisicoquímicas de caracterización según Lock de Ugaz.²²

Se usaron 20 tubos de ensayo para la detección de los diferentes constituyentes fitoquímicos en el tubérculo, basado en la aplicación de pruebas de coloración y precipitación²². Se le agrego a cada tubo de ensayo 0.5 ml del extracto etanólico y luego se añadió a cada uno de los siguientes reactivos:

- Prueba de Molish: 0.5ml de M.P. + V gotas de reactivo Molish "A" + X gotas de reactivo Molish "B" (reacción positiva: anillo violeta en la interface, presencia de carbohidratos).
- Prueba de Antrona: 0.5ml de M.P. + X gotas de reactivo antrona (reacción positiva: anillo verde azulado en la interface, presencia de carbohidratos).
- Prueba de Fehling: 0.5ml de M.P. + V gotas de reactivo Fehling "A" + V gotas de Fehling "B" y colocarlo en baño maría por 10 minutos (reacción positiva: precipitado rojo ladrillo, presencia de azúcares reductores).
- Prueba de FeCl₃: 0.5ml de M.P. + III gotas de reactivo FeCl₃ (reacción positiva: coloración verde es predominio de flavonoides; coloración azul es predominio de taninos).
- Prueba de Gelatina: 0.5ml de M.P. + III gotas de reactivo gelatina (reacción positiva: precipitado blanco lechoso, presencia de taninos).
- Prueba de Shinoda: 0.5ml de M.P. + mg de magnesio metálico + III gotas de HCl cc (reacción positiva:

coloración roja a salmón, presencia de flavonoles, flavonas, flavanonoles y flavanonas; coloración amarilla indica presencia de isoflavonas; isoflavononas, catequinas, auronas y chalconas no dan reacción).

- Prueba de Rosenheim: 0.5ml de M.P. + III gotas de reactivo de Rosenheim (reacción positiva: precipitado rojo pardo, presencia de flavonoides catéticos y antocianinas).
- Prueba de Borntrager: 0.5ml de M.P. + III gotas de reactivo de Borntrager (reacción positiva: coloración rojiza, presencia de antraquinonas).
- Prueba de Lieberman- Burchardat: 0.5ml de M.P. + X gotas de Reactivo de Lieberman-Burchardat "A" + X gotas de Reactivo de Lieberman-Burchardat "B" + X gotas de Reactivo de Lieberman-Burchardat "C" (reacción positiva: coloración verde o azulada es predominio de esteroides; coloración pardo anaranjado es predominio de triterpenoides).
- Prueba de Ninhidrina: 0.5ml de M.P. + III gotas de reactivo Ninhidrina (reacción positiva: coloración violeta).
- Prueba de Dragendorff: 0.5ml de M.P. + V gotas de HCl 10% + III gotas de reactivo de Dragendorff (reacción positiva: precipitado naranja).
- Prueba de Mayer: 0.5ml de M.P. + V gotas de HCl 10% + III gotas de reactivo de Mayer (reacción positiva: precipitado blanco).

- Prueba de Bertrand: 0.5ml de M.P. + V gotas de HCl 10% + III gotas de reactivo de Bertrand (reacción positiva: precipitado blanco lechoso).
- Prueba de Sonnenschein: 0.5ml de M.P. + V gotas de HCl 10% + III gotas de reactivo de Sonnenschein (reacción positiva: precipitado verde azulado).
- Prueba de Hidroxilamina: 0.5ml de M.P. + III gotas de reactivo Hidroxilamina (reacción positiva: precipitado rojizo).
- Prueba de Saponinas: 0.5ml de M.P. + 5 ml de agua destilada, agitar vigorosamente el tubo por 15 segundos y dejar en reposo por 1 minuto (reacción positiva: formación de espuma por más de 1 cm y sea persistente).
- Prueba de Vainillin-sulfúrico: 0.5ml de M.P. + V gotas de reactivo Vainillin-sulfúrico "A" + X gotas de reactivo Vainillin-sulfúrico "B" (reacción positiva: anillo rojo pardo en la interface).
- Prueba con Ácido sulfúrico H_2SO_4 : Reacción positiva rojo naranja.
- Prueba con Hidróxido de Sodio (NaOH): Reacción positiva rojo naranja.

B) Determinación de la Actividad Secuestradora del Radical Libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH).

La técnica se realizó acorde al método descrito por Brand-Williams *et al.*(1995)²¹. Se preparó una solución del radical libre 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH⁺) a una concentración de 2 mg en 100 ml de metanol y se cubrió con papel aluminio para evitar su rápida degradación. Luego se prepara una solución del extracto etanólico de

Tropaeolum tuberosum Ruíz & Pavón, a una concentración inicial de 12600 ug/ml, a partir de ésta solución madre, se prepararon diferentes disoluciones dando concentraciones de 6300, 5400, 4050, 2700 y 600 ug/ml.

Luego se procedió a preparar la muestra en un tubo con 0,8 ml de solución de los extractos de *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón con 1,6 ml de la solución de DPPH. El blanco de muestra se prepara con 0.8 ml de muestra (solución del extracto) y 1.6 ml de etanol. Luego se prepara el patrón de referencia 0,8 ml de etanol con 1,6 ml de solución de DPPH.

Se taparon todos los tubos con parafilm, se agitaron en vórtex y se dejaron reposar por 30 minutos en oscuridad y se lee la absorbancia con una cubeta de cuarzo a 517 nm, en un espectrofotómetro.

A partir de las absorbancias obtenidas se determinó el porcentaje de actividad antioxidante con la ecuación que se presenta a continuación.

