

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
FACULTAD DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE CIENCIA, TECNOLOGÍA E INGENIERÍA DE LOS ALIMENTOS



**COMPUESTOS BIOACTIVOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN
LOS EXTRACTOS DE HOJAS Y TALLO DE AJOS SACHA
(*Mansoa alliacea*), EFECTO DE LA TEMPERATURA Y pH EN SU
ESTABILIDAD**

TESIS

Para optar el título de:

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

QUIROGA JULCA, Pablo César

Tingo María – Perú

2021



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Tingo María
FACULTAD DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
Carretera Central Km. 1.21. Teléfono (062) 561385
Apartado Postal 156 Tingo María E.mail: fiia@unas.edu.pe

"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

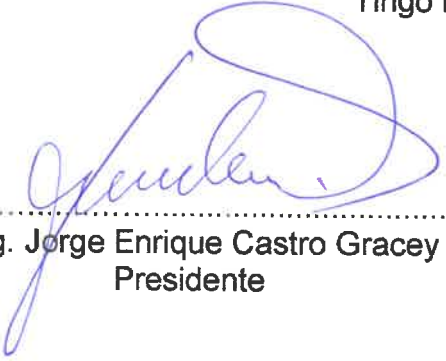
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 006-2019

Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos en acto público el 14 de mayo de 2019, a horas 4:30 p.m. en la Sala de Sesiones de la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicada en la ciudad de Tingo María, provincia de Leoncio Prado, región Huánuco, para calificar la tesis presentada por el Bach. **QUIROGA JULCA, Pablo Cesar**, titulada:

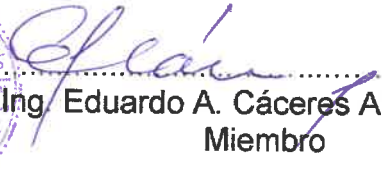
"COMPUESTOS BIOACTIVOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN LOS EXTRACTOS DE HOJAS Y TALLO DE AJOS SACHA (*Mansoa alliacea*), EFECTO DE LA TEMPERATURA Y pH EN SU ESTABILIDAD"


Después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las preguntas formuladas, lo declaran **APROBADO** con el calificativo de **MUY BUENO**; en consecuencia el Bachiller, queda apto para recibir el título de **Ingeniero en Industrias Alimentarias** del Consejo Universitario, de conformidad con el artículo 45° numeral 45.2, de la Ley Universitaria 30220; los artículos 132 inciso "k" y 135 inciso "f" del Estatuto de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Tingo María, 17 de mayo de 2019


.....
Mg. Jorge Enrique Castro Gracey
Presidente




.....
Ing. Eduardo A. Cáceres Almenara
Miembro


.....
Dr. Pedro Pablo Peláez Sánchez
Asesor

DEDICATORIAS

A Dios:

Por haberme dado salud, vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional, así como también cuidarme y guiarme en sus caminos logrando mis metas trazadas.

A mis padres

Patricia, Julca Leandro y Cesar Augusto, Quiroga Fernández por sus valores inculcados, perseverancia y apoyo incondicional en todos los años de mi vida por su confianza y empuje para salir siempre adelante que ha logrado ser una persona de bien y por su amor infinito.

A mi hermano

Carlos Alberto, Quiroga Julca, por su apoyo, humildad y vivencias inolvidables generadas hasta la actualidad.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Agraria de la Selva y en especial a la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias que me dieron la oportunidad de mi formación profesional, así como también a todos los docentes de la carrera y amigos de promoción.

A mi asesor, Al Dr. Pedro Pablo Peláez Sánchez, por su confianza en mí, enseñanza, apoyo y ser un verdadero ejemplo de entrega y dedicación a la investigación.

A los miembros de jurado en especial al Ing. Jorge, Castro Gracey que por motivos inexplicables de la vida ya se encuentra bajo los brazos de nuestro Dios, Ing. Eduardo, Cáceres Almenara, Ing. Humberto, Rivera Rojas.

A la Dr. Elizabeth, Gomez Ordoñez por su apoyo desinteresado y constante, amistad y consejos durante la elaboración y culminación de la investigación.

Al Ing. Darling, Técnicos Ing. Aurelia y Sr. Carlos Salazar de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, por su apoyo desinteresado y constante en el desarrollo de mi formación profesional e investigación desarrollada.

Y un agradecimiento en especial a mi amigo William, Cárdenas Sandoval por su colaboración, por sus ánimos, ocurrencias y vivencias pasadas en el desarrollo de toda la investigación así como también a mis amigos, Mario Quispe Cusi, Daniel Roldan Sánchez, Adbel Caldas Diego y José Trujillo Ccanahuire.

Par ellos, muchas gracias por todo.

ÍNDICE

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Aspectos generales del ajo sacha (<i>Mansoa alliacea</i>).....	3
2.1.1. Reseña de la planta.....	3
2.1.2. Distribución geográfica y botánica.....	4
2.1.3. Descripción medio ambiental y ecológica.....	5
2.1.4. Taxonomía.....	5
2.1.5. Ecología adaptativa del olor a ajo.....	6
2.1.6. Composición fisicoquímica.....	6
2.2. Metabolitos primarios y secundarios.....	7
2.2.1. Metabolitos primarios.....	7
2.2.2. Metabolitos secundarios.....	7
2.3. Tamizaje fitoquímico.....	7
2.4. Extracción soxhlet.....	8
2.5. Cromatografía en capa fina.....	8
2.6. Polifenoles totales.....	9
2.7. Antocianinas.....	10
2.7.1. Estructura y color.....	11
2.7.2. Factores que determinan el color y la estabilidad.....	12

2.8.	Generalidades de la capacidad antioxidante.....	12
2.8.1.	Prueba de actividad antioxidante sobre el radical 2,2-difenil- 2-picrilhidrazil (DPPH).....	13
2.8.2.	Ensayo de actividad antioxidante sobre el radical 2,2'- azinobis(3-etilbenzotiazoline-6-ácido sulfónico) (ABTS ⁰⁺)	14
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
3.1.	Lugar de ejecución.....	15
3.2.	Materia prima.....	15
3.3.	Materiales y equipos de laboratorio y/o proceso, reactivos y solventes.....	16
3.3.1.	Materiales de laboratorio y/o proceso.....	16
3.3.2.	Equipos de laboratorio y/o proceso.....	16
3.3.3.	Reactivos y solventes.....	17
3.4.	Métodos de análisis.....	17
3.5.	Metodología experimental.....	18
3.5.1.	Caracterización químico proximal.....	18
3.5.2.	Obtención de las muestras de hojas y tallo de ajos sacha.....	18
3.5.3.	Caracterización fitoquímica de las hojas y tallo de ajos sacha.....	20

3.5.3.1.	Ensayo de solubilidad.....	20
3.5.3.2.	Ensayos cromatográficos.....	21
3.5.4.	Cuantificación de polifenoles totales en las hojas y tallo de ajos sachá.....	21
3.5.4.1.	Preparación de la curva estándar.....	21
3.5.4.2.	Cuantificación de polifenoles totales.....	22
3.5.5.	Cuantificación de antocianinas en las hojas y tallo de ajos sachá.....	23
3.5.6.	Determinación de la capacidad antioxidante en las hojas y tallo de ajos sachá.....	24
IV.	RESULTADOS Y DISCUSION.....	27
4.1.	Caracterización fisicoquímico proximal de las hojas y tallo de ajos sachá.....	27
4.2.	Caracterización fitoquímica de las hojas y tallo de ajos sachá.....	30
4.2.1.	Ensayo de solubilidad.....	30
4.2.2.	Marcha fitoquímica.....	31
4.2.3.	Ensayos cromatográficos.....	32
4.3.	Cuantificación de polifenoles totales en las hojas y tallo de ajos sachá.....	33
4.3.1.	Determinación de la curva estándar.....	33

4.3.2.	Cuantificación de polifenoles totales.....	34
4.4.	Cuantificación de antocianinas en las hojas y tallo de ajos sacha.....	35
4.5.	Determinación de la capacidad antioxidante en las hojas y tallo de ajos sacha.....	37
4.5.1.	Coeficiente de inhibición (IC ₅₀) del radical 1,1-difenil-2- picrilhidrazil (DPPH).....	38
4.5.2.	Coeficiente de inhibición (IC ₅₀) del radical libre 2,2- azinobis(3-etilbenzotiazolino-6-ácido sulfónico) (ABTS ⁰⁺)	38
4.6.	Efecto de la temperatura y pH en la estabilidad del extracto del ajo sacha.....	39
V.	CONCLUSIONES.....	43
VI.	RECOMENDACIONES.....	45
VII.	ABSTRACT.....	46
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47
IX.	ANEXO.....	53

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Pág.
1. Antocianinas y longitudes de onda.....	11
2. Resultados del análisis químico proximal de <i>Mansoa alliacea</i>	29
3. Resultados de solubilidad del extracto de <i>Mansoa alliacea</i>	30
4. Resultados de la marcha fitoquímica de <i>Mansoa alliacea</i>	32
5. Resultados de polifenoles totales en las hojas y tallo de ajos sacha.....	35
6. Resultados de antocianinas en las hojas y tallo de ajos	36
7. Resultados del IC ₅₀ en las hojas y tallo de ajos sacha.....	37
8. Resultados del IC ₅₀ del radical ABTS ⁰⁺ en las hojas y tallo de ajos sachá en función del DPPH.....	39
9. Efecto de la temperatura y pH en la estabilidad del extracto del ajo sachá en función del DPPH.....	40
10. Efecto de la temperatura y pH en la estabilidad del extracto del ajo sachá en función a los polifenoles totales.....	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Pág.
1. <i>Mansoa alliacea</i> hembra y macho.....	3
2. <i>Mansoa alliacea</i>	4
3. Estructura básica de los flavonoides.....	10
4. Estructura básica de la antocianina.....	11
5. Diagrama para la obtención de las hojas y tallo de ajos sachá.....	20
6. Esquema para la marcha fitoquímica en hojas y tallos de ajos sachá.....	21
7. Curva patrón de ácido gálico para la cuantificación de polifenoles totales.....	33
8. Percepción en capacidad de polifenoles totales en las hojas y tallo del ajos sachá.....	35
9. Percepción en capacidad de antocianinas en las hojas y tallo de ajos sachá.....	36
10. Presentación del IC ₅₀ con el radical DPPH en las hojas y tallo de ajos sachá.....	38
11. Comportamiento del IC ₅₀ con el radical ABTS ⁰⁺ en las hojas y tallo de ajos sachá.....	39

RESUMEN

En la presente investigación las hojas y el tallo del ajo sachá se caracterizó físicoquímicamente y fitoquímicamente, además se determinó la capacidad de polifenoles totales y antocianinas también se determinó la magnitud antioxidante mediante los radicales libres DPPH y ABTS⁰⁺, donde; las hojas y tallo del ajo sachá obtuvo valores en humedad de $62,79 \pm 0,48$ %; $51,50 \pm 0,49$ %, proteína $2,04 \pm 0,00$ %; $0,92 \pm 0,01$ %, Grasa $3,36 \pm 0,04$ %; $0,67 \pm 0,02$ %, fibra $9,08 \pm 0,12$ %; $20,94 \pm 0,58$ %, ceniza $1,49 \pm 0,04$ %; $4,87 \pm 0,03$ % y carbohidratos $21,24 \pm 0,48$ %; $21,10 \pm 0,94$ % respectivamente, en la caracterización fitoquímica las muestras de las hojas y tallos existió ausencia de alcaloides, quinonas y aminoácidos libres en ambas muestras, además existió regular y poca cantidad de tanino en las hojas y el tallo, posteriormente se obtuvo abundante cantidad de glicósidos en las hojas, abarcando el contenido de polifenoles totales se obtuvo valores de $18,57 \pm 0,64$ g EAG/100g para las hojas y $8,73 \pm 0,12$ g EAG/100g para el tallo, además en la cuantificación de las antocianinas las hojas obtuvieron un valor de $0,30 \pm 0,06$ g EAG/100g y en el tallo $0,27 \pm 0,04$ g EAG/100g, también se determinó la capacidad antioxidante de las hojas y del tallo mediante los radicales libres DPPH obteniendo valores de $1,21 \pm 0,09$ IC₅₀ (mg/mL) y $1,17 \pm 0,15$ IC₅₀ (mg/mL) respectivamente y en el radical ABTS⁰⁺ también se obtuvo valores $0,45 \pm 0,13$ IC₅₀ (mg/mL) y $0,51 \pm 0,04$ IC₅₀ (mg/mL) respectivamente y para finalizar se evaluó el efecto de la temperatura y pH en la estabilidad de la esencia de la hoja y el tallo del ajo sachá donde

existió mayor capacidad antioxidante en el tallo de $0,62 \pm 0,07$ IC₅₀ (mg/mL) esto fue a una temperatura de 60°C a un pH de 4,5 por otro lado se encontró mayor contenido de polifenoles en $37,76 \pm 1,16$ g EAG/100 g a una temperatura de 60°C a un pH de 4,5 en hojas.

