

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

TESIS:

"ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL GRANO DE Chenopodium quinoa Willd QUINUA NEGRA"

PARA OBTENER EL TITULO PROFESIONAL DE: QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR: NIEVES CORONEL Rayza Lizeth

ASESOR: Mg. DÍAZ URIBE Julio

LIMA – PERÚ

2016

DEDICATORIA

A Dios al forjador de mi camino, mis padres, abuelos, hermano, tíos y padrino por el apoyo incondicional que me dieron. haberme acompañado en varias etapas de mi vida ofreciéndome y buscando lo mejor para mi persona gracias.

AGRADECIMIENTOS

Ante todo agradezco a Dios, a mis abuelos a mi asesor Mg. Díaz Uribe Julio, la Dra. Berta Jurado de la Universidad Nacional Mayor de San marcos por el apoyo en la realización de mi tesis y así poder llegar hasta aquí en el cual me abrirá puertas hacia el futuro.

RESUMEN

En el Perú no se han realizado estudios del grano de quinua negra debido a la poca información actualizada que hay y esto conlleva a la poca demanda de este grano de quinua negra que es un alimento muy nutritivo porque contiene diversos nutrientes, posee un alto valor alimenticio es rico en proteínas, grasas, carbohidratos y vitaminas es una de los tesoros que nos dejaron nuestros antepasados incas. Al conocer la información actualizada se podrá realizar más investigaciones que aumenten el consumo del grano de quinua negra, que los agricultores aumenten su producción y así contribuir al desarrollo futuro de más productos con quinua negra.

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo general determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico del grano de *Chenopodium quinoa Willd* quinua negra. Se realizó el extracto etanólico de quinua negra al 20% y de ahí se hizo diferentes concentraciones, el método para realizar la actividad antioxidante fue el DPPH. Se evaluó esta actividad a diferentes concentraciones de 400 ug/ml, 300 ug/ml, 250 ug/ml, 225 ug/ml y 100 ug/ml. Los resultados de la actividad antioxidante fue a 400ug/ml tuvo 76.81 %, 300 ug/ml tuvo un 61.84 %, 225 ug/ml tuvo un 40.09 %, 200 ug/ml tuvo un 34.29 %, 100 ug/ml tuvo un 19.08 %.Lo que se puede ver es que a medida que aumenta la concentración aumenta la actividad antioxidante y también se calculó el IC50 el cual fue 262.70 ug/ml y la capacidad antioxidante expresado en trolox fue 9110.77 ug equivalentes trolox/g de extracto.

Palabras Clave: Quinua negra, actividad antioxidante, DPPH, composición fitoquímica.

ABSTRACT

In Peru has not been carried out studies of black quinoa grains because of the very few information updated that exists, everybody should know that black quinoa is very nutritious Has a high content in nutrients, fats, carbohydrates and vitamins; were ancient inhabitants of these lands who left us great treasures, one of them, black quinoa. The fact of knowing this information will allow us to carry out more studies, the consumption of this product could increase, it could encourage farmers to increase the production of it and in this way contribute to the future development of several kinds of products based in black quinoa.

The current research work had as main objective determine the antioxidant activity of the ethanolic extract of grain black quinoa . Ethanolic extract of black quinoa 20 % was performed and hence different concentrations were obtained , the method to determinate the antioxidant activity was the DPPH. This activity was assessed at different concentrations 400 ug/ml, 300 ug/ml, 250 ug/ml, 225 ug/ml and 100 ug/ml. The results of this antioxidant activity for 400 ug/ml was 76.81 % , for 300 ug/ml was 61.84 %, 225 ug/ml was 40.09 %, 200 ug/ml was 4.29 % , 100 ug/ml was 19.08 % .What we can find out is that as the concentration increases the antioxidant activity also ;finally the IC50 was 262.7 ug/ml and expressed in antioxidant capacity trolox it was 9110.77 ug equivalent trolox g extract.

Key words: Black Quinoa, antioxidant activity, DPPH, photochemical activity.

ÍNDICE

CARÁTULA	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xii
ÍNDICE DE FOTOS	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	15
1.3.1 Objetivo General	15
1.3.2 Objetivos Específicos	16
1.4 Hipótesis de la Investigación	16
1.4.1 Hipótesis General	16
1.4.2 Hipótesis Secundarias	16
1.5 Justificación e Importancia de la Investigación	17
1.5.1 Justificación	17
1.5.2 Importancia	17

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1	Antecedentes	18
	2.1.1 Antecedentes Nacionales	18
	2.2.2 Antecedentes Internacionales	19
2.2	Bases Teóricas	21
	2.2.1 La Quinua	21
	2.2.2 Clasificación taxonómica	22
	2.2.3 Descripción Botánica	22
	2.2.4 Composición nutricional de la quinua	23
	2.2.5 Tipos	24
	2.2.6 Beneficios de la quinua negra	25
	2.2.7 Propiedades medicinales de la quinua negra	26
	2.2.8 Antioxidante	26
	2.2.8.1 Clasificación de los antioxidantes	27
	2.2.9 El estrés oxidativo	30
	2.2.10 Beneficios de los antioxidantes	31
	2.2.11 Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)	32
	2.2.12 Concentración inhibitoria media (IC50)	32
	2,2.13 Capacidad antioxidante en equivalente trolox (TEAC)	33
2.3	Definición de Términos Básicos	33
CAP	ÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	
3.1	Tipo de Investigación	35
	3.1.1 Método	35

		35
	3.1.3 Diseño	36
3.2	Población y Muestreo de la Investigación	36
	3.2.1 Población	36
	3.2.2 Muestra	36
3.3	Variables e Indicadores	36
3.4	Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos	37
	3.4.1 Técnicas	37
	3.4.2 Instrumento	44
DEGI	II TADOS	
	JLTADOS	46
4.1 R	esultados	
4.1 R 4.2 A	esultadosnálisis e interpretación de resultados	53
4.1 R 4.2 A DISC	esultadosnálisis e interpretación de resultados	53 56
4.1 R 4.2 A DISC	esultadosnálisis e interpretación de resultados	53 56
4.1 R 4.2 A DISC	esultadosnálisis e interpretación de resultados	53 56
4.1 R 4.2 A DISC CON	esultadosnálisis e interpretación de resultados	53 5658

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°1: Clasificación taxonómica
Tabla N°2: Contenido nutricional cada 100g
Tabla N°3: Contenido de minerales cada 100g
Tabla N°4: Contenido de vitaminas cada 100 g
Tabla N°5: Variables36
Tabla N°6: Resultados de las características organolépticas del grano de Chenopodium quinoa Willd quinua negra
Tabla N°7: Características organolépticas del extracto etanólico del grano de Chenopodium quinoa Willd quinua negra
Tabla N°8: Características organolépticas del extracto etanólico seco de grano de Chenopodium quinoa Willd quinua negra
Tabla N°9: Prueba de solubilidad del extracto seco del grano de
Chenopodium quinoa Willd quinua negra48
Tabla N°10: Determinación de la composición fitoquímica del extracto etanólico del grano de <i>Chenopodium quinoa Willd</i> quinua negra49
Tabla N°11: Lecturas obtenidas para calcular el % de actividad antioxidante
del extracto etanólico del grano de <i>Chenopodium quinoa Willd</i> quinua negra
400 ug/ml, 300 ug/ml, 225 ug/ml, 200 ug/ml y 100 ug/ml50
Tabla N°12: Porcentaje de captación de radicales libres y IC50 del grano de
Chenopodium quinoa Willd quinua negra51
Tabla N°13: Capacidad antioxidante mediante la IC50 de los extractos51

Tabla N°14: Capacidad antioxidante en equivalentes trolox (TEAC) del	
extracto etanolico del grano de quinua negra	52

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Grafico N°1: Curva del porcentaje de captación de radicales libres v	'S
concentración del extracto etanólico del grano de Chenopodium quino	a
Willd quinua negra54	4
Grafico N°2: Porcentaje de captación de radicales libres vs concentración de extracto etanólico del grano de Chenopodium quinoa Willd quinu negra	a
Grafico N°3: Curva del porcentaje de captación de radicales libres de trolo	X
vs concentración5	5

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N°2: Clasificación taxonómica del grano de Chenopodi	ium quinoa
Willd quinua negra	63
Anexo N°1: Matriz de consistencia	64

ÍNDICE DE FOTOS

Foto N°1: Planta de <i>Chenopodium quinoa Willd</i> Quinua Negra6	5
Foto N°2: Grano de <i>Chenopodium quinoa Willd</i> Quinua Negra6	5
Foto N°3: Chenopodium quinoa Willd Quinua negra triturada6	6
Foto N°4: Extracto etanólico del grano de <i>Chenopodium quinoa Willd</i> quinu negra6	
Foto N°5: Filtrado del extracto etanólico del grano de <i>Chenopodium quino Willd</i> quinua negra	
Foto N°6: Baño María6	7
Foto N° 7: Extracto seco del grano de <i>Chenopodium quinoa Willd</i> quinu negra	
Foto N° 8: Pesado del extracto seco del grano de <i>Chenopodium quino Willd</i> quinua negra	
Foto N° 9: Prueba de solubilidad del extracto seco del grano de quinua negra	9
Foto N° 10: Marcha fitoquímica del grano de quinua negra I6	9
Foto N° 11: Marcha fitoquímica del grano de quinua negra II7	'0
Foto N° 12: Reactivo DPPH	0
Foto N° 13: Preparación del DPPH7	'1
Foto N°14: Elaboración de las concentraciones para el método DPPH7	'1
Foto N° 15: Agitador magnético(Vortex)	72
Foto N° 16: Espectrofotómetro Espectroquant Pharo 300 Merck	·2

INTRODUCCIÓN

El Perú es poseedor de una diversidad genética de quinua tanto silvestre como cultivada, siendo uno de los mayores productores y exportadores, y cuyo cultivo representa un potencial y oportunidad comercial que contribuirá a mejorar la calidad de vida de las poblaciones alto andinas.