Fórmula para calcular la capacidad antioxidante:

$$\% \text{ Capacidad Antioxidante} = \left[1 - \frac{(A2 - A3)}{A1} \right] \times 100$$

Cálculo de la capacidad antioxidante:

A1= Absorbancia del patrón de referencia

A2= Absorbancia de la muestra

A3= Absorbancia del blanco de muestra

Las muestras fueron medidas por triplicado.

Luego de haber calculado los porcentajes de inhibición de cada una de las concentraciones, se determinó el coeficiente de inhibición²³ (IC₅₀), este se calculó en base

a la fórmula de la pendiente, como una reducción del 50% en la absorbancia ocasionada por los extractos.

Aplicando la siguiente fórmula:

$$IC_{50} = \frac{50 - b}{m}$$

Donde:

IC₅₀: Concentración necesaria del antioxidante para reducir en un 50% la concentración inicial del radical DPPH⁺.

b: Intercepto de la línea de regresión lineal.

m: Pendiente de la línea de regresión lineal.

Finalmente se comparó el valor con la curva estándar teniendo como patrón al Trolox, el cual es una sustancia hidrosoluble análoga de la vitamina E (GRÁFICO N° 4). Los resultados se expresaron como µg de Trolox equivalente/g de muestra fresca, de acuerdo a la siguiente fórmula²⁴:

$$TEAC = \frac{IC50 \text{ del Trolox } \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \right)}{IC50 \text{ de la muestra } \left(\frac{\text{g}}{\text{ml}} \right)}$$

C) Cuantificación de Antocianinas Totales

Las antocianinas totales se determinaron según el método descrito por Abdel-Aal y Huel²⁵ (1999) con sus respectivas modificatorias. Bajo condiciones de oscuridad se picaron y pesaron 2.55 g de mashua negra congelada, estas fueron colocadas en un tubo de falcón de 50 ml, se le agregó 15 ml de solución etanol acidificado (96% etanol y HCl 1N, 85:15, v/v). El tubo con la muestra se

cubrió con tapón apropiado. Luego se agitó por 10 min con 5 minutos de congelamiento a 4°C (proceso repetido 3 veces). Posteriormente se centrifugó a 3500 RPM durante 10 minutos, luego se realizó el filtrado y se recolectó el sobrenadante. Este sobrenadante es llevado a pera de decantación y se le adiciono hexano 12.5 ml para desengrasar, se agitó vigorosamente, se dejó reposar durante 30 minutos, permitiendo la separación de fases. Se extrajo la fase del alcohol ácido (que arrastra las antocianinas) y se colocó en tubo falcón. Posteriormente se procedió a realizar una dilución de 0.5 ml de extracto en 25 ml de solución etanol acidificado para luego ser leídas en el espectrofotómetro a 535 nm y 700 nm.

El contenido de antocianinas se calculó como:

Fórmula para cuantificación de antocianinas totales

$$C = [(A_{535nm} - A_{700nm})/\epsilon] \times (\text{volumen total de extracto}) \times MW \times (1/\text{peso muestra}) \times Fd$$

Donde:

C=Concentración de antocianinas totales (mg de cianidina 3-glucósido equivalentes por g de muestra).

A=Absorbancia

ϵ = Absorptividad molar de cianidina 3-glucósido (25965/cm/M)

MW = Peso molecular de cianidina 3-glucósido (449.2).

Fd: Factor de dilución

3.4.3 Instrumentos

Equipos

- Agitador Vortex

- Balanza analítica
- Espectrofotómetro UV-VIS Pharo 300 Spectroquant MERCK
- Refrigeradora – congeladora

Materiales

- Cuchillo de mango de plástico
- Cubeta de cuarzo
- Embudo de cristal
- Frasco de vidrio color ambar
- Gradilla
- Micropipetas
- Papel de aluminio
- Papel de filtro
- Pipetas de 1, 5, 10 ml.
- Pipeta de Pasteur
- Probetas de 10, 20, 50, 100 y 250 ml.
- Tubos de ensayo
- Soporte universal
- Vaso de precipitado
- Viales de vidrio con tapa

Reactivos

- Ácido sulfúrico
- Agua destilada.
- Agua estéril
- DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo)
- Hidróxido de Sodio
- Etanol
- Reactivo de Antrona
- Reactivo de Bertrand
- Reactivo de Borntrager
- Reactivo de Dragendorff

- Reactivo de Fehling
- Reactivo de Gelatina – sal
- Reactivo de Hidroxilamina
- Reactivo de Liebermann – Burchard
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Molish
- Reactivo de Ninhidrina
- Reactivo de Shinoda
- Reactivo de Sonnenschein
- Reactivo de Rosenhein
- Reactivo de Tricloruro de Hierro
- Reactivo de Vainillin sulfúrico

CAPÍTULO IV

PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 Resultados

Los resultados de la marcha fitoquímica basada en reacciones de precipitación y coloración, realizada al extracto etanólico de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “*mashua negra*”, demostraron la presencia muy abundante de azúcares reductores, flavonoides y antocianinas; presencia abundante de carbohidratos, aminoácidos, grupos aminos y alcaloides; presencia moderada de taninos, compuestos triterpénicos y glicósidos; presencia leve de compuestos fenólicos, antraquinonas y compuestos con grupo carbonilo; ausencia de flavonoides catéquicos y saponinas (véase la TABLA N° 4 y FOTO N° 7).

