



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

TESIS

**“ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE *Lepidium meyenii* Walpers MACA
NEGRA”**

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

BACHILLER: VEGA ROJAS, Cindy Ruth

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

LIMA – PERÚ

2016

DEDICATORIA

A DIOS, por ser mi sustento, el que me dio la fortaleza para que este sueño se hiciera realidad.

A mis padres Efraín y Luz por su gran apoyo y amor brindado en todo momento.

A mis hermanos por sus consejos y cariño que me brindan.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Alas Peruanas por la formación profesional y hacer de mi persona preparada para afrontar este mundo competitivo.

A mi asesor el Q.F. Julio Díaz Uribe, por su orientación y apoyo.

A la Dra. Bertha Jurado T, por sus conocimientos brindados.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación, tuvo como objetivo determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico de *Lepidium meyenii Walpers*, maca negra. Los hipocótilos de maca negra fueron recolectados en el distrito de Carhuamayo, provincia de Junín, departamento de Junín.

Para la determinación de la actividad antioxidante se realizó por el método DPPH (2,2-difenil -1-picrilhidrazil), en el que se utilizaron cinco concentraciones diferentes del extracto de la muestra a 800 ug/ml, 700ug/ml, 600 ug/ml, 400ug/ml, 200 ug/ml.

Se concluyó que el extracto etanólico de *Lepidium meyenii Walpers*, maca negra, por el método de DPPH (2,2-difenil -1-picrilhidrazil) presenta actividad antioxidante, mostrando que a mayor concentración del extracto, mayor es su actividad antioxidante y presentando una concentración inhibitoria (IC50) de 0,350 mg/ml, dicha actividad antioxidante probablemente se deba a la presencia de los compuestos fenólicos, flavonoides, catequinas, taninos que se identificó en el extracto etanólico de la maca negra mediante una marcha fitoquímica.

Palabras claves: Actividad antioxidante, marcha fitoquímica, extracto etanólico, maca negra, *Lepidium meyenii Walpers*.

ABSTRACT

This research work was to determine the antioxidant activity of ethanolic extract of *Lepidium meyenii* Walpers, "black maca". Black maca hypocotyls were collected carhuamayo district in the province of Junin, department of Junin.

For the determination of antioxidant activity was performed by the method DPPH (2,2-diphenyl-picrylhydrazyl -1), in which five different concentrations of the sample extract to 800 ug / ml, 700ug / ml were used, 600 ug / ml, 400ug / ml, 200 ug / ml. It was concluded that the ethanolic extract of *Lepidium meyenii* Walpers, black maca, by the method of DPPH (2,2-diphenyl-picrylhydrazyl -1) has antioxidant activity, showing that the higher the concentration of the extract, the greater its antioxidant activity and presenting a concentration inhibitory (IC₅₀) of 0.350 mg/ml, said antioxidant activity is probably due to the presence of phenolic compounds, flavonoids, catechins, tannins identified in the ethanolic extract of black maca by a phytochemical march.

Keywords: Antioxidant activity, phytochemical march, ethanol extract, black maca, *Lepidium meyenii* Walpers.

ÍNDICE

CARÁTULA	i
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT	v
ÍNDICE.....	vi
ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FOTOS.....	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
INTRODUCCIÓN	xiii
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	14
1.1 Descripción de la Realidad Problemática	14
1.2 Formulación del Problema	14
1.2.1 Problema General	14
1.2.2 Problemas Específicos	14
1.3 Objetivos de la Investigación.....	15
1.3.1 Objetivo General	15
1.3.2 Objetivos Específicos	15
1.4 Hipótesis de la Investigación.....	15
1.4.1 Hipótesis General	15
1.4.2 Hipótesis Secundarias	15
1.5 Justificación e Importancia de la Investigación.....	16

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	17
2.1 Antecedentes	17
2.1.1 A nivel Nacional	17
2.1.2 A nivel Internacional	18
2.2 Bases teóricas	19
2.2.1 Maca.....	19
2.2.2 Ubicación Geográfica.....	20
2.2.3 Clasificación Taxonómica.....	20
2.2.4 Descripción Botánica.....	21
2.2.5 Cultivo.....	21
2.2.6 Composición Química y Nutricional.....	22
2.2.7 Ecotipos de Maca en el Perú.....	25
2.2.8 Maca Negra.....	26
2.2.9 Radicales Libre.....	26
2.2.10 Estrés Oxidativo.....	27
2.2.11 Antioxidantes.....	27
2.2.12 Beneficios de los Antioxidantes.....	28
2.2.13 Compuestos Fenólicos.....	29
2.2.14 Métodos de determinación de la actividad antioxidante.....	30
2.2.15 Método de captación de radical DPPH.....	30
2.3 Definición de Términos Básicos.....	31

CAPÍTULO III: METODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN	32
3.1 Tipo de Investigación.....	32
3.1.1 Método de Investigación	32
3.1.2 Técnica de Investigación.....	32
3.1.3 Diseño de Investigación	33
3.2 Población y Muestreo de la Investigación	33
3.2.1 Población	33
3.2.2 Muestra	33
3.3 Variables e Indicadores	33
3.4 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos	34
3.4.1 Técnicas	34
3.4.2 Instrumentos	42
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN, ANALISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	44
4.1 Resultados	44
4.2 Análisis e Interpretación de resultados.....	52
DISCUSIÓN	53
CONCLUSIONES.....	55
RECOMENDACIONES	56
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
ANEXOS.....	60

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA Nº 1: Clasificación Taxonómica.....	20
TABLA Nº 2: Composición analítica de la maca en porcentaje.....	22
TABLA Nº 3: Vitaminas y minerales hallados en hipocótilos de maca.....	23
TABLA Nº 4: Contenido de aminoácidos en hipocótilos de maca.....	24
TABLA Nº 5: Lista de ecotipos de maca.....	25
TABLA Nº 6: Clasificación de los antioxidantes.....	28
TABLA Nº 7: Variables e indicadores.....	33
TABLA Nº 8: Características organolépticas del extracto etanólico seco de maca negra.....	44
TABLA Nº 9: Prueba de solubilidad del extracto etanólico de <i>Lepidium meyenii</i> Walpers, maca negra.....	45
TABLA Nº 10: Marcha fitoquímica del extracto etanolico de <i>Lepidium meyenii</i> Walpers, maca negra.....	46
TABLA Nº 11: Porcentaje de captación de radicales libres del extracto etanólico de <i>Lepidium meyenii</i> Walpers, maca negra.....	48
TABLA Nº 12: Concentración Inhibitoria (IC50) del extracto etanólico de <i>Lepidium meyenii</i> Walpers, maca negra.....	51
TABLA Nº 13: Capacidad antioxidante mediante la IC50 en (ug/ml) del extracto etanólico de <i>Lepidium meyenii</i> Walpers, maca negra y Trolox.....	51
TABLA Nº 14: Capacidad antioxidante del extracto etanólico de <i>Lepidium meyenii</i> Walpers, maca negra expresada en equivalente ug trolox/g.....	51

ÍNDICE DE FOTOS

FOTO Nº 1: Recolección del recurso vegetal.....	34
FOTO Nº 2: Hipocótilos de Maca Negra.....	34
FOTO Nº 3: Selección y limpieza de los hipocótilos de maca negra.....	35
FOTO Nº 4: Proceso de molienda.....	35
FOTO Nº 5: Muestra molida de maca negra.....	35
FOTO Nº 6: Proceso de maceración.....	36
FOTO Nº 7: Maceración etanólica de maca negra.....	36
FOTO Nº 8: Proceso de filtración.....	36
FOTO Nº 9: Filtrado del macerado etanólico.....	36
FOTO Nº 10: Extracto etanólico Seco.....	37
FOTO Nº 11: Prueba de solubilidad del extracto etanólico de <i>Lepidium meyenii</i> Walpers, “maca negra”.....	45
FOTO Nº 12, 13, 14: Marcha Fitoquímica del extracto etanólico de <i>Lepidium meyenii</i> Walpers “maca negra”.....	47
FOTO Nº 15: 2,2-difenil -1-picrilhidrazil (DPPH).....	64
FOTO Nº 16: Trolox Aldrich.....	64
FOTO Nº 17: Preparación de la solución de DPPH.....	64
FOTO Nº 18: Preparación de la solución madre del extracto.....	64
FOTO Nº 19; 20: Preparación de las concentraciones del extracto, patrón de referencia y blancos de muestra.....	65
FOTO Nº 21: Espectrofotómetro Spectroquant Pharo 300 Merck.....	65
FOTO Nº 22: Reacción del extracto etanólico de maca negra con el radical DPPH.....	65

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N° 1: Porcentaje de captación de radicales libres del extracto etanólico de maca negra.....	49
GRÁFICO N° 2: Curva de concentración vs porcentaje de captación de radicales libres.....	50
GRÁFICO N° 3: Curva estándar de Trolox.....	66

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N° 1: Matriz de consistencia.....	61
ANEXO N° 2: Flujograma de trabajo.....	62
ANEXO N° 3: Clasificación Taxonómica.....	63
ANEXO N° 4: Fotos del estudio antioxidante del extracto etanólico de maca negra.....	64
ANEXO N° 5: Curva estándar de Trolox.....	66

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, los compuestos antioxidantes, presentes en forma natural en plantas, están cobrando cada día mayor importancia. Esto debido al papel que desempeñan en la salud humana, previniendo y eliminando sustancias potencialmente nocivas y generadoras de desórdenes y enfermedades en el ser humano.

La maca negra es una planta herbácea, nativa de los Andes Peruanos, que se cultiva principalmente en las regiones Suni y Puna de los departamentos de Junín y Pasco, que es cultivada tanto por sus cualidades nutritivas como medicinales.