El grano de quinua negra es originario de las orillas del Lago Titicaca en Puno, es una especie nueva contiene un alto contenido en fibra y mayor aporte de algunos aminoácidos.

Debido a los pocos estudios de investigación la quinua negra esta en extinción, a consecuencia de una falta de demanda en el mercado. La quinua negra debe ser considerada en la dieta diaria porque este producto aporta proteínas y ácidos grasos esenciales. Posee más aminoácidos que productos como el trigo, contiene lisina que estimula a las células cerebrales.

La importancia de la presente investigación quiere aumentar la poca información que hay del grano de quinua negra y al conocer más información actualizada habrá más estudios de investigación.

La presente investigación tiene como objetivo general determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico del grano de *Chenopodium quinoa Willd* quinua negra.

La determinación de la actividad antioxidante se realizará mediante el método de DPPH.

CAPITULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la Realidad Problemática

En el Perú no se han realizado estudios del grano de quinua negra debido a la poca información actualizada que hay y esto conlleva a la poca demanda de este grano de quinua negra que es un alimento muy nutritivo porque contiene diversos nutrientes, posee un alto valor alimenticio es rico en proteínas, grasas, carbohidratos y vitaminas es una de los tesoros que nos dejaron nuestros antepasados incas.

Según la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación) declaró que la quinua negra tiene el balance de proteínas y nutrientes, más cercano al ideal de alimento para el ser humano frente a cualquier otro¹³.

1.2 Formulación del Problema

¿El extracto etanólico del grano de *Chenopodium quinoa Willd* quinua negra presentará actividad antioxidante?

1.3 Objetivos de la Investigación

1.3.1 Objetivo General

Determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico del grano de *Chenopodium quinoa Willd* quinua negra Lima, junio a setiembre del 2016.

1.3.2 Objetivos Específicos

O.E.1: Evaluar la concentración inhibitoria media IC50 en el extracto etanólico del grano de *Chenopodium quinoa Willd* quinua negra.

O.E.2: Identificar la composición fitoquímica presente en el extracto etanólico del grano de *Chenopodium quinoa Willd* quinua negra.

1.4 Hipótesis de la Investigación

1.4.1 Hipótesis General

Se podrá determinar la actividad antioxidante en el extracto etanólico del grano de *Chenopodium quinoa Willd* quinua negra.

1.4.2 Hipótesis Secundarias

H.S.1: Se podrá evaluar la concentración inhibitoria media IC50 en el extracto etanólico del grano de *Chenopodium quinoa Willd* quinua negra.

H.S.2: Se podrá identificar la composición fitoquímica presente en el extracto etanolico del grano de *Chenopodium quinoa Willd* quinua negra.

1.5 Justificación e Importancia de la Investigación

1.5.1 Justificación

El presente trabajo de investigación quiere brindar información acerca de este grano de quinua negra cultivado en la zona andina de nuestro país; en el cual se realizará la composición fitoquimica de este pseudocereal, el cual es el estudio de sus componentes químicos y su actividad antioxidante. Los antioxidantes retrasan el proceso de envejecimiento combatiendo la degeneración y muerte de las células que provocan los radicales libres.

1.5.2 Importancia

Al tener la información actualizada se podrá realizar más investigaciones que promuevan el consumo del grano de quinua negra, y los agricultores aumenten su producción y así contribuir al desarrollo futuro de más productos con quinua negra. La cual es muy nutritivo para el ser humano, además de presentar un alto contenido de proteínas, tiene un balance ideal de aminoácidos y es quizás el alimento que más se parece a la leche materna, con propiedades similares a la leche de vaca, huevo, carnes y pescado; con muy alta digestibilidad, lo que significa que es un excelente sustituto de alimentos de origen animal.

CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

2.1.1 Antecedentes Nacionales

La investigación realizada por Repo R. y Encina C. (2008) DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS FENÓLICOS DE CEREALES **ANDINOS** QUINUA, KAÑIWA Y KIWICHA, hace referencia a la determinación de compuestos fenólicos de cereales andinos, siendo el de mayor contenido en ambos casos la muestra de kañiwa (Chenopodium pallidicaule) variedad cupi, siguiendo la de quinua (*Chenopodium quinoa*) ecotipo marrón y finalmente la kiwicha (Amaranthus caudatus) ecotipo negra. La quinua, kañiwua y kiwicha tienen una alta capacidad antioxidante al ser comparados con otros alimentos. Se realizó la determinación de la capacidad antioxidante medida por el radical DPPH en las quince muestras de quinua obteniendo valores de 2400,55 µg Trolox/g-117,49 μ g trolox/g¹.

La investigación realizada por Abderrahim F. Huanatico E. Segura R. Arribas S. Gonzalez C. Condezo V (2014)CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, COMPUESTOS FENÓLICOS, ANTIOXIDANTES TOTALES Y BETALAÍNAS DE LAS SEMILLAS DE QUINUA (CHENOPODIUM QUINOA WILLD) **DEL ALTIPLANO PERUANO** hace referencia a la quinua que es un pseudocereal emergente que ha llamado mucho la atención de los consumidores a la industria y a los científicos Dado su riqueza de diferentes nutrientes y la naturaleza libre de gluten.

El presente estudio en la composición fenólica del extracto hidrófilo de semillas de quinua sugiere que los compuestos fenólicos no sólo existían en libre, pero también en formas conjugada. Estos resultados también mostraron que la mayoría de los compuestos fenólicos extraíbles estaban en formas conjugadas. Betacianinas, principalmente betanina y isobetanina.

El contenido de fenoles totales y betacianinas dependían de color de la semilla de quinua las semillas de quinua más oscuros tenían una mayor concentración de compuestos fenólicos y actividad antioxidante².

1.2.2 Antecedentes Internacionales

La investigación realizada por Delgado I. y Betanzos G., Sumaya T. (2010) IMPORTANCIA DE LOS ANTIOXIDANTES DIETARIOS EN LA DISMINUCIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO hace referencia a los radicales libres, producidos normalmente durante el metabolismo aerobio se utilizan en diversos procesos fisiológicos como un mecanismo de defensa contra agentes infecciosos. Sin embargo, estas moléculas son altamente reactivas, capaces de dañar a las diversas biomoléculas de nuestras células. Los radicales libres también pueden originarse a partir contaminantes ambientales y del consumo de ciertos alimentos, lo que incrementa su concentración en las células, ocasionando un fenómeno conocido como estrés oxidativo, el cual está asociado con diversas enfermedades crónico degenerativas, que afectan tanto la calidad como la esperanza de vida de los pacientes. Por lo cual, un cambio en la dieta que incorpore alimentos con capacidad antioxidante, puede utilizarse como terapia para prevenir el daño oxidativo 3.

La investigación realizada por Yawadio R., Kikuzaki H. y Konishi Y. (2015) ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS VARIOS Y PORCIONES DE Chenopodium quinoa y Amaranthu spp. Se realizó un estudio del potencial antioxidante de extractos varios y porciones y fracciones de Chenopodium quinoa y Amaranthu fue evaluado usando tres métodos establecidos especialmente la actividad DPPH, FRAC, Y ensayos de blanqueamiento beta-caroteno. Los resultados satisfactorios fueron obtenidos los cuales condujeron a suponer que el uso de estas semillas como ingredientes favorecedores de la vida humana. La actividad antioxidante estuvo menos relacionada con los contenidos fenólicos sugiriendo que compuestos no fenólicos quizás poseen mayores radicales. La IC50 fue de 0.1 a 22.4 mg/ml⁴.