TABLA N° 4: MARCHA FITOQUÍMICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “MASHUA NEGRA”

N°	Metabolitos	Reactivos	Resultado
1	Carbohidratos	Molish	+++
2		Antrona	+++
3	Azúcares reductores	Fehling	++++
4	Compuestos fenólicos	Tricloruro de Hierro (FeCl ₃)	+
5	Taninos	Gelatina - sal	++
6	Flavonoides	Shinoda	++++
7	Antocianinas	Ácido sulfúrico H ₂ SO ₄	++++
8		Hidróxido de Sodio (NaOH)	+++
9	Flavonoides catéquicos	Rosenhein	-
10	Antraquinonas	Borntrager	+
11	Compuestos Triterpénicos	Liebermann - Burchard	++
12	Aminoácidos y grupos aminos	Ninhidrina	+++
13	Alcaloides	Dragendorff	+++
14		Mayer	+
15		Bertrand	+
16		Sonnenschein	+
17	Compuestos con grupo carbonilo	Hidroxilamina	+
18	Saponinas	Espuma	-
19	Glicósidos	Vainillin sulfúrico	++
20	Muestra control		

FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

Leyenda: (++++) Muy abundante, (+++) Abundante, (++) Moderada, (+) Leve, (-) Ausencia.

Con respecto al porcentaje de captación de radicales libres de cada una de las concentraciones realizadas al extracto etanólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “*mashua negra*”, se lograron los siguientes resultados: a concentraciones de 2100 ug/ml, 1800 ug/ml, 1350 ug/ml, 900 ug/ml, 200 ug/ml obtuvieron porcentajes de 54,71%, 42,52%, 31,67%, 23,59%, 5,46% respectivamente (Véase la TABLA N° 5 y GRÁFICO N° 1).

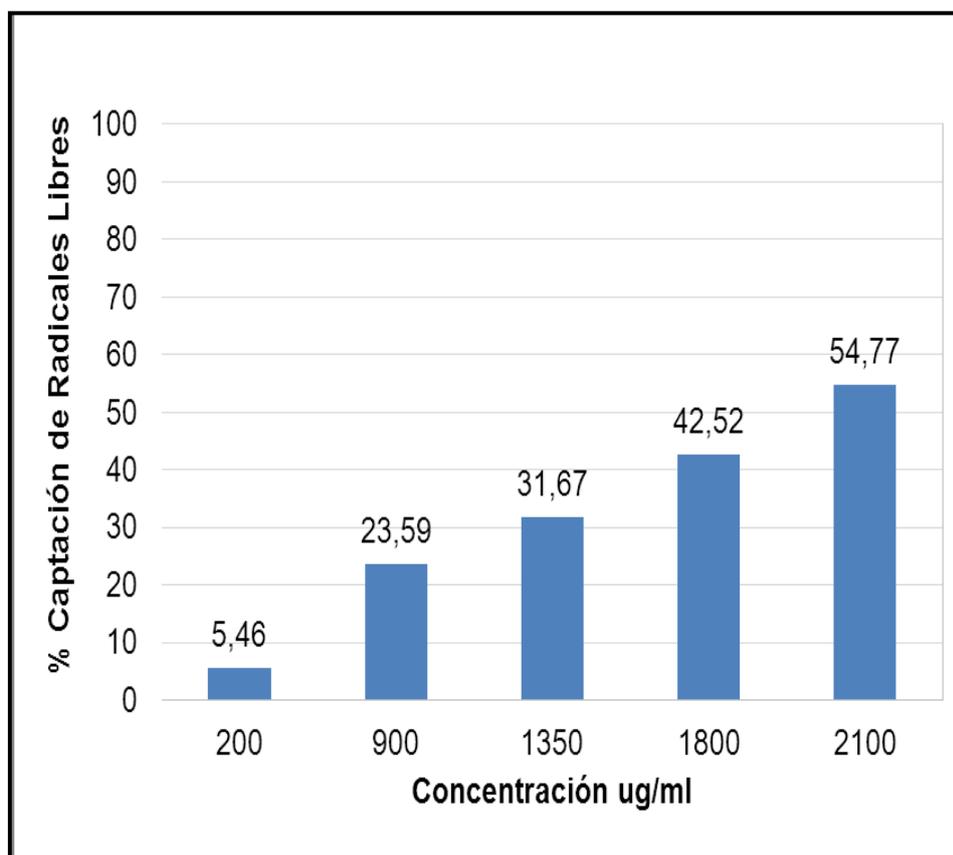
TABLA N° 5: PORCENTAJE DE CAPTACIÓN DE RADICALES LIBRES DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón “MASHUA NEGRA”

Absorbancia del Patrón DPPH: 0.421

Muestra	Concentración ug/ml	Promedio de Absorbancia de la muestra	Absorbancia del blanco de muestra	Capacidad Antioxidante %
Extracto etanólico de “mashua negra”	2100 ug/ml	0.195	0.004	54,77
	1800 ug/ml	0,242	0.002	42,52
	1350 ug/ml	0,288	0.000	31,67
	900 ug/ml	0,322	0.000	23,59
	200 ug/ml	0,398	0.002	5,46

FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

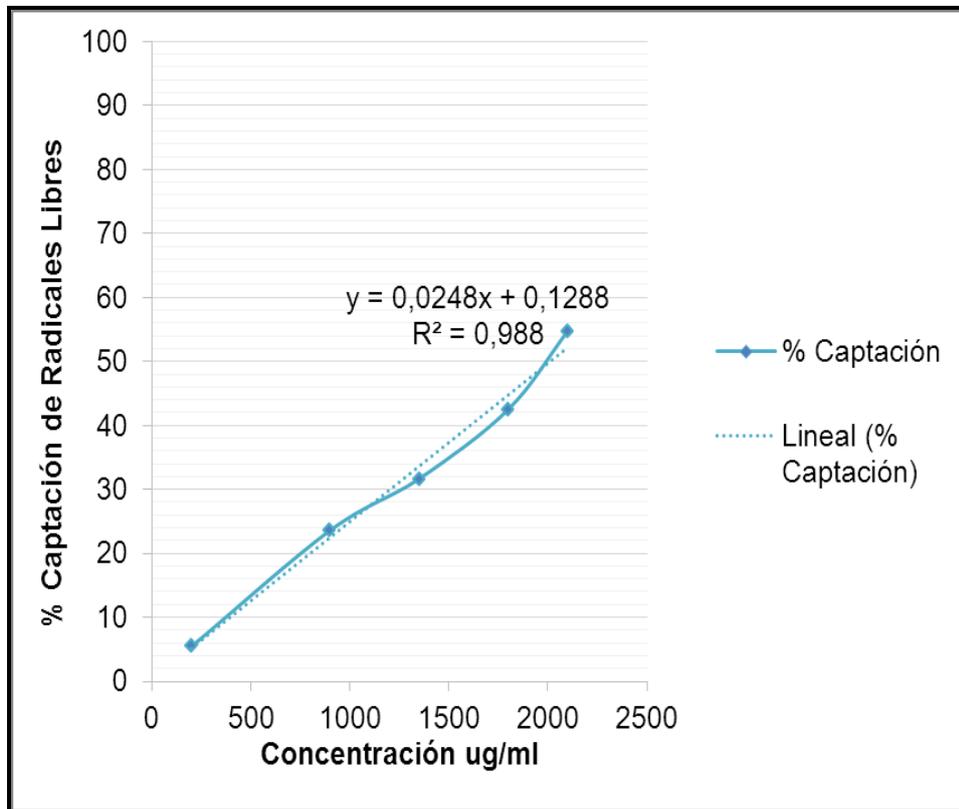
GRÁFICO N° 1: PORCENTAJE DE CAPTACIÓN DE RADICALES LIBRES DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón “MASHUA NEGRA”



FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

El Coeficiente de inhibición (IC_{50}) del extracto etanólico de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra”, presentó un valor de 2010.9355 $\mu\text{g/ml}$ esto se obtuvo a partir de la ecuación de la curva de concentración vs % captación de radicales libres (véase la GRÁFICO N° 2 Y TABLA N° 6).

GRÁFICO Nº 2: CURVA DE CONCENTRACIÓN VS % CAPTACIÓN DE RADICALES LIBRES DE *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “MASHUA NEGRA”



FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

A partir de la ecuación de la curva se obtiene:

$$y = m x + b$$

$$x = (y - b)/m$$

$$IC_{50} = \frac{50 - b}{m}$$

$$IC_{50} = (50 - 0.1288) / 0.0248$$

$$IC_{50} = 2010.9355$$

$$IC_{50} = 2010.9355 \mu\text{g/ml}$$

TABLA N° 6: COEFICIENTE DE INHIBICIÓN (IC₅₀) DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “MASHUA NEGRA”

Muestra	Coeficiente de Inhibición (IC ₅₀) ug/ml	Coeficiente de Inhibición (IC ₅₀) g/ml
Extracto etanólico de Mashua negra	2010,9355	0.0020109355

FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

El resultado del coeficiente de inhibición (IC₅₀) expresado en ug/ml del extracto etanólico del *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua negra” comparado con el del estándar antioxidante Trolox (ANEXOS, GRÁFICO N° 4). Se observa a continuación (véase la TABLA N° 7).

TABLA N° 7: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE MEDIANTE LA IC₅₀ (ug/ml) DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “MASHUA NEGRA” Y TROLOX

Coeficiente de Inhibición (IC ₅₀) en ug/ml	
IC ₅₀ α-Tocoferol (Trolox)	2,3934
IC ₅₀ Extracto etanólico de Mashua negra	2010,9355

FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

El resultado de la actividad antioxidante del extracto etanólico del *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra” expresado en equivalente Trolox se muestran a continuación (véase la TABLA N° 8).

TABLA N° 8: ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EXPRESADA EN FUNCIÓN A LOS MICROGRAMOS Y MICROMOLES EQUIVALENTE TROLOX.

Muestra	Equivalente ug Trolox/g muestra	Equivalente umol Trolox/g muestra
Extracto etanólico de Mashua negra	1190,1923	4,75

FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

El resultado de la cuantificación de antocianinas totales del extracto etanólico del *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra” presentó un valor de 165,3697 mg de cianidina -3-glucósido/ 100 g de muestra. (Véase la TABLA N° 9 y ANEXO N° 3).

TABLA N° 9: CUANTIFICACION DE ANTOCIANINAS TOTALES DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “MASHUA NEGRA.

Muestra	Promedio de Absorbancias de la muestra		Concentración de antocianinas totales*
Extracto etanólico de Mashua negra	Lectura 535 nm	0.325	165,3697
	Lectura 700 nm	0.000	

* mg de Cianidina -3-glucósido/ 100 g de muestra.

FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

4.2 Análisis e Interpretación de Resultados

En la TABLA N° 4: Al realizar el análisis fitoquímico al extracto etanólico de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra”, se identificaron los metabolitos presentes, entre los que destacan los flavonoides y antocianinas que mostraron presencia muy abundante. Es probable que la presencia de estos metabolitos contribuyan a la actividad antioxidante del extracto evaluado en este estudio.

En la Tabla N° 5 y GRÁFICO N° 1: Se muestra la capacidad antioxidante, medida por el porcentaje de captación de radicales libres de cada una de las concentraciones realizadas al extracto etanólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra”. Por consiguiente a medida que aumenta la concentración del extracto etanólico de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra” aumenta la captación de radicales libres causantes de la oxidación, lo que indica mayor actividad antioxidante.