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico de *Lepidium meyenii* **Walpers**, maca negra. Para la determinación de la actividad antioxidante se realizó mediante el método DPPH (2,2-difenil -1-picrilhidrazil).

Este trabajo de investigación pretende contribuir al conocimiento químico y biológico, para tentar la posibilidad de que sea utilizado la maca negra de forma racional como alternativa terapéutica segura y con mínimos efectos adversos en el tratamiento de enfermedades provocadas por la presencia de radicales libres; así mismo contribuir con datos e información para futuras investigaciones.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la Realidad Problemática

En los últimos años se ha incrementado la contaminación ambiental por la emisión de contaminantes provenientes de fábricas, de pesticidas, de herbicidas, el humo del cigarro, el incremento de transporte público que eliminan gases tóxicos produciendo moléculas altamente nocivas para el ser humano denominado “radicales libres”, la acumulación excesiva de radicales libres en el organismo puede provocar daños en las células, originando degeneración de los tejidos, desatando así un estrés oxidativo en el organismo. ⁽¹⁾

El estrés oxidativo y sus efectos adversos en la salud humana ha llegado a ser un tema de alto interés en los campos biológico, medicinal, nutricional y así naciendo el interés en la búsqueda y obtención de antioxidantes como alternativas de origen natural, con mínimos efectos adversos.

1.2 Formulación del Problema

1.2.1 Problema General

¿El extracto etanólico de *Lepidium meyenii Walpers*, “maca negra” presentará actividad antioxidante?

1.2.2 Problemas Específicos

P.E.1 ¿Cuáles serán los metabolitos presentes en el extracto etanólico de *Lepidium meyenii Walpers*, “maca negra”?

P.E.2 ¿Cuál será la concentración inhibitoria (IC50) del extracto etanólico de *Lepidium meyenii Walpers*, “maca negra”?

1.3 Objetivos de la Investigación

1.3.1 Objetivo General

Determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico de ***Lepidium meyenii Walpers***, “maca negra”.

1.3.2 Objetivos Específicos

O.E.1 Identificar los metabolitos presentes en el extracto etanólico de ***Lepidium meyenii Walpers***, “maca negra”.

O.E.2 Evaluar la concentración inhibitoria (IC50) del extracto etanólico de ***Lepidium meyenii Walpers***, “maca negra”.

1.4 Hipótesis de la Investigación

1.4.1 Hipótesis General

El extracto etanólico de ***Lepidium meyenii Walpers***, “maca negra” posee actividad antioxidante.

1.4.2 Hipótesis Secundarias

H.E.1 El extracto etanólico de ***Lepidium meyenii Walpers***, “maca negra” presenta metabolitos con actividad antioxidante.

H.E.2 El extracto etanólico de ***Lepidium meyenii Walpers***, “maca negra” posee una concentración inhibitoria (IC50) frente al radical DPPH.

1.5 Justificación e importancia de la investigación

1.5.1 Justificación

En el organismo se acumulan diferentes sustancias provenientes ya sea del propio metabolismo o por la contaminación ambiental, estas sustancias pueden llegar a causar problemas a la salud de las personas. En los últimos años se determinó que muchas enfermedades pueden ser provocadas por radicales libres, sustancias que tienen la capacidad de causar oxidaciones en el organismo y desencadenar enfermedades graves. Debido a esto es indispensable investigar plantas naturales que presenten actividad antioxidante.

Este trabajo se enfocó en el estudio de ***Lepidium meyenii Walpers***, “maca negra” sobre su propiedad antioxidante, así como la comprobación de dicha propiedad y así logrando justificar su uso antioxidante como una medicina alternativa natural, fomentando su uso y consumo de maca negra y dar a conocer a la humanidad una base científica para futuras investigaciones.

1.5.2 Importancia

La importancia de este trabajo de investigación es dar a conocer la actividad antioxidante de ***Lepidium meyenii Walpers***, “maca negra”, y así proponiendo esta planta nativa de los Andes como alternativa de origen natural, para su aprovechamiento de tal manera que pueda orientarse a la población para un uso racional de este recurso vegetal y así sustituyendo a los antioxidantes sintéticos debido a sus efectos nocivos para el hombre y el medio ambiente.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

2.1.1 A Nivel Nacional

La investigación realizada por Palma E, Prado C, Loja B, Salazar A. (2012). **CARACTERÍSTICAS FITOQUÍMICAS DE MUESTRAS COMERCIALES DE MACA EN TRES REGIONES DE PERÚ.** Se estudiaron productos de harina de maca de ecotipo amarillo procedente de centros de expendio formal e informal de las provincias de Lima, Callao y Junín, Perú. La marcha fitoquímica se realizó según el método de colorimetría descrito por Lock, que catalogó cualitativamente la presencia del fitoquímico en “+++” (abundante), “++” (moderado), “+” (leve) y “-” (ausencia). Se indagaron los siguientes metabolitos: alcaloides, lactonas y cumarinas, triterpenos/esteroides, catequinas, azúcares reductores, saponinas, fenoles, taninos, aminoácidos libres, quinonas, flavonoides y antocianinas, por lo que se evidenció la presencia de todos los fitoquímicos indagados, con excepción de las saponinas. ⁽²⁾

La investigación realizada por Oré M. (2008). **EFFECTOS HIPOLIPÉMICO Y ANTIOXIDANTE DE *Lepidium meyenii* Walp EN RATAS.** Se realizaron pruebas para medir la capacidad antioxidante del extracto acuoso y etanólico tanto in vitro como in vivo. Para el estudio in vitro utilizaron el método (DPPH), donde se obtuvo como resultado que el IC 50 del extracto etanólico es de un aproximado de 10mg/ml y del extracto acuoso un IC50 aproximado de 0,8mg/ml por lo que se

concluye que el extracto acuoso de maca amarilla, mostro mayor actividad antioxidante in vitro que el etanólico probablemente por la presencia de fenoles y flavonoides. ⁽³⁾

La investigación realizada por Doroteo V, Díaz C, Terry C, Rojas R. (2013). **COMPUESTOS FENOLICOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE IN VITRO DE 6 PLANTAS PERUANAS** .Se determinó el contenido de ácido ascórbico, flavonoides y compuestos fenólicos totales; asimismo, se evaluó la actividad antioxidante de los extractos de *Uncaria tomentosa* (uña de gato), *Zea mays* (maíz morado), *smallanthus sonchifolius* (yacon), *Lepidium meyenii* (maca ecotipo amarillo), *Krameria triandra* (ratania) y *physallis peruviana* (aguaymanto). La actividad antioxidante *in vitro* de dichos extractos fue determinada por medio de los ensayos de inhibición de radicales DPPH, superóxido e hidroxilo; como también a través de la medición de su poder reductor y actividad antioxidante total. Los extractos con mayor actividad antioxidante fueron los de uña de gato y ratania, lo cual puede deberse a sus contenidos de, flavonoides y compuestos fenólicos. ⁽⁴⁾

2.1.2 A Nivel Internacional

La investigación realizada por Sandoval M, Okuhama N, Angeles F, Melchor V, Condezo L, Lao J, Miller J (2002). **LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA MACA VERDURA CRUCÍFERA (*Lepidium meyenii*)**. El propósito de este estudio fue evaluar la actividad antioxidante de Maca se evaluó mediante el método de (DPPH), resultados indican que la maca tiene la capacidad de eliminar los radicales libres y protegen las células contra el estrés oxidativo. ⁽⁵⁾

La investigación realizada por Zhaa S, Zhaoa Q, Chena J, Wang L, Zhanga G, Zhang H, Zhao B. (2014). **EXTRACCIÓN, PURIFICACIÓN Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS POLISACÁRIDOS DE LA MACA (LEPIDIUM MEYENII)**. Los polisacáridos fueron separados de la maca (*Lepidium meyenii*), los resultados mostraron que los polisacáridos de maca por el método de DPPH tenían una alta actividad antioxidante, captadora de radicales, y podría ser explorado como la fuente de compuestos bioactivos. ⁽⁶⁾

2.2 Bases Teóricas

2.2.1 Maca

El término maca es utilizado por el Dr. Javier Pulgar Vidal como proveniente de dos voces de la lengua chibcha: “MA” que tiene significado de origen: De la altura (que ha sido cultivado en la altura) y “CA” que significa:” comida que fortalece”. ⁽⁷⁾

La maca era utilizada como medio de cambio o trueque entre los moradores de las poblaciones vecinas y servía, al igual que otros alimentos importantes, de ofrenda a los dioses del mundo andino.

La maca ha tenido un gran significado en la vida del hombre andino, quien le da el reconocimiento de fecundante y fortalecedor y de ser considerada beneficiosa para la humanidad por sus importantes propiedades nutritivas y medicinales que actualmente se define con el término de Nutracéutico. ⁽⁸⁾

2.2.2 Ubicación Geográfica

Es la única especie andina que tiene un centro único de domesticación, diversificación y de producción, que es la sierra alta de la zona Central del Perú.

Se halla en altitudes extraordinarias: de 3800 a 4800 metros sobre el nivel del mar, se distribuye principalmente en las regiones de suni y Puna de los departamentos de Junín y Pasco, es capaz de soportar heladas, granizadas, nevadas y otros factores climatológicos que son negativos para muchos cultivos. ⁽⁹⁾

2.2.3 Clasificación Taxonómica

La clasificación taxonómica del recurso vegetal obtenida del distrito de Carhuamayo, Provincia Junín en el Departamento de Junín, fue realizada por el Biólogo Hamilton Beltrán y certifica de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, la siguiente clasificación:

TABLA N° 1: CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Dillenidae
Orden	Capparales
Familia	Brassicaceae
Genero	<u>Lepidium</u>
Especie	<u>Lepidium meyenii</u> Walpers

Fuente: Anexo N°03

2.2.4 Descripción Botánica

La Maca es una planta herbácea bienal. Presenta una raíz reservante (hipocótilos), de forma globosa redondeada, axomorfa. Con tamaño de 3-6 cm. de diámetro transversal y de 4-7 cm. Longitudinal.