La investigación realizada por Vicentin S. Claus T. Maruyama S. Gohara A. Souza A. Souza N. Visentainer J. Gomes S. Matsushita M. (2013) **EVALUACION DE COMPUESTOS** NUTRICIONALES EN NUEVOS CULTIVOS DE AMARANTO Y QUINUA en este estudio evaluó la cuantificación de ácidos grasos, las composiciones de ácido próximas y aminoácidos, actividad antioxidante, los compuestos fenólicos totales, vitamina E, y los contenidos minerales Ellos mostraron niveles superiores de proteína y lípidos totales en comparación con sus homólogos nativos. La quinua presentó una mayor capacidad antioxidante y el contenido fenólico que el cultivar amaranto estudiado, pero más bajos contenido de tocoferoles. Todos los resultados obtenidos confirman que estos nuevos granos poseen una cantidad total de compuestos nutricionales que es mejor que los reportados para muchos homólogos nativos estudiados.

La quinua tuvo un IC 50 313.25 \pm 10.68 ug/ml y el amaranto tuvo un IC50 638.67 \pm 67.70 ug/ml⁵.

2.2 Bases Teóricas

2.2.1 La Quinua

La quinua es un pseudocereal perteneciente a la subfamilia Chenopodioideae de las amarantáceas, este se originó con los incas y ha ido a la vanguardia en las regiones de Perú y Bolivia durante 5000 años.

La quinua es una planta dicotiledónea, se cultiva principalmente, en la cordillera de los Andes. Los principales países productores son Perú y Bolivia, La quinua fue cultivada y utilizada por las civilizaciones prehispánicas la evidencia histórica disponible señala que su domesticación por los pueblos de América puede haber ocurrido entre los años 3.000 y 5.000 antes de Cristo.

Es un cultivo importante de la región andina, sus granos son reconocidos como alimento de alta calidad comparado con otros.

La quinua es un grano ancestral y diverso tiene su origen en el altiplano peruano y boliviano su cultivo es posible en zonas a nivel del mar y hasta los 4 mil metros de altura. Tanto los climas secos o lluviosos permiten que sus diferentes variedades más de 3mil según estudios realizados puedan desarrollarse en climas secos o lluviosos.

La quinua es una planta andina que se originó en los alrededores del lago Titicaca de Perú y Bolivia, ha ido adquiriendo diferentes adaptaciones y modificaciones de acuerdo al clima, suelos, precipitación pluvial, altitud y mejoramiento ⁹.

2.2.2 Clasificación taxonómica

TABLA N°1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Caryophyllidae
Orden	Caryophyllales
Familia	Chenopodiaceae
Genero	Chenopodium
Especie	Chenopodium quinoa
	Willd

FUENTE: Consultor Botánico Hamilton Beltrán.

2.2.3 Descripción Botánica

Es una planta anual herbácea de hasta 2 metros de altura. Se la denomina pseudocereal, porque botánicamente no pertenece a los cereales verdaderos como lo es el trigo, la cebada, maíz y arroz. Según la variedad puede tener diferentes colores que van desde el amarillo al anaranjado, rojo vivo, rojo oscuro y verde, presenta enorme variación y plasticidad para adaptarse a diferentes condiciones ambientales, muy tolerante a los factores climáticos adversos como son: sequía, heladas, salinidad de suelos y otros que afectan a las plantas cultivadas.

El tallo es delgado, tubular y puede tener o no ramas secundarias, las flores son pequeñas y carecen de pétalos y la raíz puede llegar a 30cm de profundidad, la profundidad guarda relación con la altura de la planta.

La quinua tiene un valor nutritivo con proteínas de alto valor biológico y excelente balance de aminoácidos ubicados en el endosperma o núcleo del grano.

El fruto tiene forma cilíndrico- lenticular, levemente ensanchado hacia el centro, en la zona ventral del aquenio se observa una cicatriz que es la inserción del fruto en el receptáculo floral, está constituido por el perigonio que envuelve a la semilla por completo y contiene una sola semilla⁸.

Las quinuas cultivadas tienen el borde afilado y las silvestres redondas.

El perigonio tiene un aspecto opaco de color ebúrneo, con estructura alveolar, con un estrato de células de forma poligonal-globosa y de paredes finas y lisas.

Este cultivo de quinua tiene elevada tolerancia a factores abióticos adversos y gran adaptación a diferentes condiciones, es uno de los recursos llamados a brindar los alimentos necesarios a la población en constante crecimiento⁷.

2.2.4 Composición nutricional de la quinua:

TABLA N°2: CONTENIDO NUTRICIONAL CADA 100 g.

Calorías	399 Kcal
Carbohidratos	69 g
Fibra	13,6-16.0 g
Grasa Total	6.3 g
Proteínas	16.5 g

FUENTE: Koziol M. Composition of quinoa.

TABLA N°3: CONTENIDO DE MINERALES CADA 100 g.

Elemento	Quinua
Calcio	148.7 mg
Fósforo	383.7 mg
Magnesio	249.6 mg
Potasio	926.7 mg
Hierro	13.2 mg
Manganeso	249.6 mg
Zinc	4.4 mg

FUENTE: Koziol M. Composition of quinoa.

TABLA N°4: CONTENIDO DE VITAMINAS CADA 100 g.

Vitaminas	Quinua
Tiamina	0.2-0.4 mg
Riboflavina	0.2-0.3 mg
Ácido fólico	0.0781 mg
Niaciana	0.5-0.7 mg

FUENTE: Koziol M. Composition of quinoa.

2.2.5 Tipos:

Quínua blanca: Es la más conocida y presente en el mercado.
 Es la de sabor más sutil, contiene menos calorías que las otras por lo que promueve la salud del sistema digestivo, controla los niveles de azúcar en la sangre y brinda sensación de saciedad.
 Es rica en proteínas, lo que ayuda a la quema de grasas y fortalece la musculatura y los tejidos.

- Quínua roja: Esta quínua tiene propiedades similares a la quínoa blanca; de pocas calorías, rica en proteínas y es altamente nutritiva. Es la que contiene menos grasas y es la más alta en carbohidratos.
- Quínua negra: Es una especie nueva. Su sabor es terroso y aunque sea cocinada es la que más conserva el característico chasquido de grano al ser consumida. Tiene las mismas características que los otros dos tipos de quínoa, sin embargo se destaca en ella la presencia de litio, lo que ayuda a regular el estrés y a disminuir la depresión. Además posee propiedades antiinflamatorias y cicatrizantes¹⁷.

2.2.6 Beneficios de la quinua negra

La quinua negra contiene litio que es un regulador de la depresión, esta variedad tiene la cualidad de tranquilizarte, contiene diversos aminoácidos, en los cuales la lisina que es fundamental para la salud y la energía, el Ca, P, Fe, y Mg para el sistema óseo, los Fitoestrógenos para la osteoporosis ⁹.

Los tres tipos de quínua son ideales para personas celíacas, ya que no contienen gluten, poseen muchas proteínas y grasas de las buenas como ácidos grasos omega 3 y 6. Tiene un bajo índice glicémico, ideal para personas con diabetes o quienes desean adelgazar. Controla los niveles de colesterol en la sangre y al ser alta en fibra es muy buena para la digestión (combate el estreñimiento). Posee muchas proteínas, lo que la hace un alimento indispensable para deportistas. Destacan en su contenido micronutrientes como potasio, magnesio, calcio, fósforo, hierro, zinc y vitaminas de los complejos B, A y E.

La quinua contiene saponinas, por sus características espumosas están siendo utilizadas en empresas farmacéuticas en enjuague bucal, detergente, champú, y pesticidas orgánicos y en Estados Unidos Y Alemania para la producción de medicamentos quimioterapéuticos para tratar el cáncer y para la elaboración de esteroides también se utiliza para la elaboración de ácidos oleanolicos que se emplean para problemas renales y del hígado.

2.2.7 Propiedades medicinales de la quinua negra

Tiene proteínas, grasas, carbohidratos y minerales, y otros aminoácidos como la lisina, isoleucina, treonina, triptofano y valina, cuyo balance aumenta la calidad de la proteína, de acuerdo a las investigaciones realizadas El grano de quinua tiene diversas formas de uso para combatir las afecciones hepáticas, las anginas y la cistitis.

Es un analgésico dental y tiene la cualidad de ser antiinflamatorio y cicatrizante. Puede que por ello se aplican emplastos de quinua negra, combinada con algunas otras plantas, para curar las fracturas de huesos.

2.2.8 Antioxidante

Un antioxidante es una molécula capaz 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.

Los antioxidantes terminan estas reacciones quitando intermedios del radical libre e inhiben otras reacciones de oxidación oxidándose ellos mismos.