I. INTRODUCCIÓN

El ajo sachá crece en los bosques secos o húmedos a una altitud hasta los 1000 m.s.n.m. “Costa Rica, Las tres Guayanas, Ecuador, Perú, y Brasil”. Es empleado como gallardía medicinal, se usan casi todas las fracciones del vegetal como hojas, raíces y cortezas. En la actualidad muchas especies vegetales son utilizadas en la medicina por sus propiedades terapéuticas, debido a los principios activos que poseen ya que son responsables de aliviar y curar enfermedades. Por otra parte, también puede ser utilizado como condimento por su olor a ajo.

En el Perú el ajo sachá crece en las regiones de Loreto, San Martín, Huánuco y Amazonas, los indios shipibo-conibo utilizan la corteza para aliviar dolores por trompazos, hinchamientos en la piel, y las hojuelas sirven para preparar infusiones que alivian el reumatismo, artritis, resfriados, trastornos uterinos, fertilidad, cansancio e inflamación. Por tal motivo se realizará análisis enfocándonos en sus compuestos bioactivos de las hojas y tallos la cual será de gran ayuda para curar los males ya mencionados anteriormente, además por otra parte también se puede emplear como condimento la cual sería muy beneficioso para la siembra y producción de esta planta como producto terminado. Bajo este contexto se planteó la investigación considerándose los fines:

- Capacidad de polifenoles totales y antocianinas en hojas y tallos de ajos sacha.
- Determinar la magnitud antioxidante mediante los radicales libres $ABTS^{0+}$ y DPPH en hojas y tallos de ajos sacha.
- Determinar el efecto de la temperatura y pH en la estabilidad del extracto.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Aspectos generales del ajo sachá (*Mansoa alliacea*)

2.1.1. Reseña de la planta

Es también denominado ajo del monte, “cipó-de-alho”, cipo-d’alho, cipo-alho y alho-da-mata, en Brasil”, bejuco de ajo en Venezuela, ajos sachá en - Perú, la planta posee un penetrante aroma a ajos especialmente en las hojas (BICHARA *et al.*, 2009). Existen dos clases de ajos, el primero es el ajos macho que es un vegetal pequeño (Figura 1 (a)), segundo es el ajos hembra (b) un bejuco (MONSERRATE, 2014).

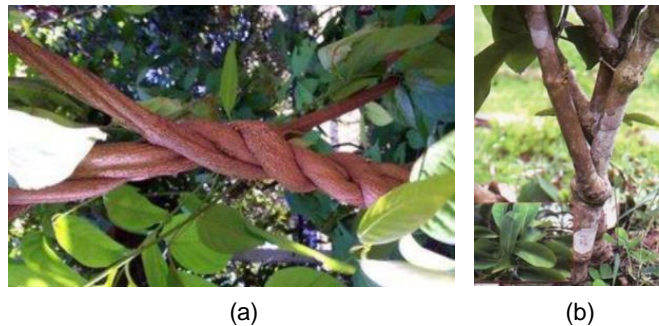


Figura 1. *Mansoa alliacea* (a) hembra (bejuco) y (b) macho (árbol pequeño).

Fuente: MONSERRATE (2014).

2.1.2. Distribución geográfica y botánica

Según RENGIFO (2007), *Mansoa alliacea* se encuentran “Huánuco, Amazonas, Loreto (especialmente en las zonas de Tamshiyacu, Valentín e Indiana, Río Amazonas: Llachapa y corazón de Jesús, Río Napo: Padre Cocha, Río Nanay: Contamana, Río Ucayali) y San Martín”.

Es un arbusto poco trepador con una altura de 3 metros o más, las hojas, tallos, raíces, flores poseen un olor marcado a ajos o cebolla. Posee hojas bifolioladas, foliolos abovados a elípticos en un rango de cinco a veintisiete por dos a dieciocho centímetros, el ápice tiene forma aguda a obtuso (Figura 2). Posee inflorescencias axilares en racimos, cáliz cupular entre 5 a 10 cm por 6 a 11 mm; su corola es de color violeta de 6 a 9 cm de largo, su fruto tiene forma de cápsula y las semillas poseen membranas de color pardo.



Figura 2. *Mansoa alliacea*.

Fuente: RENGIFO (2007).

2.1.3. Descripción medio ambiental y ecológica

Se desarrollan en las zonas tropicales cuyas precipitaciones pluviales comprende entre 1800 a 3500 mm/año, entre 20 a 26°C de temperatura, crece en un suelo arenáceo y/o terroso con buena masa natural orgánica. Su habita ideal están en zonas altas, alejada del agua, en áreas sombreadas o purmas como de bosque primario. Puede compartir su hábitat con especies como el “aguaje, algodón, bijao, caña agria, y especies maderables como carahuasca, cedro, cetico, cordoncillo, charichuelo, chiricsanango, chuchuhuasi,

espintana, huacapú, huamansamana, huito, limón, pijuayo, poma rosa y otros” (VEGA, 2001).

2.1.4. Taxonomía

Según SUÁREZ (2015), considera como taxonomía de la planta como sigue:

Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Orden	: Lamiales
Familia	: Bignoniaceae
Género	: <i>Mansoa</i>
Especie	: <i>Mansoa alliace</i> (Lam) H.A. Gentry

2.1.5. Ecología adaptativa del olor a ajo

En todas aquellas especies que poseen olor de “tipo ajo” lo concentran en sus raíces y hojas, aunque puede variar de una especie a otra, de igual manera se comportan los metabolitos secundarios. Un hecho común es que en su nombre científico se considera la singularidad odorífera al ajo: *Alliaria*, *alliaceum*, *alliacea* y *alliodora*. El olor a ajo, está presente en algunos vegetales y se considera como un mecanismo de defensa, porque los depredadores al percibir el olor intenso sienten como una lo que los ahuyenta, esto esta relacionado a su composición fitoquímica (LÓPEZ y PÉREZ, 2010).

2.1.6. Composición fisicoquímica

Según PATEL *et al.* (2013), en las hojas existe la presencia de alcaloides, taninos, fenoles flavonoides, glicosidos, esteroides quinona. Compuestos de azufre como aliina y la alicina responsable del aroma y gusto (CALERO, 2012). En hojuelas y capullos encontramos esteroides como el beta-sitosterol, estrigmasterol, duocosterol y fucosterol que tienen acción antiinflamatoria y antibacteriana, (DOMÍNGUEZ y NEVES, 2014). La planta también contiene “carbohidratos, proteínas, alcaloides, flavonas, saponinas, sulfuro de dialil, sulfuro de dimetil, ácido ascórbico y vitamina E, microelementos como selenio y cromo” (CALERO, 2012).

En la familia de Bignoniaceae, se presentan varias especies del género *Mansoa* como *M. alliacea*, *M. hymenae* y *M. standleyi*, en ellas está presente naftoquinonas derivadas del lapachol (4-hydroxy-9-methoxy-lapachona y 9-methoxy-lapachona) (LÓPEZ y PÉREZ, 2010); los cuales le confiere actividad anticanceroso y antimicrobiano (DOMÍNGUEZ y NEVES, 2014).

2.2. Metabolitos primarios y secundarios

2.2.1. Metabolitos primarios

Las células para su funcionamiento necesitan muchos compuestos químicos básicos, que se consiguen básicamente en metabolismo iniciales que tiene procesos químicos que la planta realiza como “fotosíntesis, glicólisis, ciclo del ácido cítrico, síntesis de aminoácidos, síntesis de proteínas y enzimas, síntesis de coenzimas, síntesis de materiales estructurales, duplicación de

material genético, reproducción celular (crecimiento) y absorción de nutrientes” (PALACIOS, 2000).

2.2.2. Metabolitos secundarios:

Son átomos que no ejecutan un rol fisiológico en la planta, están presentes en cantidades relativamente pequeñas y su producción puede ser activada o restringida a algunas familias, géneros y especies de plantas. Este metabolismo secundario comprende procesos químicos muy específicos de cada planta, que vienen a ser un conjunto de reacciones que da como resultado la formación de precursores químicos, estos metabolitos parecen ser no necesarios para la vida de la planta, pero pueden generarle una ventaja competitiva (PALACIOS, 2000).

2.3. Tamizaje fitoquímico

Según SUÁREZ (2015), es el estudio preliminar, con pruebas sencillas y rápidas, que permiten alcanzar cualitativamente los principales grupos químicos que están en un material vegetal, como también los que están presentes en los extractos. GONZÁLEZ y VALENCIA (2014), indica que el tamizaje es una técnica de extracción de compuestos con la aplicación de solventes apropiados provocando reacciones con diferente coloración, es una forma de evaluación rápida, cuyas reacciones generadas son muy sensibles y replicables, cuyo costo es bajo. Los resultados obtenidos por este método constituyen únicamente una orientación de la presencia de ciertos compuestos y los resultados deben interpretarse con cuidado y se asegura mediante pruebas

farmacológicas. El análisis se inicia con la recolección de 5 a 200 g de muestra vegetal, seca y molida, seguidamente se elige el método de extracción y separación, para finalizar con la identificación cualitativa de los componentes de interés.

2.4. Extracción soxhlet

Se utilizan para fitoquímicos no volátiles que tienen solubilidad limitada, se intensifica la reacción con el disolvente a través del calor. El disolvente se hierve en un recipiente de modo que el vapor generado pasa a la parte superior y luego se licuan mediante el uso de un condensador. El disolvente pasada través de varios ciclos y cada vez logra extraer más y más del fitoquímico (GONZÁLEZ y VALENCIA, 2014).

2.5. Cromatografía en capa fina

Para este proceso se considera una fase estacionaria y está formado por una capa absorbente mantenido sobre una placa o soporte, el material de este puede ser vidrio, aluminio u otro. Para el proceso se utiliza una placa cromatográfica inmersa verticalmente a la misma que se le considera como la fase estacionaria polar (generalmente es sílica gel) esta está adherida a una superficie sólida. La placa se debe apoyar sobre un recipiente que tenga la fase líquida o móvil, aproximadamente 1 cm que se considera entre la base de la placa y la muestra (GONZÁLEZ y VALENCIA, 2014). Su costo es bajo y se puede realizar poca muestra, en la actualidad es una técnica ampliamente utilizada en productos naturales, debido a que es un método analítico práctico y eficiente,

permitiendo identificar de forma rápida los componentes presentes en la muestra (PALACIOS, 2000).

Según SUÁREZ (2015), el factor de retención (R_f) es definido como la movilidad relativa la misma que considera la relación entre la etapa recorrida por el compuesto en el disolvente evaluado, es un valor constante para cada compuesto el cálculo se detalla a continuación:

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por el compuesto}}{\text{Distancia recorrida por el disolvente}}$$

2.6. Polifenoles totales

Los compuestos fenólicos son los productos derivados de la vía del shikimato y la del acetato, es un grupo amplio de metabolitos secundarios con actividad antioxidante. Para la cuantificación de polifenoles totales el más utilizado es el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, el cual se fundamenta en su carácter reductor. Este análisis es complementario al método cromatográfico y es utilizado para la evaluar fenoles totales en productos naturales (SUÁREZ, 2015). Casi todos los fenoles poseen como estructura básica 3 anillos 2 con centros aromáticos (anillos A y B) y uno heterociclo oxigenado central (anillo C) (estructura de los flavonoides) y están típicamente conjugados a azúcares. Los fenoles se clasifican en seis sub grupos que son: Flavonoides, isoflavonas, antocianinas flavonas, flavanonas, y catequinas (GUTIÉRREZ, 2002).