Tallo: Corto y poco visible, del que nacen varias ramas secundarias.

Hojas: basales arrosetadas, pecioladas, peciolo aplanados de 2 – 3 cm de longitud, con margen escarioso, Limbo compuesto, tiene un largo de 6 a 9 cm.; las basales son pinnatífidas y las caulinares algo reducidas.

Inflorescencia: apical y axilar con espinas muy pequeñas en el pedúnculo.

Flores: son muy pequeñas, su tamaño promedio esta entre 1.5 y 2.0 milímetros. Sus pétalos son de color blanco de 0.7 milímetros en promedio y sus sépalos de color que varía entre el verde, violáceo y verde-violáceo, miden 1.2 milímetros en promedio. Las flores están reunidas en inflorescencia en panícula y el conjunto de estas formas la roseta de la fase reproductiva de la maca.

Fruto seco, tipo silícula, ligeramente emarginado en el ápice de 2.8 - 3.3 mm y 2.5 de ancho, con una sola semilla en cada celda, dehiscencia longitudinal siguiendo la dirección del tabique, el cual es membranoso. ^{(9), (10)}

2.2.5 Cultivo

Los terrenos cultivados con maca deben descansar por menos de 6 a 8 años, ya que existe una idea generalizada entre los campesinos de que es un agotador de la tierra, y tal como lo manifiestan los agricultores mediante estudios de suelos realizados se llegan a la conclusión de que la

maca es una planta que extrae fuertemente los nutrientes del suelo. ⁽¹⁰⁾

2.2.6 Composición Química y Nutricional

La maca contiene el derivado benzilato de 1,2 Dihidro - N-hidroxipiridina, llamada macaridina junto con el alcaloide benzilado macamida: N-Benzil-5-oxo-6 E, 8E-octadecadienamida y N-Benzilhexadecanamida. ⁽¹¹⁾

El perfil fitoquímico de la maca revela su contenido de esteroides, glucosinolatos, leucoantocianinas, saponinas, terpenoides y esteroides, alcaloides, isotiocianatos, ácidos grasos, flavonoides, antocianinas. ^{(12),(13)}

Los componentes varían, como cualquier derivado de una planta, de acuerdo a los suelos en los que fue cultivada la maca. Los siguientes datos aportan valores nutricionales aproximados. ⁽¹⁴⁾

TABLA Nº 2. COMPOSICIÓN ANALÍTICA DE LA MACA EN PORCENTAJE

Componentes	%
Agua	10.4
Proteínas	12.2
Lípidos	2.2
Carbohidratos hidrolizables	59.0
Fibra total	8.5
ceniza	4.9

Fuente: Obregòn Vilchez 1998

**TABLA 3. VITAMINAS Y MINERALES HALLADOS EN
HIPOCÓTILOS DE MACA. ⁽¹⁵⁾**

Minerales	mg/100g materia seca	Vitaminas	%
Fe	16.6	Caroteno (vitamina A)	0.07
Mn	0.8	Tiamina (Vitamina B)	0.15
Cu	5.9	Riboflavina (Vitamina B2)	0.31
Zn	3.8	Ácido Ascórbico	3.1
Na	18.7		
K	2,050.0		
Ca	150.0		

Fuente: Dini A, Migliuolo G, Rastelli L, Saturnino P, Schettino O.1994.

**TABLA N° 4. CONTENIDO DE AMINOÁCIDOS HALLADOS
EN HIPOCÓTILOS DE MACA. ⁽¹⁵⁾**

AMINOACIDOS	Concentración (mg)/proteína (g)
Aspartato	91.7
Glutamato	156.5
Serina	50.4
Histidina	21.9
Glicina	68.3
Treonina	33.1
Alanina	63.1
Arginina	99.4
Tirosina	30.6
Fenilalanina	55.3
Valina	79.3
Metionina	28.0
Isoleucina	47.4
Leucina	91.0
Lisina	54.5
OH prolina	26.0
Prolina	0.5
Sarcosina	0.7

Fuente: Dini A, Migliuolo G, Rastelli L, Saturnino P, Schettino O.1994.

2.2.7 Ecotipos de Maca en el Perú

Existen diferentes ecotipos de maca, que se definen por el color del hipocótilo. ⁽¹⁶⁾

TABLA Nº 5: LISTA DE ECOTIPOS DE MACA

Color del Hipocótilo	Porcentaje (%)
Amarillos	47.8
Rojo- Blancos	16.5
Morados- blancos	9.0
Blanco-rojo	6.3
Plomos	5.4
Negros	4.2
Rojo-amarillo	3.7
Blancos	2.2
Blanco-morados	1.6
Amarillos- rojos	1.3
Plomo claros	0.8
Morado-plomos	0.7
Amarillo-plomos	0.5

FUENTE: Juan Tello, Michael Hermann y Alberto Calderón. 1992

2.2.8 Maca Negra

La maca negra posee un efecto neuroprotector que puede revertir daños causados por enfermedades degenerativas como el Alzheimer y potenciar las funciones cognitivas como la memoria y la concentración. , se quedó comprobado que la maca negra alivia síntomas de enfermedades degenerativas que se presentan en alrededor del 15 % de las personas mayores de 75 años.

La Maca negra parece potenciar los efectos de la maca regular, especialmente en la resistencia física y sexual, la fertilidad masculina y femenina, el aprendizaje y de resistencia al estrés.

(12)

2.2.9 Radicales Libres

Los radicales libres son moléculas inestables porque contienen un electrón no apareado. Para poder convertirse en moléculas estables, los radicales libres buscan electrones de otras moléculas tales como el ADN, lípidos en las membranas celulares y en las proteínas de los tejidos corporales. Cuando estas moléculas son atacadas por los radicales libres, su estructura molecular se altera. Estas moléculas alteradas se convierten entonces en radicales libres que buscan, atacan y dañan moléculas aledañas, continuando así una reacción en cadena que crea radicales libres y causa daños moleculares. La excesiva producción de un organismo a radicales libres induce en éste alteraciones biológicas potencialmente conducentes a un daño celular, denominado "estrés oxidativo".⁽¹⁷⁾

2.2.10 Estrés Oxidativo

El estrés oxidativo ocurre cuando hay un desequilibrio en nuestras células debido a un aumento en los radicales libres y/o una disminución en los antioxidantes. Con el tiempo, este desajuste en el equilibrio entre los radicales libres y los antioxidantes puede dañar nuestros tejidos.

Enfermedades o procesos asociados al daño oxidativo en las moléculas biológicas:

- Envejecimiento: Peroxidación de los ácidos grasos de la membrana celular y daño del ADN.
- Aterosclerosis: Peroxidación de lípidos en las partículas de LDL con daño de otros componentes.
- Cáncer: Daño del ADN.
- Cataratas: Modificaciones irreversibles en las proteínas.
- Cuadros Inflamatorios Crónicos

2.2.11 Antioxidantes

Los antioxidantes son sustancias que detienen o previenen una cadena de propagación oxidativa, mediante la estabilización del radical generado (radical libre).⁽¹⁸⁾

- Clasificación de los Antioxidantes

Los antioxidantes se pueden clasificar como compuestos endógenos producidos por el organismo o compuestos exógenos suministrados con la ingesta de alimentos.

TABLA Nº 6: CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIOXIDANTES

EXOGENOS	ENDOGENOS	COFACTORES
Vitamina E	Glutación	Cobre
Vitamina C	Coenzima	Zinc
Beta-caroteno	Ácido tiotico	Manganeso
Compuestos fenólicos	Enzimas: Superoxido, dismutasa (SOD), Catalasa, Glutación peroxidasa.	Hierro
Licopeno		Selenio

FUENTE: Criado C., Moya M. (2009).

2.2.12 Beneficios de los Antioxidantes

Varios estudios científicos han demostrado que los antioxidantes reducen el riesgo de padecer:

- Cáncer
- Hipertensión arterial
- Enfermedades cardiovasculares
- Diabetes
- Retrasan el envejecimiento prematuro
- Enfermedades degenerativas
- Fortalecen el sistema inmunológico ⁽¹⁸⁾

2.2.13 Compuestos Fenólicos

Los compuestos fenólicos constituyen uno de los grupos de sustancias más numerosos y ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Ellos son productos del metabolismo secundario de las plantas, que son determinantes en la calidad sensorial y nutrición de las frutas, verduras y otras plantas. Se ha demostrado que los polifenoles dietéticos juegan un papel importante en la salud humana que previenen o retrasan una serie de muchas enfermedades crónicas, como el cáncer, enfermedades cardiovasculares, inflamación crónica y muchas enfermedades degenerativas. Muchas de las actividades biológicas de los compuestos fenólicos se atribuyen a su capacidad antioxidante. Los compuestos fenólicos presentan un anillo aromático que tiene uno o más grupos hidroxilos y su estructura puede variar desde la de una molécula fenólico simple (ácidos fenólicos) a la de un complejo de alto peso molecular como un polímero de masa tales como taninos condensados.

- Principales clases de compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos comprenden una amplia variedad de moléculas que tienen una estructura polifenol es decir, varios grupos hidroxilo en el anillo aromático, también moléculas con fenol en el anillo tales como ácidos fenólicos.