Los radicales libres pueden iniciar procesos patológicos graves al ser humano como procesos reumáticos, renales, endocrinos, cardiopatías, cáncer y diabetes.

Las dietas ricas en antioxidantes parecen prevenir o al menos disminuir el deterioro funcional orgánico originado por un exceso de estrés oxidativo.

El principal mecanismo de los antioxidantes es la captación de los radicales libres.

2.2.8.1 Clasificación de los antioxidantes

Los antioxidantes se clasifican en dos amplios grupos, dependiendo de si son solubles en agua (hidrofílicos) o en lípidos (hidrofóbicos). En general los antioxidantes solubles en agua reaccionan con los oxidantes en el citoplasma celular y el plasma sanguíneo, mientras que los antioxidantes liposolubles protegen las membranas de la célula contra la peroxidación de lípidos.

a) Polifenoles

Los polifenoles son de bajo peso molecular, esenciales para el ser humano. Estos constituyen uno de los metabolitos secundarios de las plantas, más numerosos y distribuidos por toda la planta, con más de 800 estructuras conocidas en la actualidad.

Los polifenoles naturales pueden ir desde moléculas simples (ácido fenólico, hidroxitirosol, fenilpropanoides, flavonoides), hasta compuestos altamente polimerizados (ligninas, taninos).

Los compuestos fenólicos poseen una estructura química ideal para actuar como antioxidantes se caracterizan porque poseen en común un anillo aromático los flavonoides representan el subgrupo más común y ampliamente distribuido. Al estar ampliamente distribuidos en el reino vegetal, constituyen parte integral de la dieta.

-Taninos: Los taninos son sustancias polifenolicas, metabolitos secundarios, tienen un ligero olor característico, sabor amargo y astringente, y su color va desde el amarillo hasta el castaño oscuro. Se dividen en hidrolizables y condenados, la importancia de ellos en los vegetales es su capacidad para proteger las plantas contra las heridas que sufren y de ataque externos microorganismos.

Tienen la propiedad de precipitar ciertas macromoléculas esta capacidad es la base de sus dos propiedades principales su capacidad para curtir la piel y su poder astringente.

Entre sus propiedades farmacológicas destacan en la cicatrizantes, antisépticos, antidiarreico, antioxidante, antibacteriano, antídotos.

Expuestos al aire se tornan oscuros y pierden su eficacia para el curtido. Los taninos se utilizan en el curtido porque reaccionan con las proteínas de colágeno presentes en las pieles de los animales, uniéndolas entre sí, de esta forma aumenta la resistencia de la piel al calor, a la putrefacción por agua, y al ataque por microbios.

-Flavonoides

Conocidos algunas veces por antotaxinas estos son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo de los daños producidos por sustancias o elementos oxidantes como los rayos ultravioleta, la contaminación ambiental y de sustancias nocivas presentes en los alimentos.

Las diferentes especies que contienen flavonoides poseen acciones farmacológicas muy variadas anti arrítmicos, protectores de la pared vascular antiinflamatorios, antihepatotoxicos, diuréticos y antiespasmódicos.

-Alcaloides: Son sustancias orgánicas nitrogenadas con carácter básico de origen vegetal, se caracterizan por su estructura molecular compleja y son de naturaleza alcalina, tienen un sabor amargo.

Pueden ser utilizados como analgésicos, anestésicos empleados como pesticidas y insecticidas.

-Saponinas: Las saponinas son heterósidos es decir formados por azúcar y aglicón.

Se caracterizan por su propiedad de formar espuma, son metabolitos secundarios estos son solubles en agua. Algunas son toxicas llamadas sapotoxinas, pero otras no. Son utilizadas en la industria por su poder emulsionante, son conocidas por ser secuestradores de ácidos biliares es decir que reducen el colesterol las saponinas evitan la oxidación del colesterol en el colon con lo que ayuda a reducir el daño y el riesgo de cáncer, previene la degeneración del ADN y refuerzan al sistema inmune mediante la producción de anticuerpos.

2.2.9 El estrés oxidativo: Es un desequilibrio entre los espacios reactivos del oxígeno y la capacidad de un sistema biológico de codificar rápidamente o reparar el daño resultante.

El estrés oxidativo contribuye al desarrollo de una amplia gama de enfermedades incluyendo Cáncer, Alzheimer, Parkinson, Diabetes, Artritis reumatoide, enfermedades cardiovasculares, esclerosis, distrofia muscular, colitis ulcerosa, hepatitis, pancreatitis, enfermedades auto-inmunes.

2.2.10 Beneficios de los antioxidantes

El cerebro es único en cuanto a su gran vulnerabilidad a daños oxidativos. Los antioxidantes pueden actuar como estabilizadores o apagadores de las especies reactivas. La interacción de la especie reactiva prevendrá ya sea el inicio o la propagación de procesos oxidativos que afecten a los sustratos biológicos.

Cuando el estrés oxidativo afecta a sustratos biológicos el desequilibrio redox que caracteriza a dicho estrés se traduce en un daño oxidativo a diversas macromoléculas.

Los antioxidantes en los alimentos no solo contribuyen a las características organolépticas y a preservar la calidad nutricional.

La recomendación de aumentar la ingesta de alimentos ricos en antioxidantes naturales considera una de las formas más efectivas de reducir el riesgo de desarrollo de aquellas enfermedades.

Los antioxidantes pueden anular los efectos perjudiciales de los radicales libres en las células, y la gente con una dieta de frutas y vegetales ricos en polifenoles y antocianinas tienen un riesgo más bajo de contraer cáncer, enfermedades cardíacas y algunas enfermedades neurológicas. Esta observación sugirió que estos compuestos pudieran prevenir enfermedades tales como la degeneración macular, inmunidad suprimida causados por el estrés oxidativo.

Alimentos ricos en antioxidantes puede utilizarse como terapia para prevenir el daño oxidativo causado por los radicales libres. Pueden prevenir la aparición de enfermedades como el cáncer, hipertensión arterial, diabetes, enfermedades degenerativas y además fortalecen el sistema inmune.

2.2.11 Método de DPPH(2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

La actividad antioxidante se determinará utilizando el método de radical libre difenilpicrilhidrazilo (DPPH) este método se caracteriza porque el radical DPPH es estable debido a la deslocalización del electrón libre de modo que las moléculas no dimerizan.

Fundamento:

El 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) es un radical libre y acepta un electrón o un radical hidrogeno para convertirse en una molécula diamagnética estable. Se suele utilizar para comprobar la capacidad antirradical de moléculas lipofílicas en medios no acuosos. El método del DPPH (disuelto en metanol), evalúa la capacidad de la molécula problema para reducir el radical libre de alta absorbancia a 517 nm.

Cuando se mezcla el DPPH con una sustancia que puede donar uno o varios átomos de hidrogeno la concentración del radical DPPH disminuye mientras aparece la forma reducida provocando un cambio en el color de morado a amarillo y la absorbancia decrece.

La reacción puede ser resumida como:

$$DPPH^{\bullet} + (AH)_{n}^{\bullet} \rightarrow DPPH - H + (A^{\bullet})_{n}$$

El nuevo radical formado (A•) puede seguir principalmente interaccionando radical-radical para originar moléculas estables A-A o DPPH-A aunque estas reacciones están muy dificultadas (Jaleel, 2008).

2.2.12 Concentración inhibitoria media (IC50)

Es una medida de la eficacia de un compuesto para inhibir una actividad biológica, es una medida para inhibir en un 50% a los radicales libres.

Un menor valor de IC50 es mayor la actividad antioxidante.

2.2.13 Capacidad antioxidante en equivalente trolox (TEAC)

Mide la capacidad antioxidante de una sustancia dada, en comparación con el estándar, es una medida de la fuerza antioxidante basado en trolox, medido en unidades llamadas trolox equivalentes (TE).

2.3 Definición de Términos Básicos

- Extracto: Son preparados obtenidos por concentración parcial o total de los líquidos extractivos.
- Metabolismo primario: Se considera esencial para la vida y es común a todos los seres vivos del mundo.
- Metabolismo secundario: No se considera esencial para la vida y únicamente se produce en ciertos grupos vegetales.
- Pseudocereal: Son plantas de hoja ancha (no gramíneas), que son usadas de la misma manera que los cereales.
- Un antioxidante: Es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas.
- Radical libre: Es una especie química (orgánica o inorgánica), caracterizada por poseer uno o más electrones desapareados. Se forma en el intermedio de reacciones químicas.

- La kañihua: Es una especie similar en su composición a la quinua, una planta relacionada.
- Aminoácido: Molécula orgánica con un grupo amino y un grupo carboxilo.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Tipo de Investigación

- Aplicada: El presente trabajo aplicó los conocimientos aprendidos para realizar la actividad antioxidante.
- Transversal: El presente trabajo de investigación se realizó de junio a octubre del 2016.