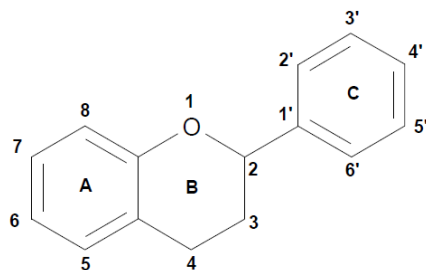


Figura 3. Estructura básica de los flavonoides.

Fuente: CADENA y HERRERA (2008).

Los flavonoides, como el flavan-3-ols (\pm)-catequina, (-)-epicatequina, galactocatequina y (-)-epigallocatequina, constituyen los monómeros de los taninos condensados, compuestos fácilmente hidrolizables y tienen alto peso molecular y son insolubles en solventes orgánicos acuosos (CADENA y HERRERA, 2008).

2.7. Antocianinas

Se considera a las antocianinas como una subclase de los flavonoides y son denominados como flavonoides de color azul, será más intenso cuando aumenta los hidroxilos del anillo fenólico y cuando se introduce de metoxilos se provoca el cambio de color a rojo (GARZÓN, 2008). Según BADUI (2006) las antocianinas están en el grupo de los flavonoides que son compuestos no nitrogenados presentes en vegetales, están distribuidos ampliamente en la naturaleza, se han identificado 300 de estos compuestos, los mismos que pueden hacer variar el color desde incoloro a púrpura.

2.7.1. Estructura y color de las antocianinas

Son glucósidos de antocianidinas, están compuestos por dos anillos aromáticos A y B unidos por una cadena de 3 C, cuando el anillo B varía dan como resultado las 6 antocianidinas (Figura 4 y Cuadro 1).

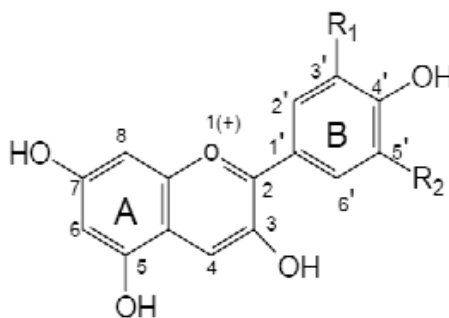


Figura 4. Estructura de la antocianina. Fuente: GARZÓN (2008).

Cuadro 1. Antocianinas y las longitudes de onda.

Aglicona	Sustitución		$\lambda_{m\{ax}$ (nm) espectro visible
	R1	R2	
Pelargonidina	H	H	494 (naranja)
Cianidina	OH	H	506 (naranja-rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (azul-rojo)
Peonidina	OCH3	H	506 (naranja-rojo)
Petunidina	OCH3	OH	508 (azul-rojo)
Malvidina	OCH3	OCH3	510 (azul-rojo)

Fuente: GARZÓN (2008).

2.7.2. Factores que determinan el color y la estabilidad

Según GARZÓN (2008), la estabilidad del color es afectado por factores como: estructura química, existencia de oxígeno y concentración de ácido ascórbico y actividad de agua.

- **Efecto del pH:** El núcleo de flavilo es deficiente en electrones y es muy reactivo, lo que hace muy susceptible a cambios de pH. Las diferentes coloraciones se deben al cambio del catión flavilo a formas secundarias de las antocianinas en medios acuosos, (BADUI, 2006). En ese medio a pH inferior a 2, el 100% del pigmento está en su forma más estable (AH^+) y el color que se aprecia es rojo intenso. Cuando el pH sube se produce una pérdida del protón, lo que provoca un equilibrio entre la pseudobase (B) y la forma chalcona (C). Si el pH supera el valor de 7 o la neutralidad aparecen las formas quinoidales (A, A-) generando un color púrpura y son poco estables ya que se degradan de manera rápida por el mecanismo de oxidación con el aire (GARZÓN, 2008).
- **Efecto de la temperatura:** Aumentos de temperatura provocan el deterioro o pérdida del azúcar glicosilante de la posición 3 de la molécula generando la formación de chalconas incoloras (GARZÓN, 2008).

2.8. Generalidades de la capacidad antioxidante

Según CASTAÑEDA *et al.* (2008), un antioxidante viene a ser una molécula que tiene la capacidad de retardar o prevenir la oxidación de otra molécula, siempre y cuando una de ellas cede electrones a la otra. Así mismo, si gana electrones se reduce caso contrario se oxida. En las catálisis de

oxidación, algunas veces pueden generar radicales libres, que son especies muy reactivas y pueden provocar daños al organismo. La determinación de la actividad antioxidante se fundamenta de 02 muestras de pruebas cuyos mecanismos de reacción son: El primero HAT, comprende reacciones de transferencia de átomos de hidrógeno; y el segundo SET, considera catálisis de paso de un solo electrón el mismo que tiene la capacidad de reducir algún compuesto, considerando a los metales, carbonilos y otros radicales. Las pruebas tipo SET consideran reacciones oxido reducción, por otro lado las reacciones tipo HAT, se encargan en controlar la cinética de la reacción. Existen métodos de análisis que aplican muy comúnmente estos dos tipos de mecanismos como es en el caso del DPPH y el ABTS⁰⁺ (CADENA y HERRERA, 2008).

2.8.1. Prueba de actividad antioxidante sobre el radical 2,2-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH)

Este método es sencillo, práctico y requiere un tiempo corto, se fundamenta en la medida de la eliminación de radicales libres presentes en el DPPH por parte de los compuestos antioxidantes; el reactivo es de color púrpura. El radical DPPH es absorbido a una longitud de onda de 517 nm y la actividad antioxidante se determina midiendo el descenso en la absorbancia, y se considera que a mayor capacidad antioxidante de la muestra, menor será su valor encontrado (SUÁREZ, 2015). En la prueba de DPPH la reacción que ocurre es mediante el mecanismo de transferencia de átomos de hidrógeno. La reacción ocurre por un mecanismo tipo SET, porque la velocidad de reacción es

un proceso rápido en la que sucede el paso de electrones desde el anión peróxido hacia el DPPH, ya que la abstracción del átomo de hidrógeno del ArOH neutral por parte del DPPH provoca una vía complementaria bien pausada (FOTI *et al.*, 2004). La eliminación del radical DPPH por parte del antioxidantes se puede calcular midiendo el atrapamiento o ligazón del radical por parte del antioxidante, en este caso el resultado se evidencia como porcentaje de DPPH remanente (%) luego transcurrido la catálisis también se puede determinar la concentración efectiva media IC_{50} (CADENA y HERRERA, 2008).

2.8.2. Ensayo de actividad antioxidante sobre el radical 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazoline-6-ácido sulfónico) (ABTS⁰⁺)

Es un método muy utilizado para el análisis de muestras biológicas, extractos de plantas con naturaleza hidrófila o lipófila o para compuestos puros. El reactivo químico colorante es el ABTS denominado 2,2-azinobis (3-ethylbenzotiazolina-6-ácido sulfónico), el color que presenta esta entre un azul/verde, soluble en agua y químicamente estable. La prueba se fundamenta de la estimulación de metamioglobina con agua oxigenada en existencia de ABTS para hacer el radical catiónico, en existencia y no existencia de antioxidantes (SUÁREZ, 2015). El ABTS es un radical muy recomendado para realizar análisis de compuestos coloreados, como se sabe las antocianinas llega a presentar una máxima absorbancia muy cerca a región infrarroja (734 nm), punto donde se reduce las posibles interferencias de otros compuestos coloreados como productos de reacciones secundarias generadas (KUSKOSKI *et al.*, 2004).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

Se desarrollaron en las instalaciones de los laboratorios de Nutrición Animal y el Centro de Investigación y Desarrollo Biotecnológico de la Amazonía (CIDBAM), de la “Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS)” localizada en el distrito de Rupa Rupa, provincia de Leoncio Prado, región Huánuco; a una altitud de 660 m.s.n.m. cuyas coordenadas son 09°17'08” de latitud Sur, a 75°59'52” de latitud Oeste; el clima corresponde a trópico húmedo con humedad relativa promedio de 84% y temperatura promedio anual de 24°C.

3.2. Materia prima

Las hojas y tallo de ajos sacha (*Mansoa alliacea*), se obtuvieron de la zona de Brisas del Huallaga, cuyas coordenadas geográficas fueron: (DATUM UNT WGS84 ZONA 18) 389670 mE – 8970806 mN (punto inicial), y 3890819 mN (punto final), distrito de Rupa Rupa.

3.3. Materiales y equipos de laboratorio y/o proceso, reactivos y solventes

3.3.1. Materiales de laboratorio y/o proceso

“Matraces erlenmeyer de 250 mL; vasos de precipitación de 50, 100, 250 y 1000 mL; pipetas graduadas de 5 y 10 mL; tubos de ensayo 10 mL; fiolas de 10, 25, 50, 100, 500 y 1000 mL; probetas graduadas de 10, 100, 250 y 500 mL; frascos ámbar de 100 mL; crisoles de porcelana de 50 mL; micropipetas 0 –

10, 10 – 100, 20 – 200 y 100 – 1000 μL ; cubetas de poliestireno (1 cm x 1 cm x 4,5 cm); tips, (1000 y 200 μL); microtubos (1,5 – 2 mL)”; papel filtro Whatman N° 4, bolsas de polipropileno de alta densidad, embudo, espátulas y gradillas.

3.3.2. Equipos de laboratorio y/o proceso

Espectrofotómetro Genesys 6 (Thermo Electrón Corporation); Balanza analítica de precisión modelo ESJ-210-4, con capacidad 200g; Balanza modelo Adventurer Pro AV114 (OHAUS) capacidad 110 g; Estufa modelo ODH6-9240A (marca TOMOS); Congelador FFV-2065FW -20°C (Frigidaire); Refrigerador LG modelo GR-5392QLC (Corea); Desionizador modelo D 7035 (Barnstead); Agitador magnético modelo 625 standard (VWR™ hotplate/stirrer); homogenizador modelo VORTEX GENIE-2 (Scientific industries); Centrifuga modelo MIKRO 22R (Hettich); pH-metro (Mettler Toledo) pH 0 – 14, T° 0-100°C SN 8513902; Baño maría, modelo YCW-010E- USA; aparato Soxhlet con serie para 6 frascos de 250 mL 230 VAC 50 – 60 Hz; Refractómetro y Bureta automática.

3.3.3. Reactivos y solventes

Agua destilada desionizada ($\text{H}_2\text{O}_{\text{dd}}$), 1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) 90% pureza (Sigma Chemical); 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazoline-6ácido sulfónico) (ABTS), 98% pureza (Sigma Chemical); persulfato de Potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) p.a. (Sigma Chemical); Folin-Ciocalteu (Merck. Germany), carbonato de sodio (Na_2CO_3) p.a. (ISSO, Scharlau); ácido gálico ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$) al 98,1% (Sigma Aldrich), Hexano (C_6H_{14}) p.a. (Merck); ácido sulfúricos 95-97% p.a. (Merck); hidróxido de sodio (NaOH) en lentejas p.a. (Merck); ácido sulfúrico (H_2SO_4) 50%;

acetona (C₃H₆O); diclorometano (CH₂Cl₂), etanol 96° (C₂H₆O), tricloruro (FeCl₃), ácido clorhídrico (HCl), metanol (CH₃OH), Silicagel (60-200 Mesh).

3.4. Métodos de análisis

Análisis químico proximal: Humedad, método 23.003 .Proteína, método 991.29 Grasa, método 935,60. Fibra, método 930.20 y cenizas, método 942.50 de calcinación directa AOAC (1997). Carbohidratos, se determinaron por diferencia de los demás componentes del análisis químico proximal (HART, 1991).

Tamizaje fitoquímico: Se siguió el métodos propuesto por LOCK DE UGAZ (1994), para productos naturales.

Análisis de polifenoles totales: Fue mediante el método espectrofotómetro propuesto por FOLIN CIOCALTEU *et al.* (1927) reportado por SYMONOWICZ *et al.* (2012) y SULTANA *et al.* (2012).

Cuantificación de antocianina: Mediante la prueba del pH diferencial citado por ZAPATA *et al.* (2014).

Determinación de la capacidad antioxidante:

- **Capacidad de inhibir radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH)**, analizado por espectrofotómetro UV/Visible a 517 nm el método fue propuesto por BRAND *et al.* (1995) con modificaciones de SCHERER y GODOY (2009).
- **Capacidad de inhibir radical libre 2,2-azinobis(3-etilbenzotiazoline-6-ácido sulfónico) (ABTS⁰⁺)**, fue siguiendo el protocolo propuesto por RE *et al.* (1999).