Los polifenoles se dividen en varias clases de acuerdo con el número de fenoles en el anillo y elementos estructurales que se unen al anillo entre sí. Los principales grupos de compuestos fenólicos son: flavonoides, isoflavonoides, antraquinonas, antocianidinas, antocianinas, catequinas, xantonas, ácidos fenólicos, fenilpropenos, taninos (hidrolizables y condensados), estilbenos y lignanos^{(19), (20)}

2.2.14 Métodos de determinación de la actividad antioxidante

Estos métodos deben ser rápidos, reproducibles y requerir cantidades pequeñas de los compuestos químicos por analizar. ⁽²¹⁾

Ejemplos de los modelos in vitro más frecuentemente usados para la evaluación de la actividad antioxidante.

- a) Método del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)
- b) Ensayo FRAP, (Del inglés ferric-reducing antioxidant power)
- c) Método ORAC, (Del inglés Oxygen Radical Absorbance Capacity)
- d) Método del 6-sulfonato-3-etilbenzotiazolina (ABTS)

2.2.15 Método de captación del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)

El método fue propuesto por Brand-Williams y se basa en la medición de la capacidad antioxidante estabilizar el radical DPPH⁺.

La molécula 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) es conocida como un radical libre estable debido a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula completa. La deslocalización del electrón también intensifica el color violeta intenso típico del radical, el cual absorbe en metanol a 517 nm. Cuando la solución de DPPH reacciona con el sustrato antioxidante que puede donar un átomo de hidrógeno, el color violeta cambia al color amarillo o transparente.

El cambio de color es monitoreado espectrofotométricamente y es utilizado para cuantificar la actividad antioxidante que poseen distintas sustancias. ^{(22), (23)}

2.3 Definición de Términos Básicos

Hipocótilo: es la parte comestible de la planta, tiene textura carnosa, forma globosa redondeada, napiforme y axonoforma.

Marcha fitoquímica: Son una serie de métodos para la detección preliminar de los diferentes constituyentes químicos de una planta, basados en la extracción de estos a través de solventes apropiados y en la aplicación de pruebas de coloración.

Extracto etanólico: es una sustancia obtenida por extracción de una parte de una materia prima, usando como solvente al etanol.

Antioxidante: es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas.

Estrés oxidativo: es causado por un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno y la capacidad de un sistema biológico de decodificar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante.

Método DPPH: es una de las diversas técnicas empleadas para estimar la actividad secuestradora de radicales de compuestos específicos o extractos naturales.

Nutracéutico: se refiere a productos que pueden proporcionar beneficios de salud más allá de su valor básico nutritivo.

Neuroprotector: hace referencia al efecto de cualquier sustancia o molécula química o biológica, con efectos protectores en el sistema nervioso que previenen, mitigan o retrasan los procesos neurodegenerativos propios de enfermedades como el Alzheimer o lesiones cerebrales.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Tipo de Investigación

Aplicada: ya que se usaron los conocimientos adquiridos en los años de estudio de la carrera de Farmacia y Bioquímica, con aproximación al tema de investigación.

Transversal: este trabajo de investigación se llevó a cabo en un periodo de junio a octubre del 2016.

3.1.1 Método

Científico: La investigación cumplió todas las exigencias que requiere dicho método ya que está sujeto a problema de investigación, objetivos, hipótesis, variables.

Inductivo: Se evaluó una muestra del recurso vegetal “maca negra”, para la identificación de sus metabolitos y la determinación de su actividad antioxidante.

Cualitativo: Se realizó mediante el ensayo de la prueba de solubilidad y la marcha fitoquímica.

Cuantitativo: Se cuantificó el porcentaje de actividad antioxidante mediante la espectrofotometría UV- Visible.

3.1.2 Técnica

- Extracción etanólica
- Marcha Fitoquímica
- Método DPPH (2,2-difenil -1-picrilhidrazil)

3.1.3 Diseño

No experimental, ya que el estudio de esta investigación se basó en métodos ya validados.

3.2 Población y Muestreo de la Investigación

3.2.1 Población

Hipocótilos de *Lepidium meyenii Walpers*, “maca” ecotipo negro procedente del distrito de Carhuamayo a 4500 m.s.n.m, provincia de Junín, departamento de Junín.

3.2.2 Muestra

1200 g de hipocótilos de *Lepidium meyenii Walpers*, “maca” ecotipo negro.

3.3 Variables e Indicadores

TABLA N° 7: VARIABLES E INDICADORES

VARIABLES	INDICADORES
Variable Independiente (X) Extracto etanólico de <i>Lepidium meyenii walpers</i> , “maca negra”.	Metabolitos Presencia(+) Ausencia (-)
Variable Dependiente (Y) Actividad antioxidante del extracto etanólico de <i>Lepidium meyenii walpers</i> , “maca negra”	% de captación de radicales libres

FUENTE: Elaboración propia

3.4 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos:

3.4.1 Técnicas

Este trabajo de investigación se efectuó en el laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

a) Recolección

Los hipocótilos de maca negra fueron recolectados en el distrito de Carhuamayo, provincia de Junín, departamento de Junín. (Foto N°1 y Foto N°2)

FOTO N° 1: RECOLECCIÓN DEL RECURSO VEGETAL



FUENTE: Elaboración propia

FOTO N° 2: HIPOCÓTILOS DE MACA NEGRA



FUENTE: Elaboración propia

b) Identificación taxonómica de la muestra

La identificación taxonomica del recurso vegetal se realizó de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, y fue realizada por el biólogo Hamilton Beltrán. (Anexo N°3)

c) Acondicionamiento de la muestra

Se seleccionó los hipocótilos de maca negra de buen estado, sin daño físico aparentes luego se procedió a limpiarlos sacándole las raicillas. (Foto N° 3)

FOTO N° 3: SELECCIÓN Y LIMPIEZA DE LOS HIPOCÓTILOS DE MACA NEGRA



FUENTE: Elaboración propia

Luego fueron cortados en trozos muy pequeños y fue llevada a estufa a una temperatura de 40°C, para su secado; y luego se procedió a la molienda, la muestra molida se conservó en sobres de papel kraff hasta la preparación del extracto.

(Fotos N° 4 y N° 5)

FOTO N° 4: PROCESO DE MOLIENDA



FUENTE: Elaboración propia

FOTO N° 5: MUESTRA MOLIDA DE MACA NEGRA



FUENTE: Elaboración propia

d) Preparación del extracto etanólico

En un envase de vidrio color ámbar, se colocó 200 g de la muestra molida de maca negra; luego se añadió 1000ml de etanol al 96%; se agitó diariamente por 7 días, el cual fue el tiempo de maceración. (Fotos N° 6 y N°7)

FOTO N° 6: PROCESO DE MACERACIÓN



FUENTE: Elaboración propia

FOTO N° 7: MACERACIÓN ETANÓLICA DE MACA NEGRA



FUENTE: Elaboración propia

Luego de este tiempo se, pasó a filtrar; el líquido obtenido fue colocado en placas Petri grande para su concentración en estufa a 40°C por 3 días, para obtener al final un extracto seco, y se guardó en un frasco de vidrio de color ámbar en refrigeración a 4°C hasta su uso, el peso obtenido del extracto seco fue 46,5 g. (Fotos N° 8, N° 9 y N° 10)

FOTO N° 8: PROCESO DE FILTRACIÓN



FUENTE: Elaboración propia

FOTO N° 9: FILTRADO DEL MACERADO ETANÓLICO



FUENTE: Elaboración propia

FOTO N° 10:
EXTRACTO ETANÓLICO SECO



FUENTE: Elaboración propia

e) Ensayo organoléptico

Se realizó la caracterización organoléptica del extracto etanólico seco.

f) Prueba de solubilidad

Se usarón 5 tubos de ensayo donde se colocaron 3 mg del extracto etanólico seco de maca negra y se agregó, a cada uno, 1ml de solvente, cloroformo, etanol, metanol, agua destilada y acetato de etilo Se agitó y se observaron los resultados.

g) Marcha fitoquímica

Se realizó la aplicación de pruebas de coloración y precipitación descrito por Lock de Ugaz, para determinar si existe presencia o ausencia de metabolitos más importantes, mediante la marcha fitoquímica preliminar.

- Prueba de Molish: 0.5 ml de M.P. + 5 gotas de reactivo Molish + ácido sulfúrico en zona, reacción positiva: anillo violeta, presencia de carbohidratos.
- Prueba de Antrona: 0.5 ml de M.P. + 5 gotas de reactivo antrona, reacción positiva: anillo verde azulado en la interface, presencia de carbohidratos.
- Prueba de Fehling: 0.5 ml de M.P. + 5 gotas de reactivo Fehling "A" + 5 gotas de Fehling "B" y colocarlo en baño maria por 10 minutos, reacción positiva: precipitado rojo ladrillo, presencia de azúcares reductores.
- Prueba de Ninhidrina: 0.5 ml de M.P. + 3 gotas de reactivo Ninhidrina, reacción positiva: coloración violeta azulada, presencia de aminoácidos.
- Prueba de Vainillin-sulfúrico: 0.5 ml de M.P. + 5 gotas de reactivo Vainillin-sulfúrico, reacción positiva: anillo rojo pardo en la interface, presencia de glicósidos.
- Prueba de Rosenheim: 0.5 ml de M.P. + 3 gotas de reactivo de Rosenheim, reacción positiva: rojo pardo, presencia de flavonoides, catequinas y antocianinas.
- Prueba de Hidroxilamina: 0.5 ml de M.P. + 3 gotas de reactivo Hidroxilamina, reacción positiva: precipitado rojiza.
- Prueba de Dragendorff: 0.5 ml de M.P. + 3 gotas de reactivo de Dragendorff, reacción positiva: precipitado naranja, presencia de alcaloides.
- Prueba de Mayer: 0.5 ml de M.P. + 3 gotas de reactivo de Mayer, reacción positiva: precipitado blanco, presencia de alcaloides.
- Prueba de Bertrand: 0.5 ml de M.P. + 3 gotas de reactivo de Bertrand, reacción positiva: precipitado blanco lechoso, presencia de alcaloides.