3.1.1 Método

- Científico: El presente trabajo de investigación sigue los pasos que exige este.
- Descriptivo: La investigación describe la actividad antioxidante del extracto etanólico del grano de quinua negra.
- Inductivo: Porque se evaluó en una muestra de extracto etanólico de quinua negra su actividad antioxidante.
- Cuantitativo: Mediante la investigación se obtuvo la actividad antioxidante el cual se procesó estadísticamente usando el análisis de regresión lineal.
- Cualitativo: Porque se realizó la marcha fitoquímica en el extracto etanólico del grano de quinua negra.

3.1.2 Técnica

Se utilizó el método DPPH para realizar la actividad antioxidante y para realizar la determinación de su composición química se realizó una marcha fitoquímica.

3.1.3 Diseño

No experimental

De Campo: Porque se trabajó en el área de farmacognosia.

3.2 Población y Muestreo de la Investigación

3.2.1 Población: Grano de quinua negra que se obtuvo en el departamento de Arequipa.

3.2.2 Muestra: 200 g de quinua negra.

3.3 Variables e Indicadores

TABLA N°5: VARIABLES

VARIABLE	INDICADORES
VARIABLE INDEPENDIENTE.	Características organolépticas
	Concentración del extracto etanólico
Extracto etanólico del grano de Chenopodium quinoa Willd quinua	del grano de quinua negra ug/ml
negra.	Presencia (+) y Ausencia (-) de
	compuestos.
VARIABLE DEPENDIENTE. Actividad antioxidante del extracto	Valor de la absorbancia medida en el espectrofotómetro (%).
etanólico del grano de Chenopodium quinoa Willd quinua negra.	Inhibición de radicales libres

FUENTE: Elaboración propia.

3.4 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos:

3.4.1 Técnicas

- a) Material Vegetal: Se utilizó el grano de quinua negra que fue recolectado en Arequipa.
- b) Identificación de la muestra:
 El grano de quinua negra fue clasificado mediante el Sistema de Cronquist 1981.
- c) Preparación de la muestra:
 - Selección y limpieza: Se seleccionó los mejores granos para el estudio.
 - Secado: El secado fue en la sombra a temperatura ambiente.
 - Triturado.
 - Macerado en etanol: Consiste en poner en contacto el grano de quinua negra con etanol a temperatura ambiente por unos días manteniéndolo en agitación.
 Se maceró 200 g en 1000 ml de etanol manteniéndolo en constante agitación por 7 días en un frasco ámbar rotulado a temperatura ambiente.
 - Filtrado: Se filtró el extracto usando papel de filtro y se colocó en un frasco ámbar rotulado.
 - Concentrado: Se concentró el extracto mediante baño maría a 40°C eliminando el etanol y quedando el extracto seco. El extracto seco se colocó en un vial ámbar y se rotuló.

d) Prueba de solubilidad: Se disolvió 3 mg del extracto seco con
 1 ml de diferentes solventes para observar su solubilidad.
 Los disolventes que se usaron fueron: agua, metanol, etanol, cloroformo y acetato de etilo.

e) Composición fitoquímica:

Marcha fitoquímica:

Carbohidratos

0.5 ml de extracto + 5 gotas de Molish = anillo violeta.

Azucares reductores

0.5 ml de extracto + 5 gotas de Fehling A + 5 gotas de de Fehling B = coloración rojo ladrillo.

Aminoácidos

0.5 ml de extracto + 3 gotas de Ninhidrina= coloración violeta.

Compuestos fenólicos:

0.5 ml de extracto + 3 gotas de cloruro férrico = coloración azul taninos o verde flavonoides

Taninos

0.5 ml de extracto + 3 gotas del reactivo Gelatina=blanco lechoso.

Flavonoides

0.5 ml de extracto + 3 gotas del reactivo Shinoda = coloración amarillo a rojo

0.5 ml de extracto + 3 gotas del reactivo Rosenheim= coloración amarillo a rojo

Quinonas

0.5 ml de extracto + 3 gotas del reactivo Borntrager = coloración roja

Alcaloides

- 0.5 ml de extracto + 5 gotas de HCl 10 % + 3 gotas de reactivo Dragendorff = coloración pardo rojiza
- 0.5 ml de extracto + 5 gotas de HCl 10 % + 3 gotas del reactivo Mayer = coloración pp blanco
- 0.5 ml de extracto + 5 gotas de HCl 10 % + 3 gotas del reactivo Berthrand= coloración pardo rojiza

Saponinas

- 0.5 ml de extracto + 5 ml de agua destilada ml = Agitar y observar aparición de espuma.
- Triterpenoides y esteroides
 0.5 ml de extracto + 10 gotas del reactivo Lieberman=
 verde, azul o anaranjado.
- Grupo carbonilo
 0.5 ml de extracto + 3 gotas de reactivo Hidroxilamina
 =pp rojo.
- f) Actividad antioxidante: La actividad antioxidante se determinará utilizando el método de radical libre difenilpicrilhidrazilo (DPPH).

Procedimiento para hallar la actividad antioxidante del grano de quinua negra:

Solución DPPH: Se preparó una solución de DPPH 2mg en 100 ml de metanol y se forro la fiola con papel aluminio

Preparación de los extractos: Se preparó una solución de los extractos solubles en el solvente previa prueba de solubilidad. Se pesó 12 mg en 10ml (1200ug/ml) a partir de

este se prepararon diferentes soluciones de 400ug/ml, 300ug/ml, 225ug/ml, 200ug/ml y 100ug/ml.

El blanco muestra se preparó en un tubo de ensayo con 0.8ml de muestra (solución del extracto) y 1.6ml de metanol.

Luego se preparó el patrón de referencia en un tubo de ensayo se colocó 0.8ml de metanol y 1.6 ml de DPPH.

Se procedió a preparar la muestra con 0.8ml de solución de los extractos y 1.6 ml de la solución de DPPH cada tubo de ensayo se mezcló en el vortex se tapó con papel parafilm y se cubrió con papel aluminio se deja por 30 minutos en la oscuridad y se lee a 517nm en un espectrofotómetro.

Solución calibradora se agregó a un tubo de ensayo 2 ml metanol y 1ml de etanol que se utilizó para calibrar el espectrofotómetro.

- Solución calibradora.
- Los blancos DPPH.
- Los blancos muestra.
- Las muestras.

- Fórmula para calcular la actividad antioxidante:

$$\% = \left(1 - \left(\frac{A2 - A3}{A1}\right)\right) \times 100$$

A1: Absorbancia del DPPH.

A2: Absorbancia de la muestra problema.

A3: Absorbancia blanco de la muestra problema.

Luego de calcular el porcentaje de captación de radicales libres se procedió a determinar el coeficiente de inhibición mediante la ecuación Y = m x + b que se obtuvo de la curva de concentración vs % captación de radicales libres.

Y: Absorbancia

m: Pendiente de la ecuación de la recta

x: Concentración

b: Intercepto de la ecuación de la recta.

Fórmula para calcular el IC50:

$$IC50 = \frac{50-b}{m}$$

IC50: Es la concentración necesaria del extracto para capturar un 50% de radicales libres.

b: Intercepto de la regresión lineal.

m: Pendiente de la regresión lineal.

Luego se halló la capacidad antioxidante de equivalentes trolox (TEAC):

Fórmula para calcular el TEAC:

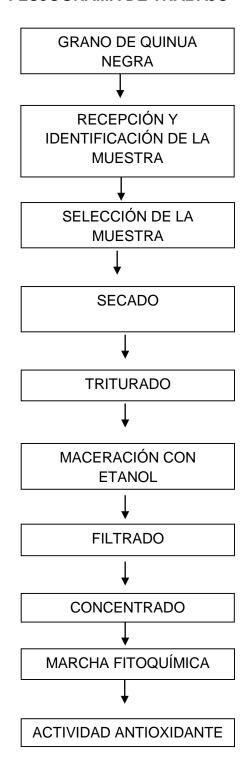
El IC 50 trolox ug/ml se halla de la ecuación de la recta de la curva del trolox de la concentración vs % captación de radicales libres utilizando la fórmula del IC50.

El ic 50 muestra ug/ml se halla de la ecuación de la recta de la curva de la muestra (quinua negra) de la concentración vs % captación de radicales libres.

$TEAc \frac{IC50roloxu/gnl}{ICmuestgdml}$

Una vez hallado el IC50 se reemplazó en la ecuación de la recta del grafico de la absorbancia vs concentración para hallar su absorbancia. Después la absorbancia del IC50 de la muestra se reemplazó en la ecuación de la recta del grafico de la absorbancia vs concentración del trolox para hallar la concentración.