3.5. Metodología experimental

3.5.1. Caracterización químico proximal

Fue realizado en las hojas y tallo de ajos sacha, siguiendo los métodos para humedad, proteína, grasa, fibra, ceniza y carbohidratos.

3.5.2. Obtención de las muestras de hojas y tallo de ajos sacha

En la Figura 5 se presenta el diagrama de la obtención de las hojas y tallos de ajo sacha, la cual se describe a continuación:

- **Recolección:** Se colecto hojas y tallo en buen estado que no estuvieran marchitas ni secas las fueron colocadas en bolsas de polietileno y posteriormente fueron transportadas hasta el laboratorio.
- **Secado:** Las hojas y tallos fueron secados en una estufa a 40°C/ 24 h.
- **Molido:** Se uso mortero y pilón donde se molió hasta reducir el tamaño de las hojas y tallos por separado.
- **Desengrasado:** Se realizó siguiendo el protocolo de soxhlet (NÚÑEZ, 2008), para lo cual fue necesario pesar 10 g de muestra (molida) la cual se envolvió un papel filtro y se colocó dentro del tubo de extracción, se adicionó 250 mL de hexano dentro del matraz de extracción, para ser llevado al sistema soxhlet, se dejó extraer la grasa de la muestra con el solvente por un tiempo de 5 a 6 h, considerando un reflujo del solvente contante, una vez terminada el tiempo de extracción se retiró el papel de filtro que contiene la muestra y se procedió al secado en una estufa a temperatura de 45°C/15 min para secar la muestra y eliminar el solvente.

- **Envasado:** Las muestras de hojas y tallos sin grasa fueron colocadas en bolsas de polietileno, rotuladas y protegidas con papel aluminio para evitar el paso de luz.
- **Almacenado:** las muestras de hojas y tallo molido y desgrasado fueron almacenados en refrigeración hasta su análisis.
- **Extracto hidroalcohólico:** Se pesó 5 g de muestra y se colocó en un recipiente de vidrio color ámbar de 100 mL, se pipeteo 50 mL de la solución hidroalcohólico (50/50 V/V), se cubrió completamente cerrado luego se dejó macerar por 72 h, durante este tiempo tuvo una agitación constante, cumplido el tiempo se filtró y se guardó en refrigeración hasta su análisis.

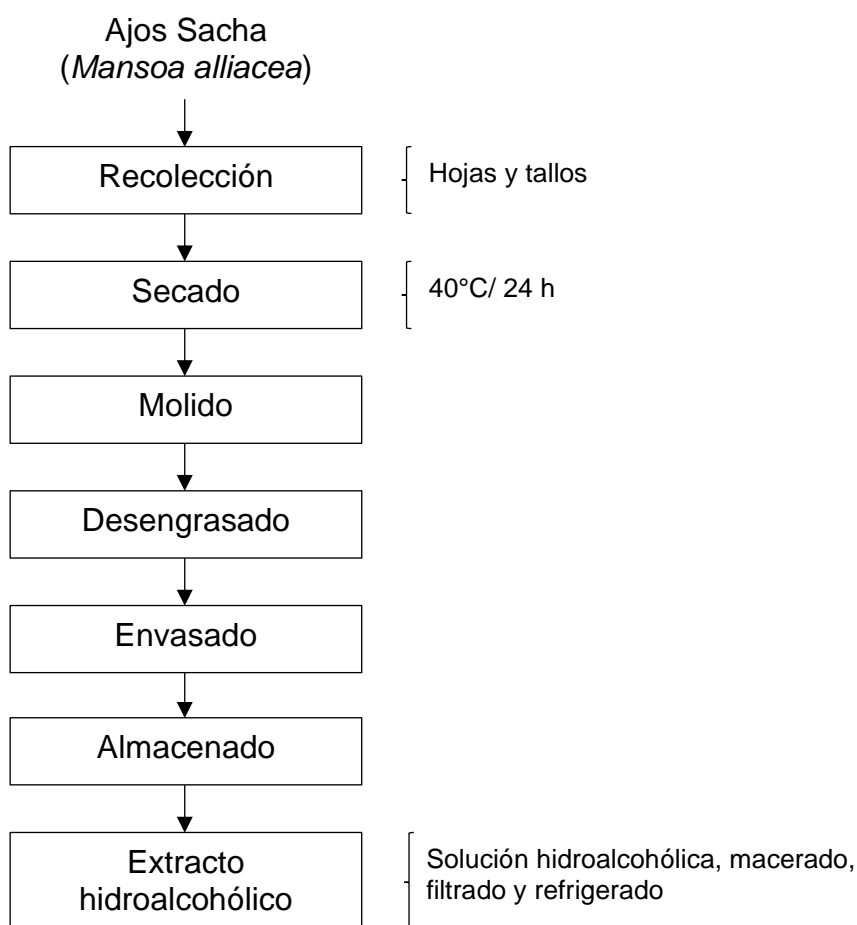


Figura 5. Diagrama para la obtención de las hojas y tallo de ajos sachá.

3.5.3. Caracterización fitoquímica de las hojas y tallo de ajos sachá

3.5.3.1. Ensayo de solubilidad

Para esta prueba utilizó solventes de polaridad creciente como el n-hexano, acetona, benceno, cloroformo, metanol, etanol y agua. Los extractos fueron hojas y tallo de ajos sachá preparados en el ítem (3.5.2). La marcha fitoquímica se desarrolló siguiendo el protocolo descrito en el ítem Métodos de análisis – Tamizaje fitoquímico (3.4).

3.5.3.2. Ensayos cromatográficos

Para esta prueba se usó como efluente metanol y como fase estacionaria una placa de sílica. Se utilizó una lámpara con luz fluorescente a UV/V 254 y 365 nm.

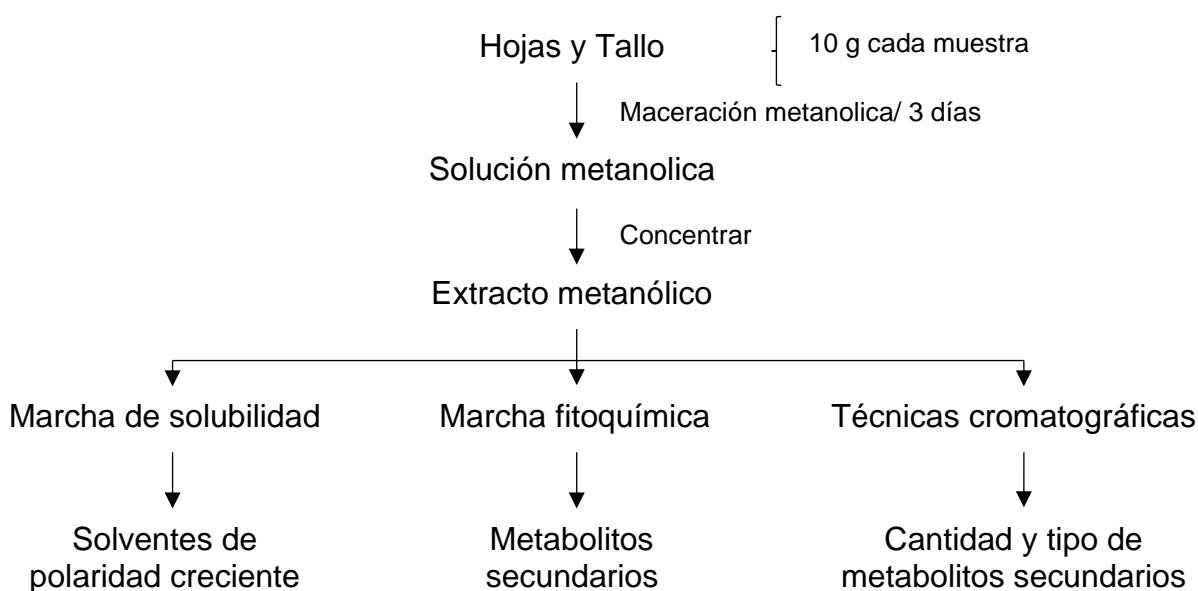


Figura 6. Esquema para la marcha fitoquímica en hojas y tallos de ajos sachá

3.5.4. Cuantificación de polifenoles totales en hojas y tallo de ajos sacha

3.5.4.1. Preparación de la curva estándar

Para el análisis se preparó una curva estándar o patrón partiendo de una solución de 1 mg/mL de ácido gálico, a partir de esta se prepararon concentraciones entre 0,8, 0,6, 0,4, 0,2, 0,05 y 0,01 mg/mL y fue por triplicado para cada una. En un tubo se adicionó 1580 μ L de agua desionizada y 20 μ L de muestra control y estándares, seguidamente se agitó y se añadió 100 μ L de la solución de fenol folin ciocalteu, se incubó por 60 segundos; seguidamente se adicionó 300 μ L de Na_2CO_3 al 20% luego se llevó a incubar por 2 h a temperatura ambiente.

La lectura se ejecutó en el espectrofotómetro UV/VIS a 700 nm, con los resultados se planteó una gráfica considerando la concentración de los estándares vs la absorbancia, con la finalidad de definir la ecuación y lograr obtener el coeficiente de correlación.

3.5.4.2. Cuantificación de polifenoles totales

En el análisis se partió del extracto hidroalcohólico que tenía una concentración de 100 mg/mL y se ejecutó la dilución de labor a 10 mg/mL de la cual se tomaron tres repeticiones por tratamiento, para desarrollar la reacción en cada tubo de ensayo se colocaron 1580 μ L de agua desionizada, 20 μ L de extracto diluido (10 mg/mL), 100 μ L de fenol folin ciocalteu y 300 μ L de Na_2CO_3 al 20%, luego se dejó incubar por 2 horas en oscuridad a temperatura ambiente,

la lectura se realizó en un espectrofotómetro UV/VIS considerando una longitud de 700 nm. Los resultados de absorbancias obtenidos fueron remplazados en la ecuación de la curva estándar y fueron expresados en equivalente de ácido gálico (g EAG/100 g).

Para resultados de polifenoles totales obtenidos fueron analizados estadísticamente haciendo uso del diseño completo al azar (DCA) propuesto por MENDIBURU (2005); los tratamientos que presentaron diferencia estadística fueron sometidos al ensayo de Tukey $p < 0,05$, el cálculo se realizó mediante el sistema INFOSTAT versión libre.

3.5.5. Cuantificación de antocianinas en las hojas y tallo de ajos sacha

La concentración de antocianinas monoméricas se determinó por el método de pH-diferencial (ZAPATA *et al.*, 2014). Para ello se desarrolló dos buffers la cual es descrito a continuación:

Buffer pH = 1: Se pesó 1,86 g de cloruro de potasio (KCl) y se adiciono 980 mL de agua desionizada y se ajustó al pH indicado con ácido clorhídrico (HCl).

Buffer pH = 4,5: Se pesó 54,43 g de acetato de sodio ($C_2H_3NaO_2$) y se adicionó 970 mL de agua desionizada y con ácido clorhídrico (HCl) se ajustó al pH de 4,5.

Para la cuantificación de antocianinas se usó la esencia hidroalcohólico 100 mg/mL de hojas y tallos, se trabajó con tres repeticiones por tratamiento. En una cubeta se adicionó 200 μ L de extracto de cada muestra y se

adicionó 800 μ L del buffer para ambos pH (1 y 4,5). Se debe tener en cuenta que la desigualdad entre la absorbancia a la longitud de onda de máxima (510 nm) tienen que ser proporcional al contenido de antocianinas. La corrección de la medida se realizó debido a la presencia de compuestos degradados u otras sustancias que generaron interferencia, la lectura de la absorbancia se realizó a 700 nm. La aglomeración de las antocianinas se manifestó como mg cianidina-3-glucósido/L de esencia considerando la siguiente ecuación:

$$\Delta A = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}=1} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}=4,5} \quad \text{Ecuación 1}$$

$$AT \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{(\Delta A)(PM)(FD)(1000)}{(\varepsilon)(l)} \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde: AT es antocianinas totales, ΔA es el cambio de absorbancia, PM es la masa molecular para cianidina-3-glucósido (44932), FD es el factor de dilución, ε es el coeficiente de extinción molar para cianidina-3-glucósido (26900), l es la longitud de paso de celda (1) y 1000 es el factor de conversión de gramos a miligramos.