- Prueba de Sonnenschein: 0.5 ml de M.P. + 3 gotas de reactivo de Sonnenschein, reacción positiva: precipitado verde azulado, presencia de alcaloides.
- Prueba de Tricloruro de Hierro: 0.5 ml de M.P. + 3 gotas de reactivo FeCl, reacción positiva: coloración verde es predominio de compuestos fenólicos.
- Prueba de Shinoda: 0.5 ml de M.P. + Mg metálico + 3 gotas HCl concentrado, reacción positiva: coloración roja a salmón, presencia de flavonoles, flavonas, flavanonoles y flavanonas; coloración amarilla indica presencia de isoflavonas; isoflavononas.
- Prueba de Lieberman- Burchardat: 0.5 ml de M.P.+ reactivo de Lieberman- Burchardat (1ml cloroformo + anhídrido acético), reacción positiva: coloración verde o azulada es predominio de esteroides; coloración pardo amarillo – naranja es predominio de triterpenoides.
- Prueba de Borntrager: 0.5 ml de M.P. + 3 gotas de reactivo de Borntrager, reacción positiva: coloración rojiza, presencia de quinonas.
- Prueba de Gelatina: 0.5 ml de M.P. + 3 gotas de reactivo gelatina, reacción positiva: precipitado blanco lechoso, presencia de taninos.
- Prueba de Espuma: 0.5 ml 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, presencia de saponinas

h) Actividad antioxidante

El método fue propuesto por Brand-Williams, se preparó una solución del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) 2mg en 100 ml de metanol en una fiola, se cubrió

con papel aluminio para evitar su rápida degradación. Luego se preparó una solución del extracto etanólico seco de maca negra, a una concentración inicial de 2400 ug/ml, a partir de ésta solución madre, se prepararon diferentes diluciones dando concentraciones finales de 800, 700, 600, 400, 200 ug/ml.

A cada concentración se le adiciono 1,6 ml de la solución de DPPH. Las muestras fueron medidas por triplicado.

Luego se prepara el patrón de referencia en un tubo de ensayo 0,8ml de metanol con 1,6 ml de DPPH; el blanco de muestra se prepara con 0.8ml (solución del extracto) y 1,6 ml de metanol; se taparon todos los tubos con parafilm; se agitaron y se dejaron reposar por 30 minutos en la oscuridad. Se leyeron en el espectrofotómetro a 517 nm. Como estándar se utilizó, el ácido 6-hidroxi-2,5,7,8 tetrametil-cromán-2-carboxílico (Trolox) análogo sintético hidrosoluble de la vitamina E, se utilizó este estándar para determinar los equivalentes ug Trolox/ g de extracto etanólico de maca negra.

Posteriormente, con los valores de las absorbancias obtenidas se determinó el % captación de radicales libres (DPPH) mediante la siguiente fórmula.

Fórmula para calcular la actividad antioxidante:

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

% captación de Radicales libres

A1: Absorbancia del patrón de referencia

A2: Absorbancia de la muestra

A3: Absorbancia del blanco de muestra

- **Concentración inhibitoria (IC50)**

Luego de calcular los porcentajes de captación de radicales libres se procedió a determinar la concentración inhibitoria (IC50) mediante la ecuación $Y=mx+b$, que se obtuvo de la curva de concentración vs % captación de radicales libres.

Utilizando el intercepto y la pendiente de la línea de regresión lineal se calculó el valor IC50, aplicando la siguiente fórmula:

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

Donde:

IC50: Concentración necesaria del extracto para capturar un 50% de radicales libres DPPH.

b: Intercepto de la línea de regresión lineal.

m : Pendiente de la línea de regresión lineal.

3.4.2 Instrumentos

Equipos

- Espectrofotómetro Spectroquant Pharo 300 Merck
- Baño maría
- Balanza marca Digital precisión®
- Balanza Analítica Ohaus®
- Estufa
- Molino metálico de mano
- Micropipetas
- Vortex Scilogex mx-s®

Reactivos

- 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) SIGMA.
- Etanol
- Metanol
- Cloroformo
- Fehling A y B
- Ácido sulfúrico
- Acetato de etilo
- Anhídrido acético
- Tricloruro de hierro
- Magnesio metálico
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Gelatina
- Reactivo de Molish
- Reactivo de Dragendorff

- Reactivo de Ninhidrina
- Reactivo de Hidroxilamina
- Reactivo de Bertrand
- Reactivo de Sonnenschein
- Reactivo de Borntranger
- Reactivo de Lieberman-buchard
- Reactivo de Rosenheim
- Reactivo de Vainillin-sulfúrico
- Ácido clorhídrico concentrado
- Trolox ALDRICH

Materiales

- Tubos de ensayo
- Probeta
- Gradilla
- Embudo
- Soporte universal
- Aro metálico
- Papel filtro
- Papel parafilm
- Papel aluminio
- Puntas de micropipetas
- Viales de vidrio
- Tubo falcón
- Placas Petri grande

CAPÍTULO IV

PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 Resultados

El extracto etanólico seco de *Lepidium meyenii* Walpers, “maca negra”, presentó las siguientes características organolépticas.(Ver Tabla N°8)

TABLA N° 8: CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DEL EXTRACTO ETANÓLICO SECO DE *Lepidium meyenii* Walpers, “MACA NEGRA”

CARACTERÍSTICA	RESULTADO
Aspecto	Solido
Color	Marrón caramelo
Olor	Característico
Sabor	Amargo

FUENTE: Elaboración propia

El extracto etanólico de *Lepidium meyenii* Walpers “maca negra”, en la prueba de solubilidad se obtuvieron los siguientes resultados. (Ver Tabla N° 9 y Foto N°11)

TABLA N° 9: PRUEBA DE SOLUBILIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Lepidium meyenii* Walpers, “MACA NEGRA”

SOLVENTE	SOLUBILIDAD
Cloroformo	Poco soluble
Etanol 96°	Muy soluble
Metanol	Muy soluble
Agua destilada	Soluble
Acetato de Etilo	Soluble

FUENTE: Elaboración propia

FOTO N° 11: PRUEBA DE SOLUBILIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Lepidium meyenii* Walpers, “MACA NEGRA”.



- 1: Cloroformo
- 2: Etanol 96°
- 3: Metanol
- 4: Agua destilada
- 5: Acetato de etilo

FUENTE: Elaboración propia

El extracto etanólico de *Lepidium meyenii* Walpers “maca negra”, en la marcha fitoquímica cualitativa presentó abundante cantidad de carbohidratos, azúcares reductores, aminoácidos, glicósidos, compuestos fenólicos, alcaloides, en moderada cantidad de flavonoides, catequinas, taninos, triterpenos, en leve cantidad de quinonas, saponinas y ausencia de compuestos con grupo carbonilos.

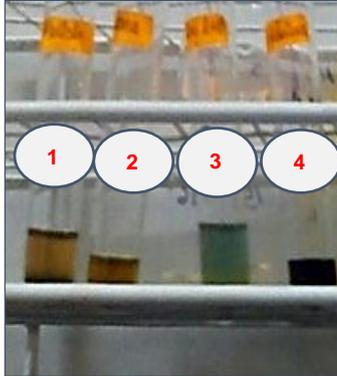
TABLA Nº 10: MARCHA FITOQUÍMICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Lepidium meyenii* Walpers, “MACA NEGRA”

ENSAYO	METABOLITO	RESULTADO
Molish	Carbohidratos	+++
Antrona	Carbohidratos	+++
Fehling	Azúcares reductores	+++
Ninhidrina	Aminoácidos	+++
Vainillin - Sulfúrico	Glicósidos	+++
Rosenhein	Catequinas	++
Hidroxilamina	Compuestos con grupo carbonilo	-
Dragendorff	Alcaloides	+++
Mayer	Alcaloides	+++
Bertrand	Alcaloides	++
Sonnenschein	Alcaloides	++
Tricloruro de Hierro	Compuestos fenólicos	+++
Shinoda	Flavonoides	++
Lieberman-buchardat	Triterpenoides	++
Borntrager	Quinonas	+
Gelatina	Taninos	++
Espuma	Saponinas	+

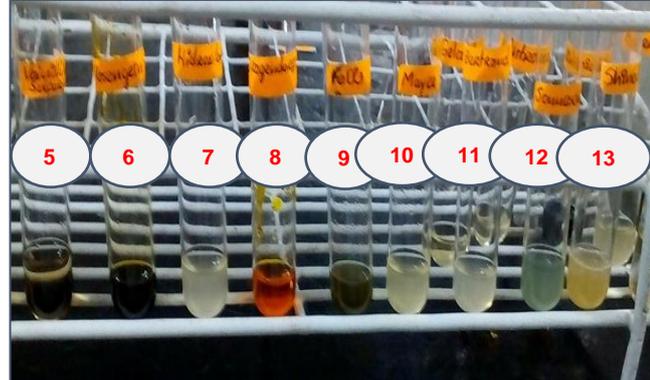
Leyenda: (+++) Abundante; (++) Moderado; (+) Leve; (-) Ausencia

FUENTE: Elaboración propia

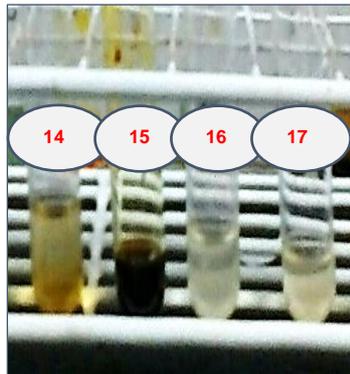
Foto N° 12, 13,14: Marcha Fitoquímica del extracto etanólico de *Lepidium meyenii* Walpers “maca negra”