GRÁFICO N° 2 y TABLA N° 6: Se observa que el extracto etanólico de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón “mashua negra”, presenta un coeficiente de inhibición (IC_{50}) de 2010.9355 $\mu\text{g/ml}$. Este valor indica la cantidad de extracto que se requiere para reducir en un 50% la concentración inicial del radical DPPH⁺, lo que demuestra su óptima capacidad antioxidante.

El coeficiente de inhibición (IC_{50}) se obtiene utilizando el intercepto y la pendiente de la línea de regresión lineal.

TABLA N° 7: Se observa la capacidad antioxidante de la muestra mediante la IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) del extracto etanólico del *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua negra” y Trolox. El extracto de etanólico de “mashua negra” tuvo un IC_{50} de 2010.9355 $\mu\text{g/ml}$, mientras que el Trolox tuvo un IC_{50} de 2,3934 $\mu\text{g/ml}$. Por lo cual la

actividad antioxidante de la mashua negra es menor en comparación con la del patrón antioxidante Trolox. Teniendo en cuenta que a menor IC₅₀ mayor es la capacidad antioxidante de un extracto.

TABLA N° 8: Muestra la actividad antioxidante del extracto etanólico del *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “mashua negra” expresado en Trolox, esto se obtiene de la división del IC₅₀ del Trolox entre el IC₅₀ del extracto. Es decir, cada gramo de muestra fresca de “mashua negra” tuvo una actividad antioxidante de 1190,1923 ug equivalente Trolox/g muestra, que convertido en micromoles obtuvo un valor de 4,75 µmol Trolox/g muestra.

TABLA N° 9 y ANEXO N° 3: Muestra el contenido de antocianinas totales del extracto etanólico del *Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón “mashua negra”, presentando un valor de 165,3697 mg de cianidina -3-glucósido/ 100 g de muestra. Esto puede ser atribuido a la genética del tubérculo, lugar de procedencia, condiciones ambientales y tipo de suelo.

DISCUSIÓN

En el estudio realizado por Cuya³ (2008), empleando el método de DPPH, determinó que de los cuatro cultivares de mashua que investigó, la variedad de mashua con mayor actividad antioxidante fue la de “zapallo amarillo”, obteniendo un valor de 587,781 µg Eq. Trolox /g este resultado es inferior al valor obtenido en nuestra investigación de mashua negra que presento un resultado de 1190,1923 ug equivalente Trolox/g de muestra. Concluyendo que la mashua “negra” tiene mayor actividad antioxidante que la variedad “zapallo amarillo”.

Los resultados de la determinación de la actividad antioxidante indicaron que la mashua negra presentó una actividad antioxidante equivalente a 1190,1923 ug equivalente Trolox/g de muestra fresca. Este valor se encuentra dentro del rango de 1045,18 a 10002,35 ug de Trolox equivalente /g de materia fresca reportado por Ríos⁴ (2004), para genotipos de coloración amarilla y morada, empleando el método ABTS. A pesar de las diferencias metodológicas se encuentra dentro de este rango por lo que se concluye que la muestra de “mashua negra” presenta actividad antioxidante.

Así mismo, Ríos⁴ (2004), en su trabajo relacionado con el contenido de antocianinas en mashua de coloración amarilla y morada, encontró valores de 85,13 a 205,03 mg de cianidina -3-glucósido/ 100 g de muestra, siendo este estudio comparado con nuestra investigación de mashua negra la cual obtuvo un valor de 165,3697 mg de cianidina -3-glucósido/ 100 g de muestra; se concluye que la mashua “negra” presenta un importante valor de antocianina, el cual proporciona efectos benéficos a la salud, actuando principalmente como antioxidante natural.

En la investigación realizada por Paucar⁵ (2014), se determinó la capacidad antioxidante utilizando el método ABTS, para dos cultivares de mashua, la variedad de mashua “Zapallo” obtuvo 6.59 $\mu\text{mol Trolox/g}$ tejido y la variedad “Amarilla Chauca” obtuvo 3.00 $\mu\text{mol Trolox/g}$ tejido; comparando estos resultados con la mashua “negra” que obtuvo 4.75 $\mu\text{mol Trolox/g}$ tejido; se concluye que la mashua “negra” tiene menor actividad antioxidante que la variedad “Zapallo” pero mayor que la variedad “Amarilla Chauca”.

El Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP)⁶, Ecuador (1997) realizó una marcha fitoquímica al tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón, se coincide con esta investigación en la cantidad de flavonoides y leucoantocianidinas (tipo de antocianina); a diferencia de los resultados obtenidos en el presente estudio, en los cuales se detectó presencia abundante de alcaloides y ausencia de saponinas. Esta diferencia de resultados puede deberse a las características intrínsecas del material vegetal y a la influencia de factores agroclimáticos²⁶ (Acosta, 2003).