- **Análisis estadístico:** Los resultados de la medición de antocianinas se realizaron estadísticamente considerando el diseño completo al azar (DCA), la cual tuvo desigualdad estadística se fijó en el ensayo Tukey $p < 0,05$, el cálculo fue mediante el sistema SAS versión 0,9 (español).

3.5.6. Determinación de la capacidad antioxidante en las hojas y tallo de ajos sachá

3.5.6.1. Capacidad de inhibir radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH)

Para esta prueba se desarrolló la preparación de 10 mL de solución provisión de DPPH a 1mM, la solución se debe agitar bien hasta alcanzar la solubilización completa, una vez lograda la solubilización se almacenó la solución a 4°C en ambiente sin mucha luz. Con la solución stock se preparó 50 mL de DPPH a 100 µM en metanol al 99% de pureza. Las concentraciones del extracto metanólico de las hojas fueron 100, 300, 500, 700 µg/mL y tallo 100, 300, 500, 700 µg/mL de ajos sachá. La reacción se realizó en una cubeta donde se añadió 25 µL de la solución de trabajo y 975 µL de solución DPPH, la lectura fue realizada en un espectrofotómetro de UV/VIS considerando una longitud de 517 nm con un tiempo de 30 s/ 10 min. Con los resultados se procedió a calcular el porcentaje de inhibición:

$$\% \text{Inhibición DPPH} = \left[\frac{(\text{Abs. control} - \text{Abs. muestra})}{\text{Abs. control}} \right] \times 100$$

Dónde: Abs. control es la absorbancia del control y Abs. muestra es la absorbancia de la muestra en 10 min. Con el porcentaje de inhibición se procedió a calcular el IC₅₀ (mg/mL), se preparó una gráfica con los valores del porcentaje de inhibición en función a la concentración de cada esencia y se calculó la concentración media efectiva a la que se le denominó coeficiente de inhibición media (IC₅₀).

- **Análisis estadístico:** Para el cálculo se utilizó el diseño completo al azar (DCA), la diferencia estadística significativa fue calculado mediante la prueba de Tukey $p < 0,05$, utilizando la herramienta estadística SAS versión 0,9 (español). Se utilizó la Correlación de Pearson (valor R^2) para determinar la correlación entre la capacidad antioxidante ($1/IC_{50}$) y el contenido de polifenoles (ABBE y ISMAIL, 2010).

3.5.6.2. Capacidad de inhibir radical libre 2,2-azinobis(3-etilbenzotiazoline-6-ácido sulfónico) (ABTS⁰⁺)

El radical ABTS⁰⁺ se preparó haciendo reaccionar ABTS (7 mM) con el persulfato potásico (concentración final 140 mM) para ello se incubó a temperatura ambiente y en un ambiente oscuro por 16 h; el radical ABTS⁰⁺ formado fue diluido con etanol al 96% para obtener un valor de absorbancia comprendida entre 0,7 a 1,2. Para la inhibición del radical ABTS⁰⁺ se prepararon soluciones de trabajo para las hojas fueron 100, 300, 500, 700 $\mu\text{g/mL}$ y para el tallo 100, 300, 500, 700 $\mu\text{g/mL}$ de ajos sachá. En una cubeta se adicionó 10 μL de muestra y 990 μL de solución de ABTS⁰⁺, la degradación del color verde fue debido a la inhibición de los radicales libres, la lectura de las absorbancias fue hecho con un espectrofotómetro UV/VIS a 734 nm cada 30 s/ 5 min; el porcentaje de inhibición se determinó siguiendo la expresión siguiente:

$$\% \text{Inhibición ABTS}^{0+} = \left[\frac{(\text{Abs. control} - \text{Abs. muestra})}{\text{Abs. control}} \right] \times 100$$

Dónde: Abs. control es la absorbancia del control y Abs. muestra es la absorbancia de la muestra en 5 min. Con el porcentaje de inhibición se calculó

la concentración media efectiva IC_{50} (mg/mL), para ello se graficó los valores del porcentaje de inhibición con la concentración de cada esencia.

Análisis estadístico: Los valores obtenidos de la capacidad de inhibir (IC_{50}) al radical $ABTS^{0+}$ fueron sometidos a un análisis estadístico considerando el diseño completo al azar (DCA) (MENDIBURU, 2005), para los tratamientos que presentaron desigualdad significativa se usó el ensayo de Tukey $p < 0,05$, todo se realizó haciendo uso del programa SAS versión 0,9 (español).

IV. RESULTADO Y DISCUSION

4.1. Caracterización químico proximal de las hojas y tallo de ajos sacha.

Del análisis químico proximal los resultados (humedad, proteína, grasa, fibra, ceniza y carbohidratos) se presentan en el Cuadro 2. Con respecto a la humedad hubo diferencia estadística significativa (A – I) entre las hojas y tallos, según Tukey ($P \leq 0,05$) (A - Ia), donde se puede apreciar que la humedad de la hoja del ajo sacha tiene mayor porcentaje ($62,79 \pm 0,48\%$), a comparación del tallo ($51,50 \pm 0,49\%$). Según CALERO (2012), menciona que la humedad es el agua que está presente en todos los cuerpos vivos, también cuantifico la humedad de la hoja madura del ajo sacha donde reporto en valor 75,60 %.

El contenido de proteínas en el ajo sacha (Cuadro 2) mostró estadísticamente una diferencia significativa (A – II, A - III), aplicando la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$) (A – Ila, A - IIIa), la hoja del ajo sacha en base húmeda (BH) tuvo el mayor contenido de proteína ($2,04 \pm 0,00\%$) en comparación del tallo en base húmeda (BH) ($0,92 \pm 0,01\%$). En cuanto al contenido de grasa en las muestras analizadas estadísticamente se evidenció diferencia significativa (A – IV, A - V) y según Tukey ($P \leq 0,05$) (A – IVa, A - Va), se puede apreciar que el tallo del ajo sacha analizado en base húmeda (BH) tiene menor porcentaje ($0,67 \pm 0,02\%$) a diferencia de la hoja analizada en base húmeda ($3,36 \pm 0,04\%$), CALERO (2012) realizó una evaluación del contenido de grasa de las raíces del

ajos sachas donde obtuvo como resultado un valor de 0,53% dicho valor se aproxima al resultado obtenido en el tallo.

El contenido de fibra presente en las muestras (Cuadro 2) presentó desigualdad estadística relevante (A – VI, A – VII), por la comparación de medias por Tukey ($P \leq 0,05$) (A – VIa, A - VIIa), el mayor promedio de fibra se puede apreciar en la parte leñosa del ajo sachas que es el tallo ($20,94 \pm 0,58\%$) Según GARCIA *et. al.*, (2008) la fibra es la parte comestible de las plantas, resiste la digestión y es absorbido en el intestino delgado humano, además está formado por un conjunto de compuestos químicos como moléculas de polisacáridos, oligosacáridos y lignina.

En el contenido de ceniza presentado en el Cuadro 2, tuvo desigualdad estadística altamente relevante entre los distintos tratamientos (A – VIII, A - IX), según Tukey ($P \leq 0,05$) (A – VIIIa, A – IXa), se aprecia que el tallo tiene mayor contenido de ceniza por la concentración de compuestos inorgánicos ($4,87 \pm 0,03\%$) de manera similar CALERO (2012) cuantificó cenizas e hojas tiernas de ajos sachas donde obtuvo el valor de 3,08%. Según PINZON (2010) los carbohidratos o también denominados glúcidos son moléculas orgánicas formados por carbono, hidrógeno y oxígeno, al momento de ser ingeridos son la fuente de energía. Para los carbohidratos también se encontró diferencia estadística (A – X, A - XI), analizando los resultados por la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$) (A – Xa, A – XIa), en las hojas se encontró ($21,24 \pm 0,48\%$) y el tallo ($21,10 \pm 0,94\%$) no hubo diferencia estadística, al respecto CALERO (2012) obtuvo un valor cercano al resultado obtenido que fue 25,47% para las raíces del ajo de monte

Cuadro 2. Resultados del análisis químico proximal en hojas y tallos de ajos sacha.

Análisis Químico proximal	Partes de la planta analizadas			
	Hoja		Tallo	
	BH ¹	BS ²	BH ¹	BS ²
Humedad	62,79 ± 0,48 ^a	-	51,50 ± 0,49 ^b	-
Proteína (%) (N x 6,25)	2,04 ± 0,00 ^a	5,47 ± 0,08 ^a	0,92 ± 0,01 ^b	1,90 ± 0,04 ^b
Grasa (%)	3,36 ± 0,04 ^a	9,02 ± 0,16 ^a	0,67 ± 0,02 ^b	1,94 ± 0,03 ^b
Fibra (%)	9,08 ± 0,12 ^b	24,42 ± 0,45 ^b	20,94 ± 0,58 ^a	43,20 ± 1,52 ^a
Ceniza (%)	1,49 ± 0,04 ^b	4,01 ± 0,06 ^b	4,87 ± 0,03 ^a	10,05 ± 0,05 ^a
Carbohidratos (%) ³	21,24 ± 0,48 ^a	57,07 ± 0,66 ^a	21,10 ± 0,94 ^a	43,48 ± 1,56 ^b

“Los valores representan (promedio ± SEM) provienen de tres repeticiones, valores de una misma columna con superíndices distintos, indica diferencia estadística (p<0,05).

¹BH:% Base húmeda, ²BS% Base seca, ³ Por diferencia”

4.2. Caracterización fitoquímica de las hojas y tallo de ajos sachá

4.2.1. Ensayo de solubilidad

Cuadro 3. Resultados de solubilidad del extracto de hoja y tallo de ajos sachá.

Solventes	Ajos sachá	
	Hojas	Tallo
Éter de petróleo	++	+
Benceno	++	+
Cloroformo	++	+
Acetona	-	-
Etanol	++	++
Metanol	+++	+++
Agua destilada	+++	++

(-) Ausente; (+) Poca cantidad; (++) Regular cantidad; (+++) Abundante cantidad.

La solubilidad en las muestras de tallo y hojas del ajo sachá se muestran en el Cuadro 3; con solventes de polaridad creciente, siendo el metanol un solvente polar, según los resultados se puede evidenciar que los compuestos químicos en su matriz tienen un sistema de conducta polar, concordando con la propuesta de TSAI y ELMASTAS (2007). Según LOPEZ y PADRO (2003) el metanol es un solvente que tiene la capacidad de extraer compuestos antioxidantes.

4.2.2. Marcha fitoquímica

Los resultados de la marcha fitoquímica a partir del extracto metanólico se presenta en el Cuadro 4, como es sabido un solvente ayuda a extraer compuestos que tienen propiedades antioxidantes, porque un solvente provoca daño al tejido especialmente a nivel de la pared celular, permitiendo así la salida de componentes intracelulares (LOPEZ, y PADRO, 2003). En el Cuadro se puede apreciar, regular (++) y poca cantidad (+) del compuesto de taninos en las hojas y tallo del ajo sacha, CHANG *et. al.*, (2013) caracterizaron fitoquímicamente los extractos de hojas y tallos de *Solunum nigrum* L. que crece en Cuba y encontró poca cantidad (+) de taninos en los dos extractos. Según los resultados de la marcha fitoquímica los compuestos de los alcaloides, quinonas y aminoácidos libres dieron ausente (-) en las hojas y tallo del ajo sacha, MONSERRATE (2014) también realizó el tamizaje fitoquímico a las hojas del ajo sacha (*Mansoa alliacea*) de origen ecuatoriano donde también dio ausente (-) en los resultados en los compuestos ya mencionados (Alcaloides, Quinonas y Aminoácidos libres).

En la caracterización fitoquímica se puede observar la abundante (+++) y regular (++) cantidad de glicósidos presentes en las hojas y tallos respectivamente del ajo sacha, en un estudio realizado de la caracterización fitoquímica a las hojas, corteza del tallo y la raíz del árbol medicinal Jobo (*Spondias mombin* L.) de Cuba encontraron abundante (+++) cantidad de glicósidos en extractos alcohólicos del mencionado árbol (PEREZ *et. al.*, 2013).

Cuadro 4. Resultados de la marcha fitoquímica de *Mansoa alliacea*.