FUENTE: Elaboración propia



FUENTE: Elaboración propia



FUENTE: Elaboración propia

- | | |
|------------------------|-------------------------|
| 1: Molish | 10: Mayer |
| 2: Antrona | 11: Bertrand |
| 3: Fehling | 12: sonnenschein |
| 4: Ninhidrina | 13: Shinoda |
| 5: Vainillin Sulfurico | 14: Lieberman-buchardat |
| 6. Rosenhein | 15: Borntrager |
| 7: Hidroxilamina | 16: Gelatina |
| 8: Dragendorff | 17: saponinas |
| 9: FeCl3 | |

Porcentaje de captación de radicales libres del extracto etanólico de *Lepidium meyenii* Walpers, "maca negra": se obtuvieron los siguientes resultados a concentraciones de 800 ug/ml, 700 ug/ml, 600 ug/ml, 400 ug/ml, 200 ug/ml presentaron porcentaje de 77,97%, 72,68%, 67,62%, 56,38%, 37,66% respectivamente. (Ver Tabla N° 11 y Gráfico N° 1)

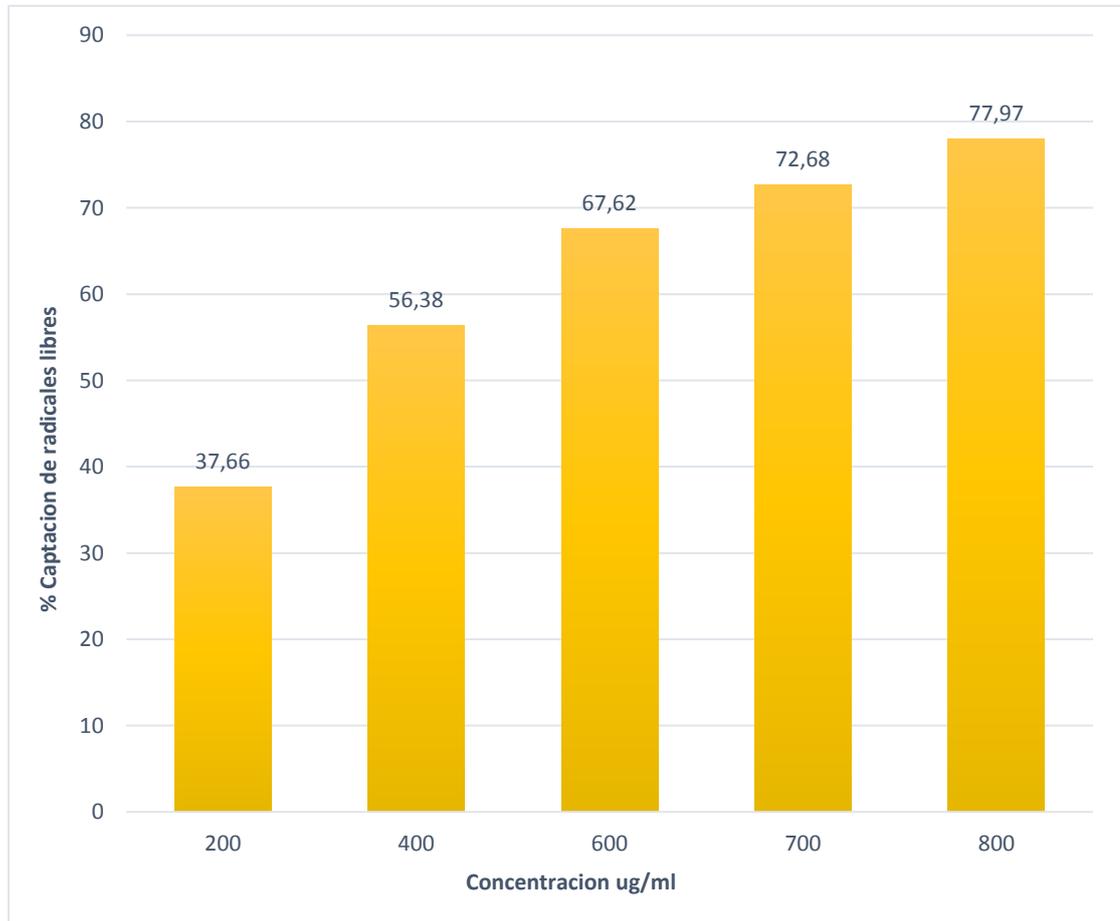
TABLA N° 11: PORCENTAJE DE CAPTACIÓN DE RADICALES LIBRES DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Lepidium meyenii* Walpers, "MACA NEGRA"

Absorbancia del patrón de referencia: 0,454

Muestra	Concentración ug/ml	Prom. de Absorbancia de la muestra	Absorbancia de blanco de muestra	Capacidad Antioxidante %
Extracto etanólico de maca negra	800 ug/ml	0,106	0,006	77,97
	700 ug/ml	0,128	0,004	72,68
	600 ug/ml	0,151	0,004	67,62
	400 ug/ml	0,200	0,002	56,38
	200 ug/ml	0,283	0,000	37,66

FUENTE: Elaboración propia

GRÁFICO N° 1: PORCENTAJE DE CAPTACIÓN DE RADICALES LIBRES DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Lepidium meyenii* Walpers, "MACA NEGRA"

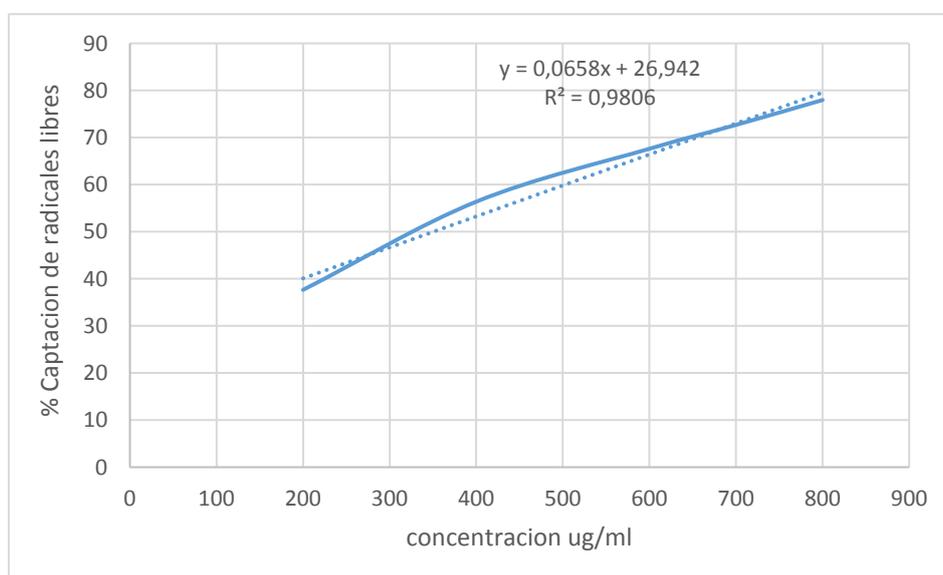


FUENTE: Elaboración propia

Concentración Inhibitoria (IC50) del extracto etanólico de *Lepidium meyenii* Walpers, "maca negra".

Mediante la ecuación que se obtuvo de la curva de concentración vs % captación de radicales libres, se calculó el valor de la concentración inhibitoria (IC50) del extracto etanólico de maca negra (Ver Gráfico N° 2 y Tabla N° 12)

GRÁFICO N° 2: CURVA DE CONCENTRACIÓN VS % CAPTACIÓN DE RADICALES LIBRES



FUENTE: Elaboración propia

A partir de la ecuación de la curva

$$Y = mx + b$$

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

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

$$IC_{50} = (50 - 26.942) / 0.0658$$

$$IC_{50} = 350.42 \text{ ug/ml}$$

TABLA N° 12: CONCENTRACIÓN INHIBITORIA (IC50) DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Lepidium meyenii* Walpers, "MACA NEGRA"

Muestra	IC 50 expresado en (ug/ml)	IC 50 expresado en (mg/ml)	IC50 expresado en (g/ml)
Extracto etanólico de maca negra	350.42 ug/ml	0,350 mg/ml.	0,00035042 g/ml

FUENTE: Elaboración propia

Los resultados de la comparación del IC50 del extracto etanólico de *Lepidium meyenii* Walpers "maca negra" y Trolox, presentó los siguientes resultados. (Ver tabla N° 13)

TABLA N° 13: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE MEDIANTE LA IC50 EN (ug/ml) DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Lepidium meyenii* Walpers, "MACA NEGRA" Y TROLOX.

CONCENTRACIÓN INHIBITORIA (IC50) en ug/ml	
Extracto etanólico de maca negra	350.42 ug/ml
Trolox	2,3934 ug/ml

FUENTE: Elaboración propia

TABLA N° 14: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Lepidium meyenii* Walpers, "MACA NEGRA" EXPRESADA EN EQUIVALENTE ug TROLOX/g.

Muestra	Equivalente ug Trolox/g extracto
Extracto etanólico de maca negra	6830.08961 ug Trolox/ g

FUENTE: Elaboración propia

4.2 Análisis e Interpretación de resultados

En la **TABLA N° 10**, Al realizar el análisis fitoquímico del extracto etanólico de *Lepidium meyenii Walpers* “maca negra”, se observa presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, catequinas, se puede deber talvez a estos metabolitos la actividad antioxidante de la maca negra ya que según bibliografía, son metabolitos responsables de la actividad antioxidante.

En la **TABLA N° 11** y **GRÁFICO N° 1**: Se observa que el extracto etanólico de maca negra a diferentes concentraciones logró inhibir la formación de radicales libres, siendo los porcentajes de captación de radicales libres directamente proporcionales a las concentraciones evaluadas, concluyendo que a medida que aumenta la concentración del extracto etanólico de maca negra, mayor es su actividad antioxidante.