CONCLUSIONES

1. Se determinó la actividad antioxidante del extracto etanólico de ***Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón** “mashua negra”, mediante el método de captación del radical DPPH. Basado en la reducción del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) por las sustancias antioxidantes presentes en el extracto etanólico de la mashua negra y fueron expresados en forma de porcentaje de captación de radicales libres.
2. Se identificó los metabolitos presentes del extracto etanólico de ***Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón** “mashua negra” mediante la marcha fitoquímica, basada en reacciones de precipitación y/o coloración; obteniéndose la presencia de flavonoides, antocianinas y taninos, los cuales otorgan propiedades antioxidantes.
3. Se determinó el coeficiente de inhibición (IC_{50}) del extracto etanólico de ***Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón** “mashua negra” obteniendo el valor de 2010.9355 $\mu\text{g/ml}$. Este valor indica la cantidad necesaria de extracto que se requiere para reducir en un 50% la concentración inicial del radical libre DPPH⁺.
4. Se cuantificó las antocianinas totales en el extracto etanólico de ***Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón** “mashua negra”, mediante el método espectrofotométrico, obteniendo como resultado 165,3697 mg de cianidina-3-glucósido/100 g de muestra. El proceso se realizó en un tiempo corto y bajo oscuridad debido a que las antocianinas son inestables a factores ambientales tales como: luz visible, temperatura, oxígeno.

RECOMENDACIONES

1. Realizar mayores estudios acerca de la mashua negra para con ello promover un consumo y uso en nuestra población.
2. Estudiar el efecto del secado y cocción sobre la capacidad antioxidante de la mashua negra.
3. Realizar investigaciones sobre la capacidad antioxidante de todas las variedades de mashua presentes en el Perú.
4. Aislar a los compuestos fenólicos y flavonoides de la mashua negra para determinar su concentración de cada una de ellas presentes en la muestra.

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. World Health Organization. **Informe mundial sobre el cáncer 2014, IARC**. Centro de prensa. Cáncer. Nota descriptiva N°297. Febrero de 2015.
2. Castañeda B, Ramos E, Ibáñez L. **Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas**. Horiz Med [Internet]. 2008 [Fecha de acceso 20 de Junio 2016]; 8 (1): 56-72. Disponible en:

<http://www.horizontemedicina.usmp.edu.pe/index.php/horizontemed/article/view/196/209>
3. Cuya Ayala R. **Efecto de secado sobre la actividad antioxidante de la harina de mashua**. [Tesis Pregrado]. Perú, Universidad Nacional del Callao; 2008.
4. Ríos Luci CP. **Contribución al estudio de algunos compuestos bioactivos y de la capacidad antioxidante presente en diez genotipos de mashua (*Tropaeolum Tuberosum* Ruiz & Pavón) y a la evaluación de su estabilidad**. [Tesis Pregrado]. Perú, Universidad Nacional Agraria la Molina; 2004.
5. Paucar Anasi S. **Composición química y capacidad antioxidante de dos variedades mashua (*Tropaeolum tuberosum*): Amarilla Chaucha y Zapallo**. [Tesis Pregrado]. Ecuador, Universidad Tecnológica Equinoccial; 2014. Disponible en:

http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/5112/1/58311_1.pdf
6. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Quito (Ecuador). **Evaluación fitoquímica cualitativa de la presencia de terpenoides, esteroides, compuestos fenólicos y alcaloides en**

- 10 materiales promisorios de jicama, mashua, miso y achira.**
Informe Técnico Anual. 1997; pp. 12-16.
7. Barrera V, Tapia C, Monteros A (eds.). Raíces y Tubérculos Andinos: Alternativas para la conservación y uso sostenible en el Ecuador. Serie: **Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003)**. No.4. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Centro Internacional de la Papa, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación. Quito, Ecuador - Lima, Perú. 2004; 176 p.
 8. National Research Council. **Lost crops of the Incas: little known plants of the Andes with promise for worldwide cultivation**. National Academy Press. Washington D.C. 1989; Pp. 67 – 73.
 9. Manrique I, Arbizu C, Vivanco F, Gonzales R, Ramírez C, Chávez O, et. al. ***Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pav. Colección de germoplasma de mashua conservada en el Centro Internacional de la Papa (CIP)**. Centro Internacional de la Papa. Lima, Perú. 2014; 122 p.
 10. Pearsall D. **The origins of plant cultivation in South America**, en C. Wesley Cowan & P. J. Watson (eds.), **The origins of agriculture. An international perspective**. Washington and London: Smithsonian Institution Press; 1992; pp. 173-206.
 11. Grau A, Ortega R, Nieto C, Hermann M. **Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pav.)**. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 25. International Potato Center, Lima, Peru/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 2003.
 12. Cadima X. **Tubérculos**. Universidad Mayor de San Andrés. La Paz. 2006; pp. 347-369.

13. Arbizu C, Tapia M. **Andean tubers**. In: Hernando Bermejo JE, and Leon J (eds). *Neglected Crops: 1492 from a different Perspective*. Plant Production and Protection Series N°. 26. Food and Agriculture Organization (FAO). Rome, Italy pp. 149 – 163.
14. Hernandez B, León J. **Cultivos marginados otra perspectiva de 1492**. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación Roma. 1992; 150 -151.
15. Meza G, Cortes H, Zela G, Gonza V. (1997). **Cultivo de mashua**. IX Congreso Internacional de Cultivos Andinos: Curso pre – congreso, Cusco – Perú. 1997; pp 42-51.
16. Tapia M, Fries A, Mazar I, Rosell C. **Guía de campo de los cultivos andinos FAO - ANPE**. Lima. 2007. pp 209.
17. Collazos C, Philip W, Viñas E, Alvistur J, Hernandez E, Arias M. **Composición de alimentos de mayor consumo en el Perú**. 6ta. Edición; Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Nutrición. Lima. Perú. 1993.
18. Ramallo Z. **Diseño de una planta procesadora de harina de Isaño como base de la alimentación porcina**. [Tesis]. Bolivia, Universidad Privada de Bolivia; 1999.
19. Venereo Gutiérrez JR. **Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes**. Rev. Cubana de medicina militar. 2002; 31(2): 126-133.
20. Valdebenito A. **Antioxidantes como transferentes de cadena en la polimerización de monómeros vinílicos**. [Tesis doctoral]. Chile, Universidad de Santiago de Chile; 2005.
21. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. **Use of free radical method to evaluate antioxidant activity**. Lebensm.Wiss. Technol. 1995; 22(1): 25-30.
22. Lock de Ugaz O. **Investigación Fitoquímica**. Métodos en el estudio de productos naturales. Lima. 2 Ed. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. 1994.