Tipo de reacción	Ajos Sacha		Compuestos
	Hojas	Tallo	
Gelatina	++	+	Taninos
Cloruro férrico	+	+	Fenoles
Mayer	-	-	Alcaloides
NaOH	-	-	Quinonas
Molish	+++	++	Glicosidos
Dragendorf	++	+	Alcaloides
Ninhidrina	-	-	Aa libres

(-) Ausente; (+) Poca cantidad; (++) Regular cantidad; (+++) Abundante cantidad.

4.2.3. Ensayos cromatográficos

Con respecto al análisis cromatográfico efectuado (A - XIX) al extracto metanólico en hojas y tallos de ajos sachá, se determinó la fase móvil para ello se utilizó como mejor efluente metanol (CH₃OH), la detección de compuestos fenólicos se debe a la fluorescencia que desarrollan en presencia de luz ultravioleta. En la cromatografía se observaron 2 manchas de color pardo oscuro y amarillo fluorescente según RAVAROCCI y CARRASCO (2010) afirman que el color pardo oscuro indicaría presencia de cuerpos fenólicos y el color ambarino es por la influencia a fenoles y/o flavonoides.

4.3. Cuantificación de polifenoles totales en las hojas y tallo de ajos sacha

4.3.1. Determinación de la curva estándar

Para el análisis de polifenoles totales previamente se preparó una curva patrón, para lo cual se utilizó ácido gálico con diferentes concentraciones las mismas que estuvieron comprendidas en el rango de 0,8 a 0,01 mg/mL (A – XII) (figura siguiente).

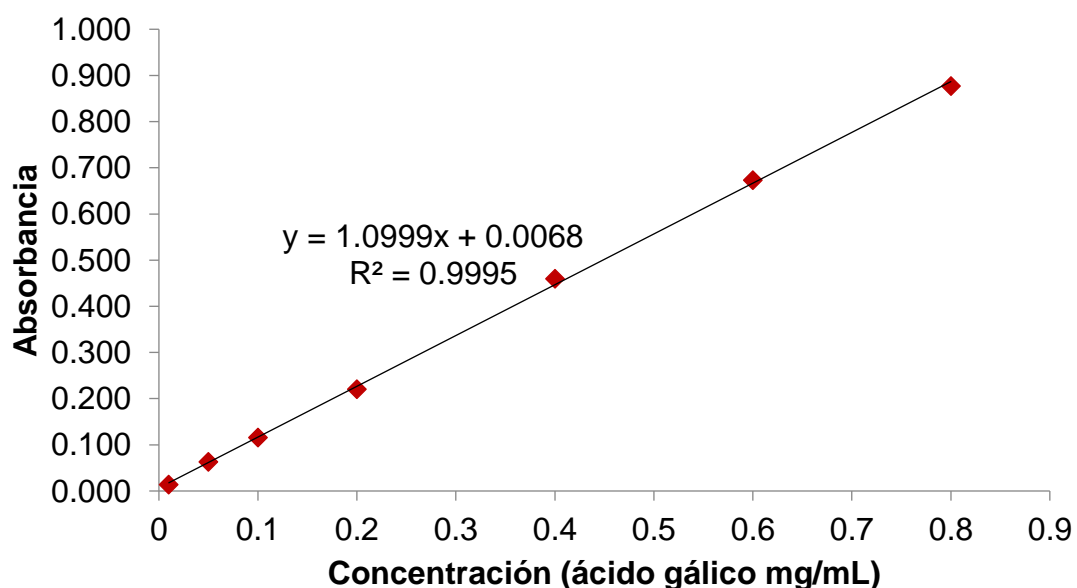


Figura 7. Curva patrón de ácido gálico para la cuantificación de polifenoles totales.

La curva patrón fue preparado con ácido gálico químicamente puro y recomendados por el protocolo de análisis, según AQUINO *et al.* (1989) recomienda crear una curva de calibración con ácido gálico para el método de folin ciocalteu ya que este agregado es muy duradero y solo deja un 5% de su

valor después de dos semanas siempre y cuando se mantenga bien tapado y en condiciones de refrigeración. Por otro lado, la regresión obtenida entre la absorbancia y la concentración fue $R^2=0,9995$, la ecuación fue de primer orden con una correlación muy alta, lo que indica que la curva tuvo un ajuste bueno al modelo matemático, al respecto HERNÁNDEZ *et al.* (2006) indica un $R^2 = 0,9918$ es una correlación casi perfecta con una relación positiva.

4.3.2. Cuantificación de polifenoles totales

Los resultados de polifenoles totales en hojas y tallo del ajos sacha se exponen en el Cuadro 5 y Figura 8, donde el análisis estadístico (A - XIII) evidenció diferenciación relevante, según el ordenamiento de los promedios y la aplicación de la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$), se puede apreciar la superior capacidad de polifenoles totales, se encontraron en el AST $8,73 \pm 0,12$ g EAG/100 g y el menor estuvo en el ASH $18,57 \pm 0,64$ g EAG/100 g y según PATEL *et al.* (2013) reportó haber encontrado entre 1,58 y 16,2 mg EAG/g en diferentes partes de la planta *Mansoa alliaceae*, mientras que el contenido en las raíces en alto en comparación con las hojas, al respecto JURADO *et al.*, (2016) evaluó polifenoles totales en las esencias etanólicas de frutos de *Physalis peruviana* L. de la región Huánuco y obtuvo $149,3 \pm 1,62$ mg/Eq. ácido gálico/100g de fruto.

Cuadro 5. Resultados de polifenoles totales en las hojas y tallo de ajos sachá.

Muestras	Tratamientos	Polifenoles totales (g EAG/100 g)
Hojas	ASH	18,57±0,64 ^b
Tallo	AST	8,73±0,12 ^a

“Los datos representan (promedio±error estándar) del experimento (n=3) valores de una misma columna con superíndices diferentes son significativos ($p \leq 0,05$)”.

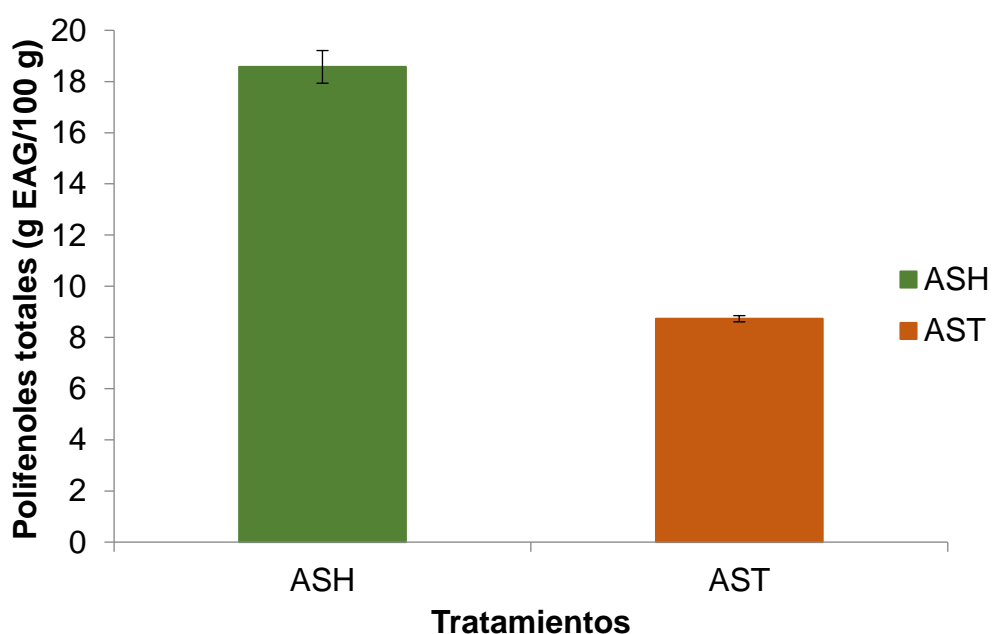


Figura 8. Percepción en capacidad de polifenoles totales en las hojas y tallo del ajos sachá.

4.4. Cuantificación de antocianinas en las hojas y tallo de ajos sachá

Los resultados del análisis de antocianinas en las muestras de hojas y tallo de ajos sachá se exponen en el Cuadro 6 y Figura 9, ejecutando la interpretación estadística (A - XIV) no se demostró diferenciación relevante, realizando la semejanza de los promedios en Tukey ($p \leq 0,05$). Las hojas (ASH) y tallo (AST) del ajo sachá no presentaron diferencia estadística $0,30 \pm 0,06$ y $0,27$

$\pm 0,04$ g EAG/100 g respectivamente, dichos valores son muy bajos porque en el tallo y la hoja predomina el color verde; los colores que van desde rojo a garzo de frutos, plantas y granos se responsabiliza ah antocianinas; que son caracterizados como pigmentos hidrosolubles (GARZÓN, 2008).

Cuadro 6. Resultados de antocianinas en las hojas y tallo de ajos sacha.

Muestras	Tratamientos	Antocianinas (g EAG/100 g)
Hojas	ASH	$0,30 \pm 0,06^a$
Tallo	AST	$0,27 \pm 0,04^a$

“Los datos representan (promedio \pm error estándar) del experimento (n=3) valores de una misma columna con superíndices diferentes son significativos ($p \leq 0,05$)”.

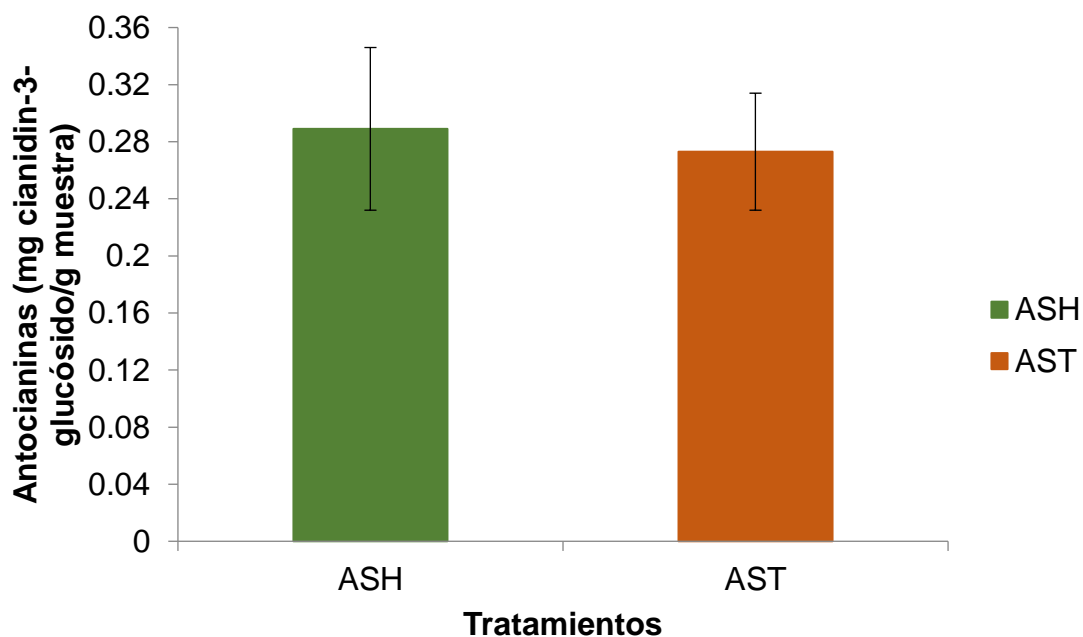


Figura 9. Percepción en capacidad de antocianinas en las hojas y tallo de ajos sacha.

4.5. Determinación de la capacidad antioxidante en las hojas y tallo de ajos sacha

4.5.1. Coeficiente de inhibición (IC₅₀) del radical 1,1-difenil-2- picrilhidrazil (DPPH)

Los productos de IC₅₀ en el radical DPPH en hojas y tallo del ajo sacha se muestran el Cuadro 7 y Figura 10, después de determino el análisis estadístico (A - XV) no se encontró desigualdad. Las hojas tuvieron $1,21 \pm 0,09$ mg/mL y el tallo de $1,17 \pm 0,15$ mg/mL. DOROTEO *et. al.*, (2013) realizó el estudio en la actividad antioxidante en radical DPPH en uña de gato peruana (*Uncaria tomentosa*) IC₅₀ $12,05 \pm 0,47$ µg extracto/mL.