FLUJOGRAMA DE TRABAJO



3.4.2 Instrumentos:

- Espectrofotómetro Espectroquant Pharo 300 Merck
- •Baño Maria
- Vortex

Materiales:

- Tubos de ensayo
- Tubos falcón
- Embudo
- Soporte
- Probeta
- Gradilla
- Baguetas
- Micropipetas
- Papel filtro
- Papel aluminio.

Reactivos:

- DPPH
- Metanol
- Etanol 90°
- Agua destilada
- Fehling A +B
- Antrona (0.2 g antrona en 100 ml de H2SO4 al 96%)
- Molish(& naftol al 5% en etanol)
- Gelatina 1%

- Ninhidrina (0.2 g de ninhidrina en 100 ml etanol)
- Lieberman (1ml de anhídrido acético, 1ml cloroformo y 1 gta de H2SO4)
- Rosengein (0.5 ml HCl y 0.4 ml alcohol amílico)
- Hidroxilamina
- Cloruro férrico (1.25g FeCL3 en 25 ml de H2O)
- Yodato potasico
- Reactivo Shinoda (Zn y 0.5 ml de HCl)
- Reactivo Borntrager (NaoH al 5%)
- Reactivo Wagner (1.27 g yodo 2 gts de yoduro potásico en 20 ml de agua).
- Reactivo Mayer (1.36 g cloruro mercúrico en 60ml de agua).
- Reactivo Dragendorff (8g nitrato de bismuto pentahidratado en 20ml de ácido acético).
- Reactivo Bertrand (5g ácido silicotungstico en 100 ml agua con HCL al 10%).

CAPITULO IV

PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 RESULTADOS

Se realizó el extracto etanólico del grano de quinua negra el cual fue de color amarillo-verdoso obteniéndose un volumen de 721 ml y en el concentrado se obtuvo 5.25 g de extracto seco.

Después se realizó la prueba de solubilidad en el extracto seco con diferentes disolventes.

Luego se realizó la marcha fitoquímica empleando diferentes reactivos para identificar su composición del extracto seco del grano de quinua negra.

TABLA N°6: RESULTADOS DE LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DEL GRANO DE *Chenopodium quinoa Willd* QUINUA NEGRA.

CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS	GRANO DE QUINUA NEGRA
Color:	Negro
Olor:	Característico
Aspecto:	Granulado

TABLA N°7: CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL GRANO DE *Chenopodium quinoa Willd* QUINUA NEGRA.

CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS	EXTRACTO ETANÓLICO DEL GRANO DE QUINUA NEGRA.
Color:	Amarillo-verdoso
Aspecto:	Liquido
Cantidad:	721 ml

TABLA N°8: CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DEL EXTRACTO ETANÓLICO SECO DEL GRANO DE *Chenopodium quinoa Willd* QUINUA NEGRA.

CARACTERÍSTICAS	EXTRACTO ETANÓLICO SECO
ORGANOLÉPTICAS	DEL GRANO DE QUINUA
	NEGRA.
Color:	Verde oscuro
Aspecto:	Solido(cristales-oleoso)
Peso de la muestra obtenida:	5.25 g

TABLA N°9: PRUEBA DE SOLUBILIDAD DEL EXTRACTO SECO DEL GRANO DE *Chenopodium quinoa Willd* QUINUA NEGRA.

SOLVENTES	SOLUBILIDAD		
Agua destilada	Insoluble		
Etanol	Soluble		
Metanol	Parcialmente soluble		
Acetato de etilo	Poco soluble		
Cloroformo	Soluble		

TABLA N°10: DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN FITOQUÍMICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL GRANO DE *Chenopodium quinoa Willd* QUINUA NEGRA.

El extracto etanólico del grano de quinua negra presentó abundante presencia de, compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides y compuestos glicosidos, presentó moderada presencia de azucares reductores, carbohidratos, taninos, compuestos esteroidales, aminoácidos y alcaloides, presentó leve presencia de, flavonoides catequicos, antraquinonas, compuestos del grupo carbonilo y saponinas.

DEACTIVOS	RESULTADO	INTERPRETACIÓN
REACTIVOS	RESULTADO	
Molish	++	Presencia de carbohidratos
Antrona	+++	Presencia de carbohidratos
Fehling	++	Presencia de azucares reductores
FeCl₃	+++	Presencia de compuestos fenólicos
Gelatina	++	Presencia de taninos
Shinoda	+++	Presencia de flavonoides
Rosenheim	+	Presencia de flavonoides catequicos
Borntrager	+	Presencia de antraquinonas
Lieberman-buchardat	++	Presencia de compuestos esteroidales
Ninhidrina	++	Presencia de aminoácidos y compuestos del grupo amino
Dragendorff	+++	Presencia de alcaloides
Mayer	++	Presencia de alcaloides
Bertrand	++	Presencia de alcaloides
Sonnenschein	+	Presencia de alcaloides
Hidroxilamina	+	Presencia del grupo carbonilo
Saponinas	+	Presencia de saponinas
Vainillinsulfurico	+++	Presencia de compuestos glicósidos

FUENTE: Elaboración propia. +=leve, ++=moderado y +++=abundante.

TABLA N°11: LECTURAS OBTENIDAS PARA CALCULAR EL % DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL GRANO DE *Chenopodium quinoa Willd* QUINUA NEGRA 400 ug/ml, 300 ug/ml, 225 ug/ml, 200 ug/ml y 100 ug/ml.

Las lecturas se realizaron por triplicado .Se obtuvo las absorbancias de las diferentes concentraciones del extracto etanolico del grano de quinua negra mediante el espectofotometro a 517nm las cuales fueron 400 ug/ml tuvo 76.81 %, 300 ug/ml tuvo un 61.83 %, 225 ug/ml tuvo un 40.09 %, 200 ug/ml tuvo un 34.29 %, 100 ug/ml tuvo un 19.08 %.

El blanco DPPH fue 0.414.

Concentracion	Absorbancia	Absorbancia de	Absorbancia	% de
es	de la	la muestra	del blanco	actividad
	muestra		muestra	antioxidante
400 ug/ml	0.104	0.097	0.001	76.81%
400 ug/iiii	0.088			
	0.100			
200 ug/ml	0.160	0.158	0.000	62.83%
300 ug/ml	0.161			
	0.155			
225 ug/ml	0.250	0.248	0.000	40.09%
225 ug/ml	0.248			
	0.247			
200/221	0.273	0.272	0.000	34.29%
200 ug/ml	0.270			
	0.275			
100 ug/ml	0.333	0.335	0.000	19.08%
100 ug/ml	0.340			
	0.331			

TABLA N°12: PORCENTAJE DE CAPTACIÓN DE RADICALES LIBRES Y IC50 DEL GRANO DE *Chenopodium quinoa Willd* QUINUA NEGRA.

Se obtuvo la IC50 de la ecuación de la recta de la gráfica del porcentaje vs concentración.

Concentración	% Actividad antioxidante	IC 50
400 ug/ml	76.81 %	262.70 ug/ml
300 ug/ml	62.83 %	0.26270 mg/ml
225 ug/ml	40.09 %	0.00026270 g/ml
200 ug/ml	34.29 %	
100 ug/ml	19.08%	

FUENTE: Elaboración propia.

TABLA N°13: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE MEDIANTE LA IC50 DE LOS EXTRACTOS.

IC 50	(ug/ml)
IC 50 Trolox	2.3934 ug/ml
IC 50 Quinua negra	262.70 ug/ml

TABLA N°14: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN EQUIVALENTES TROLOX (TEAC) DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL GRANO DE QUINUA NEGRA.

El TEAC se calculó hallando la absorbancia del IC50 mediante la ecuación de la recta de la gráfica de la absorbancia vs concentración.

Capacidad antioxidante en Equivalentes trolox (TEAC)

10379.279 ug trolox/gr de extracto

4.2 ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- En la Tabla N°10: El extracto etanólico del grano de quinua negra presentó abundante presencia de compuestos fenólicos los cuales puede deberse a ellos la actividad antioxidante.
- En la Tabla N°11: Se muestra las absorbancias medidas en el espectrofotómetro en diferentes concentraciones las cuales muestran que a 400 ug/ml tuvo 76.81 %, 300 ug/ml tuvo un 61.83 %, 225 ug/ml tuvo un 40.09 %, 200 ug/ml tuvo un 34.29 %, 100 ug/ml tuvo un 19.08 %.

Lo que se puede ver es que a medida que aumenta la concentración aumenta la actividad antioxidante esto quiere decir que la concentración del extracto etanólico del grano de quinua negra es directamente proporcional a la actividad antioxidante.