En la **TABLA N° 12**: Se observa que el extracto etanólico de maca negra, presenta una concentración inhibitoria (IC50) de 0,350 ug/ml, determinando que necesita esa cantidad de extracto para capturar un 50% de radicales libres DPPH.

En la **TABLA N° 13**: Se observa la capacidad antioxidante mediante la IC50 (mg/ml) del Trolox y del extracto etanólico de *Lepidium meyenii Walpers*, “maca negra”, donde se muestra que el trolox presenta mayor actividad antioxidante que la maca negra, ya que a menor IC50 mayor es la actividad antioxidante.

En la **TABLA N° 14**: Se observa la capacidad antioxidante del extracto etanólico de *Lepidium meyenii Walpers*, “maca negra”, expresado en Trolox, que se obtuvo de la división del IC50 del Trolox (ug/ml) con el IC50 del extracto etanólico de maca negra (g/ml), obteniendo que por gramo de extracto tuvo una actividad antioxidante de 6830.08961 ug Trolox/ g de extracto.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de la marcha fitoquímica del extracto etanólico de ***Lepidium meyenii Walpers*** “maca negra” coincide con el estudio realizado por Palma. et al.; (2012), en la presencia de metabolitos como los alcaloides, catequinas, taninos, compuestos fenólicos, aminoácidos, quinonas, flavonoides y azúcares reductores.

En esta investigación se obtuvo una concentración inhibitoria (IC50) de 0,350 mg/ml del extracto etanólico de maca negra y comparando con el estudio realizado por Oré M. (2008), que tuvo como resultado que el extracto etanólico de maca amarilla realizado por el método de 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) obtuvo un (IC50) de 10 mg/ml, a partir de esta comparación se deduce que la maca negra su (IC50) es menor que la maca amarilla, indicando que la maca negra presenta mayor actividad antioxidante.

Según los resultados obtenidos en la marcha fitoquímica del extracto etanólico de maca negra, se observa presencia de flavonoides, compuestos fenólicos en el cual se le puede atribuir a estos metabolitos sean los responsables de la actividad antioxidante de la maca negra ya que según bibliografía estos metabolitos participan en la actividad antioxidante, esto queda respaldado por el estudio realizado por Doroteo V. et al.; (2013), **Compuestos fenólicos y actividad antioxidante *in vitro* de 6 plantas peruanas.**

En esta investigación se obtuvo que el (IC50) del extracto etanólico de maca negra es menor que lo reportado por el estudio realizado por Sandoval M. *et al.*; (2002), que tuvo como resultado que el (IC50) del extracto acuoso de maca, es de 0,6mg/ml, concluyendo que el extracto etanólico de maca negra presenta mayor actividad antioxidante.

El estudio realizado por Zhaa S. *et al.*; (2014), concluyeron que los polisacáridos contenidos en la maca también contribuyen en la actividad antioxidante del recurso vegetal, por lo que se deduce que quizás la presencia de carbohidratos identificados en el estudio fitoquímico del extracto etanólico de maca negra influya en su actividad antioxidante.

CONCLUSIONES

Se determinó que el extracto etanólico de *Lepidium meyenii* Walpers, “maca negra” utilizando el método de captación de radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), presentó actividad antioxidante, mostrando que a mayor concentración del extracto, mayor es su actividad antioxidante.

En el estudio fitoquímico cualitativo del extracto etanólico de *Lepidium meyenii* Walpers, “maca negra”, indicó presencia abundante de compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, catequinas, los cuales sean los responsables de la actividad antioxidante de la maca negra.

Se evaluó la concentración inhibitoria (IC50) del extracto etanólico de *Lepidium meyenii* Walpers, “maca negra”, obteniendo un (IC50) de 0,350 mg/ml, determinando que necesita esa cantidad de extracto para capturar un 50% de radicales libres 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH).

RECOMENDACIONES

Ampliar el estudio con otros métodos de determinación de actividad antioxidante de *Lepidium meyenii* Walpers, “maca negra”.

Se sugiere continuar con un estudio químico que permita el aislamiento e identificación de los metabolitos activos del extracto etanólico de *Lepidium meyenii* Walpers, “maca negra”.

Evaluar la actividad antioxidante de *Lepidium meyenii* Walpers, “maca negra”, con otros tipos de extractos.

Realizar estudios comparativos de actividad antioxidante con otros ecotipos de macas.

Siendo la maca negra un producto natural, podría ser recomendado como suplemento antioxidante biológico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Migliore L., Coppedè F. (2009). Environmental-induced oxidative stress in neurodegenerative disorders and aging. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*; 674:73-84.
2. Palma E, Prado C, Loja B, Salazar A. Características fitoquímicas de muestras comerciales de maca en tres regiones de Perú. *CIMEL Ciencia e Investigación Médica Estudiantil Latinoamericana* 2012; 17(2)89-93.
3. Oré M. Efectos hipolipémico y antioxidante de *lepidium meyenii* walp en ratas. [Tesis Doctorado]. Lima. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2008.
4. Doroteo V, Díaz C, Terry C, Rojas R. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante in vitro de 6 plantas peruanas. *Rev. Soc. Quím. Perú* v.79 n.1 Lima ene. /mar. 2013.
5. Sandoval M, Okuhama N, Angeles F, Melchor V, Condezo L, Lao J, Miller J. Antioxidant activity of the cruciferous vegetable maca (*Lepidium meyenii*). *Food Chemistry*, 2002, 79: 207-213 pp.
6. Zhaa S, Zhaoa Q, Chena J, Wanga L, Zhanga G, Zhang H, Zhao B. Extracción, purificación y actividad antioxidante de los polisacáridos de la maca (*lepidium meyenii*). *Carbohydrate Polymers*; (2014) 584–587 pp.
7. Pulgar J. Conferencias Magistrales de Medicina Tradicional. Lima: Instituto Nacional de Medicina Tradicional IMETRA; 1996.
8. Aliaga; J. 2006 Contribuciones al conocimiento y a la capacitación. V. Maca (*Lepidium meyenii*), Universidad Agraria la Molina, 361-366 pp.
9. Chacón de P, 1990. La maca (*Lepidium peruvianum*) y su hábitat. *Revista peruana de Biología* 3; 254 pp.
10. Aliaga; R. 1999. Guía para el cultivo, aprovechamiento y conservación de la maca *Lepidium meyenii* Walpers. Convenio Andrés Bello. Santa Fe; Colombia; 15 pp.
11. Muhammad I, Zhao J, Chuck Dumbar D, Khan I. Constituents of *Lepidium meyenii* (maca); *phytochemistry* 59 (2012) 105-110 pp.

12. Gonzales G. Maca de la tradición a la ciencia. Lima (Perú); Concytec; 2006; 75 pp.
13. Yllescas, L. "Estudio Químico y Fitoquímico Comparativo de 3 Ecotipos de *Lepidium meyenii* Walp "Maca". Tesis Título Profesional. UNMSM, FAC. Farmacia y Bioquímica, Lima, 1994.
14. Obregón, L. maca. Planta medicinal y nutritiva del Perú, instituto de fitoterapia andina, Lima, 1998.
15. Dini A, Migliuolo G, Rastelli L, Saturnino P, Schettino O. Chemical composition of *Lepidium meyenii*. Food Chemistry. 1994; 49:347-9.
16. Juan Tello, Michael Hermann y Alberto Calderón. 1992. La Maca (*Lepidium meyenii* Walp): cultivo alimenticio potencial para las zonas altoandinas. 9 pp.
17. REITTER R. Rev. Oxidative processes and antioxidative mechanisms. 1995; 9 (6): 526-33.
18. CRIADO C., MOYA M. (2009). Actualizaciones el médico: Vitaminas y antioxidantes servicios de Medicina Interna y Urgencias. Hospital Puerta de Hierro- Majadahonda. Departamento de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid. p 11.
19. Lock de Ugaz O. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. Lima: 2º ed Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú;1994.
20. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Omega; 2003.
21. Marco G.J. 1968. A rapid method for evaluation of antioxidants. J. Am. Oil Chem. Soc. 45, 594-598.
22. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm-Wiss U – Technol 28: 25-30.
23. CIBN (Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición). Capacidad atrapadora de radicales libres. Primer Curso Nacional Teórico Práctico: Antioxidantes en Recursos Fitoterapéuticos. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Mayor de San Marcos 2006.

24. Valencia, C. 1995. Fundamentos de Fitoquímica MX, editorial trillas S.A. 235 p.
25. García. 2006. Breves apuntes sobre productos naturales y plantas medicinales Pinar del Rio, Universidad Hermanas Saiz Montes de Oca.191 p.
26. Reyna J, Gomez S, Idefonso c. Evaluación Químico Y Nutricional De La Maca;(1995) v. 10 (75) P. 44-46; Agro Enfoque (Perú).
27. Olga Lock, Rosario Rojas, química y farmacología de *Lepidium meyenii* Walp. Revista de química. Departamento de ciencias, Pontifica universidad católica del Perú, (Dic 2002) V. 16(1-2) P 25-32.