Cuadro 7. Resultados del IC₅₀ en las hojas y tallo de ajos sacha frente al radical DPPH.

Muestras	Tratamientos	IC ₅₀ (mg/mL)
Hojas	ASH	$1,21 \pm 0,09^a$
Tallo	AST	$1,17 \pm 0,15^a$

“Los datos representan (promedio±error estándar) , los datos provienen de tres repeticiones, valores de una misma columna con superíndices diferentes son significativos ($p \leq 0,05$)”.

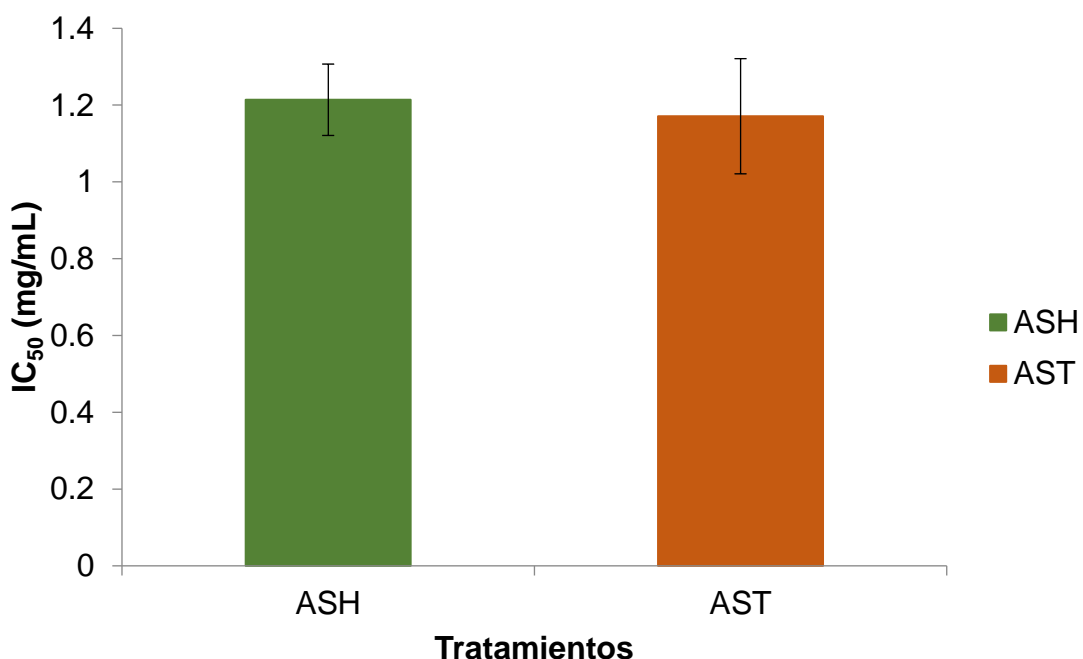


Figura 10. Presentación del IC₅₀ con el radical DPPH en las hojas y tallo de ajos sachá.

4.5.2. Coeficiente de inhibición (IC₅₀) del radical libre 2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolino-6-ácido sulfónico) (ABTS⁰⁺)

Los resultados del IC₅₀ del radical ABTS⁰⁺ en las hojas y tallo de ajos sachá (Cuadro 8 y Figura 11), según el análisis estadístico (A - XVI) no hubo diferencia significativa, y mediante el ordenamiento de tukey ($p \leq 0,05$) podemos apreciar que las hojas tienen un valor de $0,45 \pm 0,13$ mg/mL y el tallo de $0,51 \pm 0,04$ mg/mL del IC₅₀ del radical ABTS⁰⁺ del ajo sachá como se puede apreciar que son estadísticamente iguales, DOROTEO *et. al.*, (2013) en uña de gato obtuvo un IC₅₀ con el radical ABTS⁰⁺ $0,47 \pm 0,02$ mg/mL.

Cuadro 8. Resultados del IC₅₀ del radical ABTS⁰⁺ en las hojas y tallo de ajos sachá.

Muestras	Tratamientos	IC ₅₀ (mg/mL)
Hojas	ASH	0,45±0,13 ^a
Tallo	AST	0,51±0,04 ^a

“Los datos representan (promedio±error estándar) del experimento (n=3) valores de una misma columna con superíndices diferentes son significativos (p≤0,05)”.

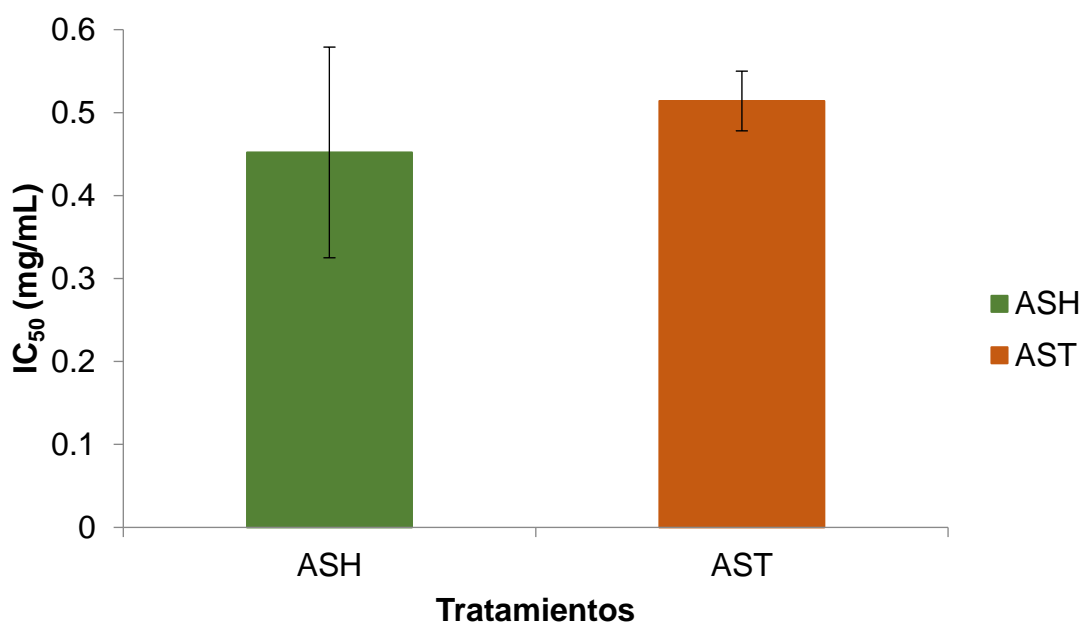


Figura 11. Comportamiento del IC₅₀ con el radical ABTS⁰⁺ en las hojas y tallo de ajos sachá.

4.6. Efecto de la temperatura y pH en la estabilidad del extracto del ajo sachá.

La estabilidad del extracto de ajo sachá frente a la temperatura y pH en función de la capacidad antioxidante (DPPH) se presenta en el Cuadro 9,

según el análisis estadístico (A - XVII) se evidenció diferencia significativa, y mediante la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$) (A - XVIIa) se puede observar que a 60°C y pH de 4,0 la capacidad antioxidante se mantiene en $0,95 \pm 0,07$ IC₅₀ (mg/mL) pero a 40°C y pH de 3,5 se aprecia que disminuye en $1,87 \pm 0,02$ IC₅₀ (mg/mL). Con respecto a los extractos del tallo a 40°C con pH de 3,5 disminuye en $1,97 \pm 0,00$ sin embargo aumenta a 60°C y pH 4,0 $0,64 \pm 0,05$. Por otro lado, si comparamos la capacidad antioxidante entre los extractos de la hoja y el tallo podemos apreciar que existe mayor capacidad antioxidante en el tallo a una temperatura de 60°C a un pH de 4,5 según el mencionado cuadro.

Cuadro 9. Efecto de la temperatura y pH en la estabilidad del extracto del ajo sachá en función del DPPH.

Extracto	Temperatura	pH	DPPH IC ₅₀ (mg/mL)
Hoja	40	3,5	$1,87 \pm 0,02^{ab}$
Hoja	40	4,0	$1,85 \pm 0,01^{ab}$
Hoja	40	4,5	$1,82 \pm 0,09^{bc}$
Hoja	50	3,5	$1,64 \pm 0,07^{de}$
Hoja	50	4,0	$1,40 \pm 0,01^{gh}$
Hoja	50	4,5	$1,40 \pm 0,03^{gh}$
Hoja	60	3,5	$1,33 \pm 0,03^h$
Hoja	60	4,0	$1,13 \pm 0,00^i$
Hoja	60	4,5	$0,95 \pm 0,07^j$
Tallo	40	3,5	$1,97 \pm 0,00^a$
Tallo	40	4,0	$1,72 \pm 0,01^{cd}$
Tallo	40	4,5	$1,53 \pm 0,01^{ef}$
Tallo	50	3,5	$1,47 \pm 0,01^{fg}$
Tallo	50	4,0	$1,40 \pm 0,30^{gh}$

Tallo	50	4,5	0,90±0,02 ^j
Tallo	60	3,5	0,87±0,05 ^j
Tallo	60	4,0	0,64±0,05 ^k
Tallo	60	4,5	0,62±0,07 ^k

“Los datos representan (promedio±error estándar) del experimento (n=3) valores de una misma columna con superíndices diferentes son significativos ($p \leq 0,05$)”.

Del Cuadro 10 se dan los productos de los análisis del efecto en temperatura, pH en la estabilidad del extracto del ajo sachá (*Mansoa alliacea*) en función a los polifenoles totales, realizando la evaluación estadística (A - XVIII) se halló discrepancia significativa y cotejando los promedios por Tukey ($p \leq 0,05$) (A - XVIIIa), se puede observar que a una temperatura de 40°C y pH de 3,5 el contenido de polifenoles totales fue 9,36±1,60 gEAG/100g pero a 60°C con pH de 4,5 se aprecia que aumenta en 37,76±1,16 gEAG/100g. Con respecto a los extractos del tallo a una temperatura de 40°C con pH de 3,5 disminuye en 8,60±0,62 gEAG/100g, sin embargo aumenta a una temperatura de 60°C a pH de 4,5 en 26,26±1,20 gEAG/100g. Por otro lado, si comparamos la cantidad de polifenoles totales entre los extractos de la hoja y el tallo podemos apreciar que existe mayor cantidad de polifenoles en la hoja a una temperatura de 60°C a un pH de 4,5 según el cuadro mencionado. MARTÍNEZ *et. al.*, (2016) realizaron estudios del efecto que tiene el proceso de secado a una temperatura de 60°C de los residuos de mandarina sobre la calidad funcional donde obtuvieron valores de 8,23 ± 0,47mg EAG/100 g de polifenoles totales y 71,27 ± 3,14 mg ET/100g (ET: equivalente en TROLOX) en la capacidad antioxidante (DPPH).

Cuadro 10. Efecto de la temperatura y pH en la estabilidad del extracto del ajo
sacha en función a los polifenoles totales.

Extracto	Temperatura	pH	Polifenoles totales (g EAG/100 g)
Hoja	40	3,5	9,40±1,60 ^{ef}
Hoja	40	4,0	12,32±0,89 ^e
Hoja	40	4,5	13,60±0,65 ^e
Hoja	50	3,5	19,33±2,74 ^d
Hoja	50	4,0	21,63±1,52 ^{cd}
Hoja	50	4,5	24,62±1,48 ^{bc}
Hoja	60	3,5	28,25±0,97 ^b
Hoja	60	4,0	34,57±2,25 ^a
Hoja	60	4,5	37,76±1,16 ^a
Tallo	40	3,5	8,60±0,62 ^f
Tallo	40	4,0	9,70±1,19 ^{ef}
Tallo	40	4,5	10,68±1,88 ^{ef}
Tallo	50	3,5	11,60±0,39 ^{ef}
Tallo	50	4,0	20,52±0,20 ^{cd}
Tallo	50	4,5	19,55±0,42 ^d
Tallo	60	3,5	27,23±0,92 ^b
Tallo	60	4,0	21,52±2,23 ^{cd}
Tallo	60	4,5	26,26±1,20 ^b

“Los datos representan (promedio±error estándar) del experimento (n=3) valores de una misma columna con superíndices diferentes son significativos ($p \leq 0,05$)”.