- En la Tabla N°12: El porcentaje de la actividad antioxidante en diferentes concentraciones del grano de quinua negra y el IC50 que fue 262.70 ug/ml este valor es una medida cuantitativa que muestra que cantidad se necesita para alcanzar el 50 % de actividad antioxidante.
- En la tabla N°13: La capacidad antioxidante mediante la IC50 (ug/ml) del grano de quinua negra y trolox donde se muestra que se necesita menos cantidad de trolox para llegar a la concentración inhibitoria media, presenta más alta actividad antioxidante que el extracto etanólico del grano de quinua negra debido a que a menor IC50 mayor actividad antioxidante.
- En la Tabla N°14: Se muestra la capacidad antioxidante del extracto etanólico del grano de quinua negra expresada en equivalentes trolox.

Análisis estadístico: Se realizó mediante una regresión lineal este es un método estadístico que permite relacionar la variable dependiente con la independiente en el grafico N°1 se puede observar que hay una buena tendencia lineal y un R²=0.982 esto significa que hay una asociación lineal positiva perfecta ya que el valor se acerca a 1.

Mediante la ecuación de la recta se halló el IC50.

GRAFICO N°1: CURVA DEL PORCENTAJE DE CAPTACIÓN DE RADICALES LIBRES VS CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL GRANO DE *Chenopodium quinoa Willd* QUINUA NEGRA.

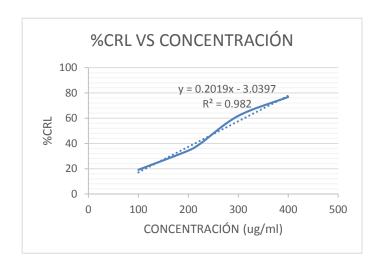
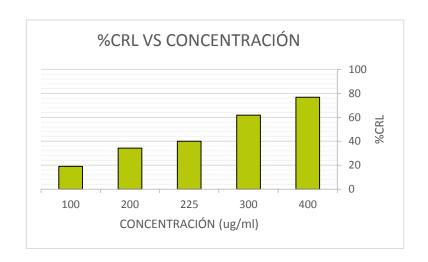
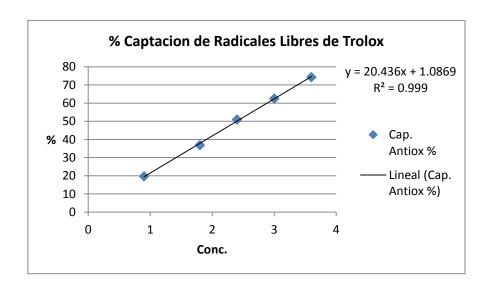


GRAFICO N°3: PORCENTAJE DE CAPTACIÓN DE RADICALES LIBRES VS CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL GRANO DE Chenopodium quinoa Willd QUINUA NEGRA.



FUENTE: Elaboración propia.

GRAFICO N°4: CURVA DEL PORCENTAJE DE CAPTACIÓN DE RADICALES LIBRES DE TROLOX VS CONCENTRACIÓN.



DISCUSIONES

- Según los resultados obtenidos de la composición fitoquímica del extracto etanolico del grano de quinua negra Tabla N°9 muestran que la actividad antioxidante se puede deber a los compuestos fenólicos ya que por bibliografía estos son los que dan la actividad antioxidante. Esto es respaldado por la investigación realizada por Abderrahim F. Huanatico E. Segura R. Arribas S. Gonzalez C. y Condezo L. (2014) CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, COMPUESTOS FENÓLICOS, ANTIOXIDANTES TOTALES Y BETALAÍNAS DE LAS SEMILLAS DE QUINUA (Chenopodium quinoa Willd) DEL ALTIPLANO PERUANO.
- El extracto etanolico del grano de quinua negra presento un valor de 10379.279 μg trolox/g. que se encuentra dentro de los valores encontrados en la investigación realizada por Repo R. y Encina C. (2008) **DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS FENÓLICOS DE CEREALES ANDINOS QUINUA, KAÑIWA Y KIWICHA** sus resultados de la quinua estuvieron entre 2400,55 μg Trolox/g-117,49 μg trolox/g.
- La máxima concentración inhibitoria media (IC 50) es una medida cuantitativa de la efectividad de una sustancia en la inhibición de una función biológica o bioquímica específica. Cuando se obtiene un valor menor de IC50 es mayor la actividad antioxidante.
- En la determinación de la actividad antioxidante del grano de quinua negra realizado por el método DPPH se observa un IC 50 de 262.70 ug/ml comparado con el trolox que es de 2.3934ug/ml esto da a entender que el trolox tiene mayor actividad antioxidante.
- En esta investigación se realizó el IC 50 del extracto etanólico del grano de quinua negra el cual fue 0.26270 mg/ml y es respaldado por el

- estudio de Yawadio R., Kikuzaki H. y Konishi Y. (2015) **ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS VARIOS Y PORCIONES DE** *Chenopodium quinoa y Amaranthu spp.* que encontraron un IC50 de 0.1 22.4 mg/ml.
- El IC 50 del extracto etanólico del grano de quinua negra fue 262.70ug/ml este resultado es menor por lo tanto presenta mejor actividad antioxidante que en el estudio de Vicentin S. Claus T. Maruyama S. Gohara A. Souza A. Souza N. Visentainer J. Gomes S. Matsushita M. (2013) EVALUACIÓN DE COMPUESTOS NUTRICIONALES EN NUEVOS CULTIVARES DE AMARANTO Y QUINUA que tuvo un IC50 de 313.25 ± 10.68ug/ml.

CONCLUSIONES

- Se determinó la actividad antioxidante del extracto etanólico del grano de *Chenopodium quinoa Willd* quinua negra. Los resultados muestran que a mayor concentración mayor actividad antioxidante.
- 2. Se evaluó la concentración inhibitoria media IC50 del extracto etanólico del grano de *Chenopodium quinoa Willd* quinua negra, la cual fue 262.70 ug/ml el cual es una medida que muestra que cantidad se necesita para alcanzar el 50 % de inhibición de radicales libres.
- 3. Se identificó la composición fitoquímica presente en el extracto etanólico del grano de *Chenopodium quinoa Willd* quinua negra, presentó abundante presencia de, compuestos fenólicos, flavonoides, quizá a ellos pueda deberse la actividad antioxidante.

RECOMENDACIONES

- Profundizar más el estudio de la actividad antioxidante del grano de quinua negra utilizando otros métodos y a diferentes concentraciones.
- Realizar comparaciones de la actividad antioxidante con otros tipos de quinua.
- Realizar un estudio de toxicidad debido a la presencia de alcaloides.

FUENTES DE INFORMACIÓN

- Repo R, Encina C. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de cereales andinos. Lima; 2008.
- Abderrahim F, Huanatico E, Segura R, Arribas S, Gonzalez C, Condezo L. Características físicas, compuestos fenólicos, antioxidantes totales y betalaínas de las semillas de quinua. Puno; 2014.
- Delgado L, y Betanzos G, Sumaya T. Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. Mexico; 2010.
- Yawadio R., Kikuzaki H. y Konishi Y. Actividad antioxidante de extractos varios y porciones de Chenopodium quinoa y Amaranthu spp.; 2015.
- Vicentin S. Claus T. Maruyama S. Gohara A. Souza A. Souza N. Visentainer J. Gomes S. Matsushita M. Evaluación de compuestos nutricionales en nuevos cultivares de amaranto y quinua;2013
- Koziol, M. Chemical composition and nutritional evaluation of quinoa (Chenopodium quinoa Willd.). Journal of Food Composition and Analysis;1992.
- 7. Mujica A, Izquierdo J y Marathee J. Quinua ancestral cultivo andino, alimento del presente y del futuro. Chile; 2001.

- 8. Tapia M, Gandarillas H, Segundo A, Cardozo A, Mujica A, Ortiz R, Otazu V, Rea J, Salas B, Zanabria E *et al* .Bogota. La quinua y la kañiwa: cultivos andinos. Bogota: Editorial Bib.Orton.1997;2(1):20-29.
- 9. Villanueva V. El camino de la quinua. 2a ed. Lima: Movimiento Manuela Ramos; 2007.p.8-10.
- 10. Kuklinski C .Farmacognosia, 1a ed. Barcelona: Ediciones Omega.2016;36(14-16):106-125.
- 11. Bruten J. Farmacognosia Fotoquímica Planta Medicinal. 2a ed. España: Acribia S.A; 2003.
- 12. Gomez Ortega C. Curso elemental de botánica. 1a ed. Barcelona. Madrid : Imprenta Real; 2005.
- 13. Beatriz Guardia S. La quinua: alimento de las culturas andinas.1a ed.Lima: USMP; 2013.
- 14. Olga Lock de Ugaz. Investigación Fitoquímica Métodos en el estudio de productos naturales. Lima: Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú;1994.
- 15. Gorriti A. Jurado B. Quispe F. Manual de laboratorio I y II. 1a ed. Lima: UNMSM Facultad de Farmacia y Bioquimica; 2004.
- 16. Deza J. Muñoz S. Metodología de la investigación científica. Lima. Ediciones UAP. 2008; 7(1-7):11-83.