ANEXOS

ANEXO 1

MATRIZ DE CONSISTENCIA

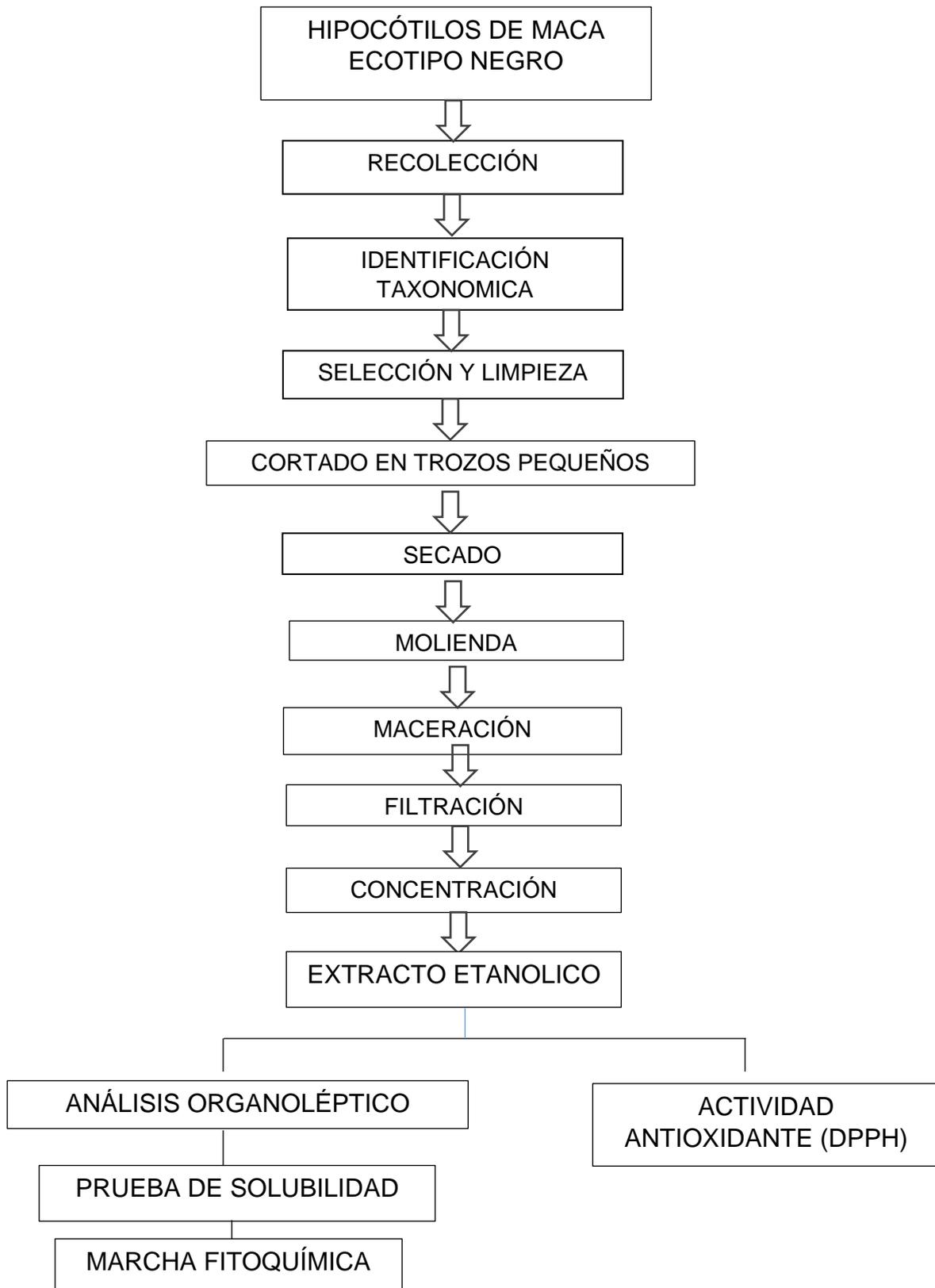
Título de Tesis: “ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Lepidium meyenii* Walpers MACA NEGRA”

Presentado por: VEGA ROJAS CINDY RUTH

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN	MÉTODO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	VARIABLES	POBLACIÓN Y MUESTRA
<p>¿El extracto etanólico de <i>Lepidium meyenii</i> Walpers, maca negra presentará actividad antioxidante?</p> <p>Problemas Específicos</p> <p>P.E.1 ¿Cuáles serán los metabolitos presentes en el extracto etanólico de <i>Lepidium meyenii</i> Walpers, “maca negra”?</p> <p>P.E.2 ¿Cuál será la concentración inhibitoria (IC50) del extracto etanólico de <i>Lepidium meyenii</i> Walpers, “maca negra”?</p>	<p>Determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico de <i>Lepidium meyenii</i> Walpers, maca negra.</p> <p>Objetivos Específicos</p> <p>O.E.1 Identificar los metabolitos presentes en el extracto etanólico de <i>Lepidium meyenii</i> Walpers, maca negra.</p> <p>O.E.2 Evaluar la concentración inhibitoria (IC50) del extracto etanólico de <i>Lepidium meyenii</i> Walpers, “maca negra”.</p>	<p>El extracto etanólico de <i>Lepidium meyenii</i> Walpers, maca negra posee actividad antioxidante.</p> <p>Hipótesis Especificas</p> <p>H.E.1 El extracto etanólico de <i>Lepidium meyenii</i> Walpers, maca negra presenta metabolitos con actividad antioxidante.</p> <p>H.E.2 El extracto etanólico de <i>Lepidium meyenii</i> Walpers, “maca negra” posee una concentración inhibitoria (IC50) frente al radical DPPH.</p>	<p>Tipo de Investigación:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Aplicada - Transversal <p>Nivel de Investigación:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Descriptivo 	<p>Método de Investigación:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Científico - Inductivo - Cuantitativo - Cualitativo <p>Diseño de Investigación:</p> <ul style="list-style-type: none"> - No Experimental 	<p>Variable Independiente(X)</p> <p>X: Extracto etanólico de <i>Lepidium meyenii</i> Walpers, maca negra</p> <p>Indicador:</p> <p>X1: metabolitos (+) o (-)</p> <p>Variable Dependiente (Y)</p> <p>Y: Actividad antioxidante del extracto etanólico de <i>Lepidium meyenii</i> Walpers, maca negra.</p> <p>Indicador:</p> <p>Y1: % Captación de radicales libres</p>	<p>Población:</p> <p>Hipocótilos de <i>Lepidium meyenii</i> Walpers, “maca” ecotipo negro procedente del distrito de Carhuamayo a 4500 m.s.n.m, provincia de Junín, departamento de Junín.</p> <p>Muestra:</p> <p>1200 g de hipocótilos de <i>Lepidium meyenii</i> Walpers “maca” ecotipo negro.</p>

ANEXO Nº 2

FLUJOGRAMA DE TRABAJO



ANEXO N° 3

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

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

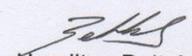
CERTIFICACION BOTANICA

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 "MACA NEGRA", proporcionado por la Srta. VEGA ROJAS CINDY RUTH, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Lepidium meyenii* y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Dillenidae
Orden: Capparales
Familia: Brassicaceae
Género: *Lepidium*
Especie: *Lepidium meyenii* Walpers

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 Beltran Santiago
Biólogo - Botánico
C.B.P. 2719

ANEXO 4

FOTOS DEL ESTUDIO ACTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANOLICO DE MACA NEGRA

FOTO N°15

2,2-DIFENIL -1-PICRILHIDRAZIL (DPPH)



FUENTE: Elaboración propia

FOTO N° 16

TROLOX ALDRICH



FUENTE: Elaboración propia

FOTO N° 17: PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE DPPH



FUENTE: Elaboración propia

FOTO N° 18: PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE DEL EXTRACTO



FUENTE: Elaboración propia

**FOTO N° 19 Y 20: PREPARACIÓN DE LAS
CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO, PATRÓN DE
REFERENCIA Y BLANCOS DE MUESTRA**



FUENTE: Elaboración propia



FUENTE: Elaboración propia

**FOTO N° 21:
ESPECTROFOTÓMETRO
SPECTROQUANT PHARO 300
MERCCK**



FUENTE: Elaboración propia

**FOTO N° 22: REACCIÓN DEL
EXTRACTO ETANÓLICO DE
MACA NEGRA CON EL
RADICAL DPPH**

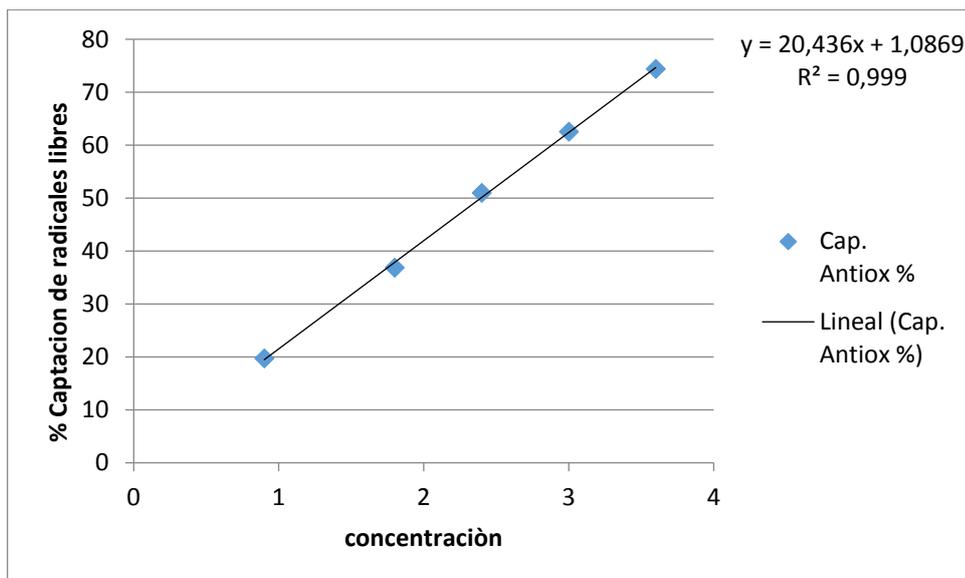


FUENTE: Elaboración propia

ANEXO 5

CURVA ESTÁNDAR DE TROLOX

GRÁFICO Nº 3: CURVA ESTÁNDAR DE TROLOX



Fuente y elaboración propia

$$Y = mx + b$$

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

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

$$IC_{50} = (50 - 1,0869) / 20,436$$

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