23. Reyes SR, Casanova EV, Solano HD, Rodríguez IQ. **Capacidad antioxidante in vitro de las isoflavonas totales obtenidas de semillas de Glycine max L.(Soya) provenientes de la provincia de Jaén-Cajamarca.** UCV-SCIENTIA. 2015; 4(1): 23-32.
24. Granados C, Yáñez X, Acevedo D. **Evaluación de la Actividad Antioxidante del Aceite Esencial Foliar de Myrcianthes leucoxyla de Norte de Santander (Colombia).** Inf. tecnol. [Internet]. 2014 [citado 17 Oct. 2016]; 25(3): 11-16.
Disponible en:
<https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642014000300003>
25. Abdel-Aal ESM, Hucl P. **A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats.** Cereal Chemistry. 1999; 76: 350-354.
26. Acosta de la Luz L. **Principios agroclimáticos básicos para la producción de plantas medicinales.** Rev Cubana Plant Med [Internet]. 2003 Abr [citado 17 Oct. 2016]; 8(1).
Disponible en:
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962003000100008&lng=es.](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962003000100008&lng=es)

ANEXOS

ANEXO N° 1

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com

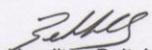
CERTIFICACION BOTANICA

El Biólogo colegiado y autorizado por el Inrena según RD. N° 334-2013-MINAGRI-DGFFS/DGEFFS, con Registro N° 37, certifica que la planta conocida como "MASHUA NEGRA", proporcionado por la Srta. URIBE PINTA ELIZABETH, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Tropaeolum tuberosum* y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Rosidae
Orden: Geraniales
Familia: Tropaeolaceae
Género: *Tropaeolum*
Especie: *Tropaeolum tuberosum* R. & P.

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

Lima, 10 Agosto 2016.


Blgo. Hamilton Beltrán

Hamilton Wilmer Beltrán Santiago
Biólogo - Botánico
C.B.P. 2719

ANEXO Nº 2

MATRIZ DE CONSISTENCIA

Título de Tesis: ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón MASHUA NEGRA.

Presentado por: Uribe Pinta Elizabeth

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACION	METODO Y DISEÑO DE INVESTIGACION	VARIABLES	POBLACION Y MUESTRA
<p>-¿El extracto etanólico de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón, mashua negra, presentará actividad antioxidante?</p>	<p>- Determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón, mashua negra.</p> <p>Objetivos Específicos</p> <p>O.E.1: Identificar los metabolitos presentes del extracto etanólico de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón, mashua negra.</p> <p>O.E.2: Determinar el coeficiente de inhibición (IC50) del extracto etanólico de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón, mashua negra.</p> <p>O.E.2: Cuantificar las antocianinas totales en el extracto etanólico de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón, mashua negra.</p>	<p>- El extracto etanólico de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón, mashua negra posee actividad antioxidante frente al radical DPPH (2,2-difenil –picrilhidrazilo).</p> <p>Hipótesis Secundarias</p> <p>H.E.1: El extracto etanólico de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón, mashua negra tiene metabolitos presentes.</p> <p>H.E.2: El extracto etanólico de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón, mashua negra posee un coeficiente de inhibición (IC50) óptimo para reducir en un 50% la concentración inicial del radical libre DPPH+.</p> <p>H.E.2: El extracto etanólico de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón, mashua negra, contiene altas concentraciones de antocianina.</p>	<p>Tipo de Investigación:</p> <p>-Aplicada - Tansversal</p> <p>Nivel de Investigación:</p> <p>-Descriptivo</p>	<p>Método de Investigación:</p> <p>-Científico - Descriptivo -Inductivo -Cuantitativo - Cualitativo</p> <p>Diseño de Investigación:</p> <p>-No Experimental -De campo</p>	<p>Variable Independiente (X)</p> <p>X: Extracto etanólico de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón mashua negra.</p> <p>Indicadores:</p> <p>X1: Marcha fitoquímica</p> <p>Variable Dependiente (Y)</p> <p>Y: Actividad antioxidante del extracto etanólico de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón mashua negra.</p> <p>Indicadores</p> <p>Y1: % de captación de radicales libres.</p>	<p>Población:</p> <p>Los tubérculos de la planta <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón “Mashua negra”.</p> <p>Muestra:</p> <p>Extractos etanólicos obtenidos del tubérculo de la planta <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón, mashua negra.</p>

ANEXO Nº 3

CÁLCULO DE ANTOCIANINAS TOTALES

Fórmula para cuantificación de antocianinas totales:

$$C = [(A_{535nm} - A_{700nm})/\epsilon] \times (\text{volumen total de extracto}) \\ \times MW \times (1/\text{peso muestra}) \times Fd$$

Donde:

C=Concentración de antocianinas totales (mg de cianidina 3-glucósido equivalentes por g de muestra).

A=Absorbancia

ϵ = Absorptividad molar de cianidina 3-glucósido (25965/cm/M)

MW = Peso molecular de cianidina 3-glucósido (449.2).