- 17.FAO.La quinua: cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria mundial.[Sitio de internet].Disponible en: http://www.fao.org.Consultado 3 de julio del 2016.
- 18. Lamarca Angelica. Los colores de la quinua. [Sitio de internet]. Disponible en: http://www.revistamujer.cl/2015/01/18/01/contenido/los-colores de-la-quinua.shtml/.
 Consultado 05 de julio del 2016.
- 19.La quinua. [Sitio de internet].Disponible en: http://www.fao.org/quinoa-2013/what-is-quinoa/nutritional-value/es/. Consultado 08 de julio de 2016.

ANEXO Nº 01: MATRIZ DE CONSISTENCIA

Título del Proyecto de Tesis: ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL GRANO DE *Chenopodium quinoa willd* QUINUA NEGRA.

Presentado por: Nieves Coronel, Rayza Lizeth

Chenopodium quinoa willd quinua negra extracto etanólico del grano de chenopodium quinoa willd antioxidante? antioxidante en el extracto etanólico del grano de Chenopodium quinoa willd antioxidante? Investigación: X: Extracto etanólico del grano de Chenopodium quinoa willd quinoa willd quinoa willd quinua negra. Chenopodium quinoa willd quinua negra. Muestra: 200g	PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN	METODO Y DISEÑO DE INVESTIGACI ÓN	VARIABLES	POBLACIÓN Y MUESTRA
-O.E.2: Identificar la composición fitoquímica presente en el extracto etanólico del grano de Chenopodium quinoa willd quinua negra. Chenopodium quinoa millo quinua negra. Variable Dependiente (Y)	etanólico del grano de Chenopodium quinoa willd quinua negra presentará actividad	actividad antioxidante del extracto etanólico del grano de Chenopodium quinoa willd quinua negra Lima. Objetivos Específicos -O.E.1: Evaluar la concentración inhibitoria media IC50 en el extracto etanólico del grano de Chenopodium quinoa Willd quinua negra. -O.E.2: Identificar la composición fitoquímica presente en el extracto etanólico del grano de Chenopodium quinoa willd	determinar la actividad antioxidante en el extracto etanólico del grano de Chenopodium quinoa willd quinua negra. Hipótesis Específicas -H.S.1: Se podrá evaluar la concentración inhibitoria media IC50 en el extracto etanólico del grano de Chenopodium quinoa willd quinua negraH.S.2: Se podrá identificar la composición fitoquímica presente en el extracto etanólico del grano de Chenopodium quinoa willd quinua negraH.S.2: Se podrá identificar la composición fitoquímica presente en el extracto etanólico del grano de Chenopodium quinoa willd	Investigación: -Aplicada -Transversal Nivel de Investigación:	Investigación: -Científico -Inductivo -Cualitativo -Cuantitativo Diseño de Investigación: -No experimental:	Independiente (X) X: Extracto etanólico del grano de Chenopodium quinoa willd quinua negra. Indicadores: X1: Características organolépticas X2: Concentración del extracto etanólico del grano de quinua negra ug/ml. X3: Presencia (+) y Ausencia (-) de compuestos. Variable Dependiente (Y) Y1: Actividad antioxidante del extracto etanólico grano de Chenopodium quinoa willd quinua negra. Indicadores: Y1: Valor de la absorbancia medida en el espectrofotómetro (%).	Muestra: 200g de grano de quinua

ANEXO N°2: Clasificación taxonómica del grano de *Chenopodium quinoa Willd* quinua negra.

Consultor Botánico Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María hamiltonbeltran@yahoo.com

CERTIFICACION BOTANICA

El Biólogo colegiado y autorizado por el Inrena según RD. Nº 334-2013-MINAGRI-DGFFS/DGEFFS, con Registro Nº 37, certifica que la planta conocida como "QUINUA NEGRA", proporcionado por la Srta. NIEVES CORONEL, RAYZA LIZETH, ha sido estudiada científicamente y determinada como <u>Chenopodium</u> <u>quinoa</u> y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino:

Plantae

División:

Magnoliophyta

Clase:

Magnoliopsida

Subclase:

Caryophyllidae

Orden:

Caryophyllales

Familia:

Chenopodiaceae

Género:

Chenopodium

Especie:

Chenopodium quinoa Willd.

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

Lima, 10 Agosto 2016.

Blgo. Hamilton Beltrán

FOTO N°1: Planta de Chenopodium quinoa Willd Quinua Negra

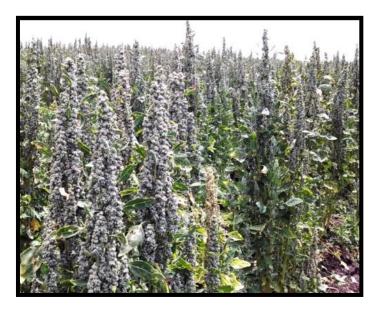


FOTO N°2: Grano de *Chenopodium quinoa Willd* Quinua Negra



FOTO N°3: Chenopodium quinoa Willd Quinua negra triturada



FOTO N°4: Extracto etanólico del grano de *Chenopodium quinoa Willd* quinua negra.

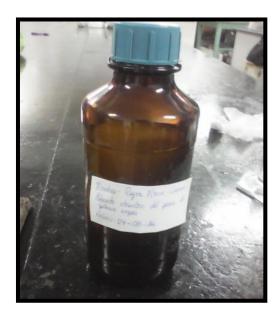


FOTO 5: Filtrado del extracto etanólico del grano de *Chenopodium* quinoa Willd quinua negra.





FOTO N°6: Baño Maria.



FOTO N° 7: Extracto seco del grano de *Chenopodium quinoa Willd* quinua negra.

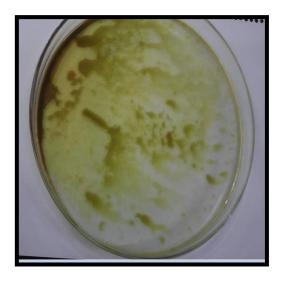


FOTO N° 8: Pesado del extracto seco del grano de *Chenopodium quinoa Willd* quinua negra.





FOTO N° 9: Prueba de solubilidad del extracto seco del grano de quinua negra.

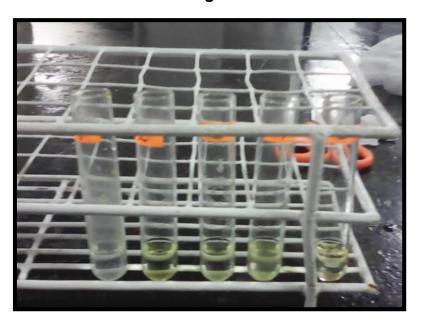


FOTO N° 10: Proceso de la marcha fitoquímica.



FOTO N° 11: Marcha fitoquímica del grano de quinua negra I.



FOTO N° 12: Marcha fitoquímica del grano de quinua negra II.

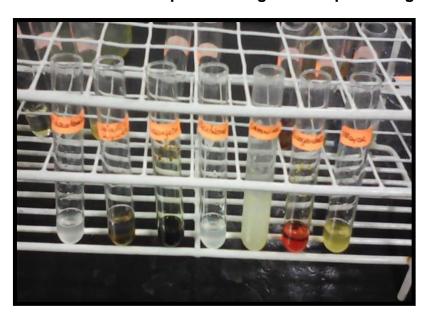


FOTO N° 13: Reactivo DPPH.

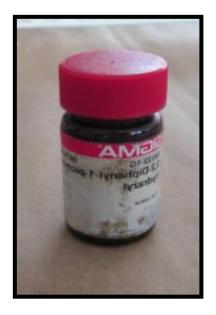


FOTO N° 14: Preparación del DPPH.

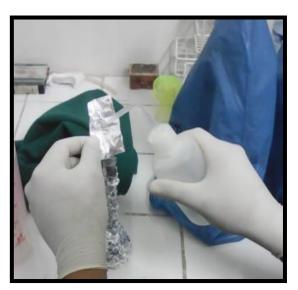


FOTO N°15: Elaboración de las concentraciones para el método DPPH.



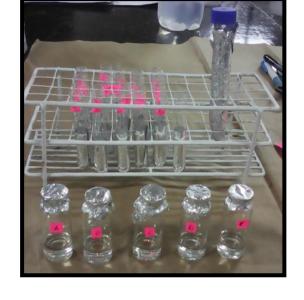


FOTO N° 16: Degradado producido por el DPPH



FOTO N° 17: Agitador magnético (Vortex) marcaScilogex mx-s.



FOTO N° 18: Espectrofotómetro Espectroquant Pharo 300 Merck