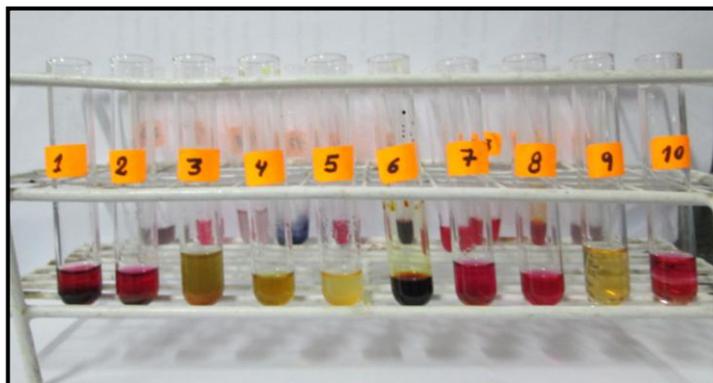
Fd: Factor de dilución

Reemplazando datos en la fórmula:

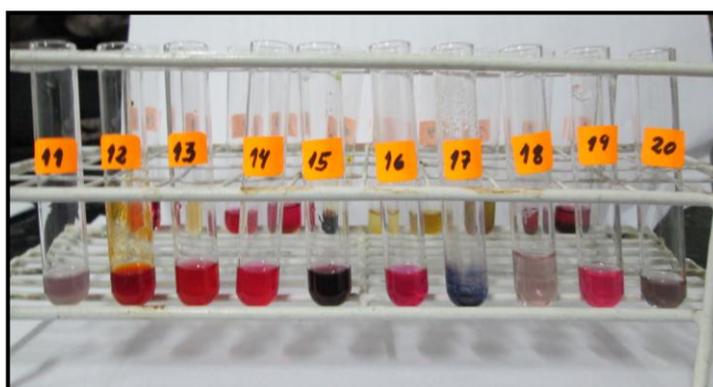
$$C = [(0.325 - 0.000)/25965] \times (15) \times 449.2 \times (1/2.55) \times (25/0.5)$$

$$C = 165,3697 \text{ mg de cianidina-3-glucósido/100 g de muestra}$$

FOTO N° 2: RESULTADO DE LA MARCHA FITOQUÍMICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “MASHUA NEGRA”



FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA



FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

- | | |
|-------------------------|-------------------------|
| 1. Molish | 11. Liebermann |
| 2. Antrona | 12. Ninhidrina |
| 3. Fehling | 13. Dragendorff |
| 4. Tricloruro de Hierro | 14. Mayer |
| 5. Gelatina – sal | 15. Bertrand |
| 6. Shinoda | 16. Sonnenschein |
| 7. Ácido sulfúrico | 17. Hidroxilamina |
| 8. Hidróxido de Sodio | 18. Agua |
| 9. Rosenheim | 19. Vainillin sulfúrico |
| 10. Borntranger | 20. Muestra control |

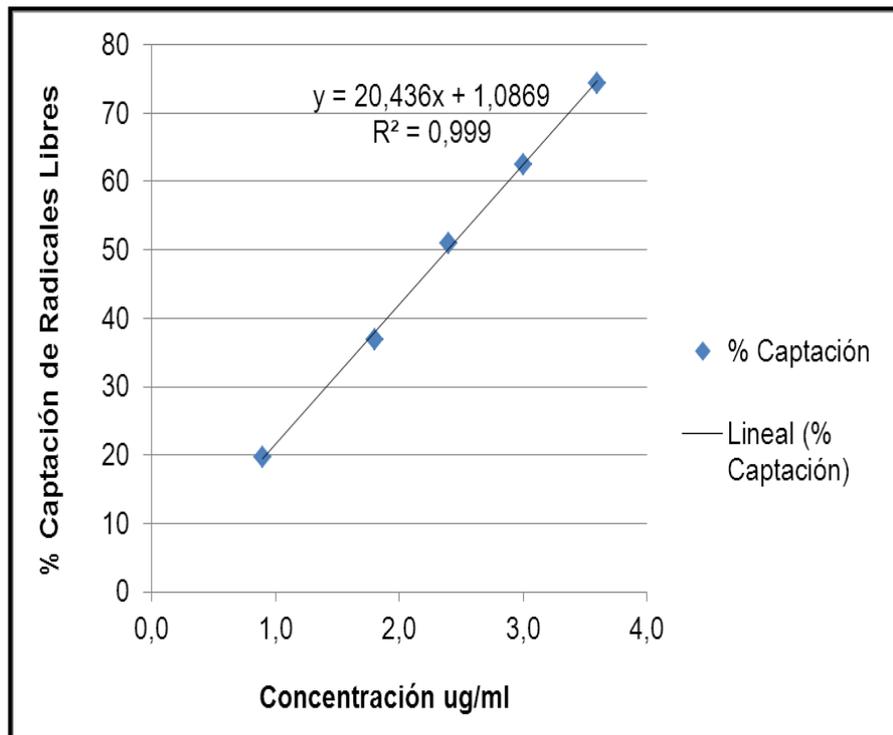
FOTO N° 3: RESULTADO DE CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS TOTALES DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “MASHUA NEGRA”.



FOTO N° 4: RESULTADO DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL *Tropaeolum tuberosum* R. & P. “MASHUA NEGRA”



GRÁFICO Nº 3: CURVA ESTÁNDAR DE TROLOX



FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

A partir de la ecuación de la curva se obtiene:

$$y = m x + b$$

$$x = (y - b)/m$$

$$IC_{50} = \frac{50 - b}{m}$$

$$IC_{50} = (50 - 0,0869) / 20,436$$

$$IC_{50} = 2,3934$$

$$IC_{50} = 2,3934 \mu\text{g/ml}$$