V. CONCLUSIONES

1. Las hojas y tallo de *Mansoa alliacea* presentó valores en humedad de 62,79 \pm 0,48%; 51,50 \pm 0,49%, proteína 2,04 \pm 0,00%; 0,92 \pm 0,01%, Grasa 3,36 \pm 0,04%; 0,67 \pm 0,02%, fibra 9,08 \pm 0,12%; 20,94 \pm 0,58%, ceniza 1,49 \pm 0,04%; 4,87 \pm 0.03% y carbohidratos 21,24 \pm 0,48%; 21,10 \pm 0,94% respectivamente.
2. Las muestras de hojas y tallos de *Mansoa alliacea* presentaron ausencia de alcaloides, quinonas y aminoácidos libres; se encontró regular y poca cantidad de tanino en las hojas y el tallo y se determinó abundante cantidad de glicósidos en las hojas.
3. En la capacidad de polifenoles totales en *Mansoa alliacea* fue de 18,57 \pm 0,64 g EAG/100g para las hojas y 8,73 \pm 0,12g EAG/100g para el tallo, con un contenido de antocianinas de 0,30 \pm 0,06 EAG/100g en las hojas y 0,27 \pm 0,04g EAG/100g en el tallo.
4. La capacidad antioxidante en las hojas y tallo de *Mansoa alliacea* mediante los radicales libres DPPH fueron 1,21 \pm 0,09 IC₅₀ (mg/mL) y 1,17 \pm 0,15 IC₅₀ (mg/mL) respectivamente y con el radical ABTS⁰⁺ fueron 0,45 \pm 0,13 IC₅₀ (mg/mL) y 0,51 \pm 0,04 IC₅₀ (mg/mL) respectivamente.
5. Existió mayor capacidad antioxidante en el tallo con un valor de 0,62 \pm 0,07 IC₅₀ (mg/mL) a una temperatura de 60°C a un pH de 4,5 por otro lado se encontró mayor contenido de polifenoles con un valor de 37,76 \pm 1,16 g EAG/100 g a una temperatura de 60°C a un pH de 4,5 en hojas.

VI. RECOMENDACIONES

1. En la valoración de recorrido fitoquímica, polifenoles totales, antocianinas, magnitud antioxidante, en hojas, tallos de *Mansoa alliaceae*, se recomienda realizar un previo deshidratado para facilitar la extracción de los compuestos bioactivos y los análisis.
2. Elaborar alimentos para el consumo humano cuyo ingrediente sea el ajo sachá como condimento para sazonar comidas, también la elaboración de filtrantes, bebidas funcionales de hojas y tallos de ajo sachá, evaluando su estabilidad en almacenamiento.
3. Determinar la investigación farmacológica en las fases de desarrollo de hojas y tallos de *Mansoa alliaceae*.
4. Realizar comparaciones de análisis de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante para *Mansoa alliaceae* en diferentes zonas geográficas y partes de la planta como raíces y flores.

VII. ABSTRACT

The purpose of the research was to evaluate the polyphenols, anthocyanins, antioxidant capacity, and the effect of the temperature and pH on the stability of the extracts from the leaves and stalks of garlic vine. The vegetative species in study belongs to the Bignoniaceae family and is mainly used in popular medicine for arthritis, headaches, epilepsy, fever and rheumatism. Many of the therapeutic effects are attributed to the presence of phenolic compounds, which confer antioxidant and antibacterial properties. The Folin Ciocalteu methodology was used in order to quantify the phenols, while the anthocyanins were evaluated with the pH differential, and the antioxidant activity was evaluated by the capacity to trap the synthetic DPPH and ABTS free radicals. In this context, the following information was determined: 18.57 ± 0.64 and 8.73 ± 0.12 g EAG/100g of polyphenols in the leaves and stalks, respectively, were found. While the anthocyanins corresponded to values of 0.30 ± 0.06 and 0.27 ± 0.04 g EAG/100g in the leaves and stalks, respectively. The antioxidant activity of the extracts from leaves and stalks, when evaluated by their capacity for trapping DPPH radicals, expressed as IC₅₀, were 1.21 ± 0.09 and 1.17 ± 0.15 mg/mL, and with respect to the ABTS free radical, the values that were reached were 0.45 ± 0.13 and 0.51 ± 0.04 mg/mL, respectively. With respect to the stability of the extracts, the best results were obtained at a pH of 4.5. Keywords: antioxidant activity, phenols, phytochemical screening, DPPH, ABTS

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBE, M., ISMAIL, A. 2010. Antioxidant properties of cocoa powder. *Journal of Food Biochemistry, Malaysia*. 34: 111–128.
- AQUINO, R., DE SIMONE, F., PIZZA, C., CONTI, C., STEIN, M. 1989. Plants metabolites, structure and in vitro antiviral activity of quinovic acid glycosides from *Uncaria tomentosa* and *Guettarda platypoda*. *Journal of Natural Products, United States*. 52(4): 679–685.
- BADUI, S. 2006. *Química de los alimentos*. 4 Ed. Naucalpan de Juárez, México, Pearson Educación. 736 p.
- BICHARA, M., OLIVEIRA, J., PINHEIRO, G. 2019. The genus *Mansoa* (Bignoniaceae): a source of organosulfur compounds. *Brazilian Journal of Pharmacognosy, Belém-PA*. 19(3): 795–804.
- CADENA, T., HERRERA, Y. 2008. Evaluación del efecto del procesamiento del cacao sobre el contenido de polifenoles y su actividad antioxidante. Tesis Químico. Bucaramanga, Colombia. Universidad Industrial de Santander. 91 p.
- CALERO C. 2012. Evaluación agroindustrial del ajo de monte (*Mansoa alliacea*). Tesis para obtener el título de ingeniero agroindustrial. Escuela politécnica nacional. Quito – Ecuador. 118p.
- CALERO, A. 2012. Evaluación agroindustrial del ajo de monte (*Mansoa alliacea*). Tesis Ing. Agroindustrial. Quito, Ecuador. Escuela Politécnica Nacional. 118 p.

- CASTAÑEDA, B., RAMOS, E., IBÁLEZ, L. 2008. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Revista Horizonte Médico*, Zaragoza. 8(1): 56–72.
- CHANG H., GARCIA L., ROSABA C., ESPINOSA R., RAMOS E., REMON R. 2013. Caracterización fitoquímica y la evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos de hojas y tallos de *Solanum nigrum* L. que crece en Cuba. *Revista mexicana de ciencias Farmaceuticas*. Mexico. 44 (4): 29 – 36.
- DOMÍNGUEZ, CH., NEVES, J. 2014. Actividad inmunoestimulante del extracto acuoso liofilizado de las hojas de “*Mansoa alliacea* L. (Ajo Sacha)”, en ratas albinas holtzmman, Imet – ES SALUD, 2013. Tesis Quim. Farmacéutico. Iquitos, Perú. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. 96 p.
- DOROTEO H., DIAZ C., TERRY C., ROJAS R. 2013. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante in vitro de 6 plantas peruanas. *Revista de la sociedad química del Perú*. 79(1): 13 – 20.
- FOTI, M., DAQUINO, C., CORRADA, G. 2004. Electron-transfer reaction of cinnamic acids and their methyl esters with the DPPH• radical in alcoholic solutions. *Journal of Organic Chemistry, Europe*. 69: 2309–2314.
- GARZÓN A. 2008. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revision. *Acta boil. Colombia*. 13(3): 27 – 36.
- GONZÁLEZ, K., VALENCIA, J. 2014. Tamizaje fitoquímico preliminar del extracto etanólico de las hojas de *Kalanchoe gastonis-bonnierei*. Universidad del Quindío. Armenia (Colombia). Proyecto. 16 p.

- GUTIÉRREZ, B. 2002. Chocolate, polifenoles y protección a la salud. Acta Farmacéutica Bonaerense, Cuba. 21(2): 149–152.
- HART, F. 1991. Análisis moderno de los alimentos. Zaragoza, España, Acribia. 619 p.
- HERNÁNDEZ, R., FERNÁNDEZ, C., BAPTISTA, P. 2006. Metodología de la investigación. 4 Ed. D.F., México, McGraw-Hill Interamericana. 839 p.
- JURADO T., APARCANA A., VILLARREAL I., RAMOS LL., CALIXTO C., HURTADO M., ACOSTA A. 2016. Evaluación del contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de los frutos de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) de diferentes lugares del Perú. Revista sociedad química del Perú. 82(3): 272 – 279.
- KUSKOSKI, E., ASUERO, A., GARCÍA, M., TRONCOSO, A., FETT, R. 2004. Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos. Ciencia e Tecnologia de Alimentos, Brasil. 24(4): 691–693.
- LOCK DE UGAZ, O. 1994. Investigación fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales. 2 Ed. Lima, Perú, Universidad Católica del Perú. 300 p.
- LÓPEZ, T., PADRÓ, L. 2003. Estudio fitoquímico preliminar de las hojas y tallos de la especie *Pedillanthus tithymaloides* (L). Poit. Fac. Ciencias Naturales, Universidad de Oriente. Vol. XV. N° 3.
- MARTINEZ F., LOPEZ., MALDONADO. 2016. Efecto de la temperatura sobre los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante en el residuo de la producción de jugo de mandarina (*Citrus reticulata* Satsuma).

Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Mexico. 1(1): 843 – 850.

MENDIBURU, F. 2005. Diseños experimentales. [En línea]: ([http://tarwi.lamolina.edu.pe/~fmendiburu/index-filer/academic/Foresteria%20II/Teoría/Exp Model.pdf](http://tarwi.lamolina.edu.pe/~fmendiburu/index-filer/academic/Foresteria%20II/Teoría/Exp%20Model.pdf), documento, 15 Mar. 2015).

MONSERRATE, V. 2014. Elaboración de un condimento para carnes a partir de las hojas deshidratadas de *Mansoa alliacea* de origen ecuatoriano (Ajo sacha) con actividad antioxidante. Tesis Ing. en Alimentos. Guayaquil, Ecuador. Escuela Superior Politécnico del Litoral. 119 p.

MONSERRATE. 2014. Elaboración de un condimento para carnes a partir de las hojas deshidratadas de *Mansoa alliacea* de origen ecuatoriano (ajo sacha) con actividad antioxidante. Tesis para obtener el grado de ingeniero. Escuela superior politécnica del litoral. Ecuador. 119p.

NÚÑEZ, C. 2008. Extracciones con equipo soxhlet. [En línea]: (<http://www.cenunez.com.ar/archivos/39-extraccinconequipo Soxhlet.pdf>, documento, 20 Jul. 2015).

PALACIOS, M. 2000. Tema 04: Metabolitos primarios y secundarios. [En línea]: (http://files.selvafarma.webnode.es/200000192-6def76ee8d/TEMA_04.pdf, documento, 29 Jun. 2017)

PATEL, I., SIPAI, S., RATHOD, D., SHRIMALI, G., PATEL, A., RAMI, E. 2013. Phytochemical studies on *Mansoa alliacea* (Lam.). International Journal of Advances in Pharmaceutical Research, India. 4(6): 1823–1828.

- PEREZ P., RIVERO G., SUAREZ L., GONZALES P., HUNG G. 2013. Caracterización fitoquímica de extractos de *Spondias mombin* L. revista cubana de química. Cuba. 15(2); 150 – 154.
- RAVAROCCI, C., CARRASCO, W. 2010. Tamizaje fitoquímico, perfil cromatográfico y Evaluación de la actividad antioxidante in vitro, de las cortezas de *Erythrina fusca* L., *Campsiandra angustifolia* S. B., y *Swartzia polyphylla* DC. Para optar título de Químico Farmacéutico. Iquitos, Peru. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. 104 p.
- RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICE, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, United Kingdom. 26(9/10): 1231–1237.
- RENGIFO, E. 2007. Las ramas floridas del bosque: Experiencia en el manejo de plantas medicinales amazónicas. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana. Iquitos (Perú). Catálogo. 149 p.
- SCHERER, R., GODOY, H. 2009. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, Brazil. 112: 654–658.
- SUÁREZ, K. 2015. Estudio de los recursos fitoterapéuticos ancestrales para su conservación y aprovechamiento sostenible, tamizaje fitoquímico, aislamiento de metabolitos secundarios y actividad biológica de *Mansoa alliacea*. Tesis. Bq. Farmacéutico. Loja, Ecuador. Universidad Técnica Particular de Loja. 85 p.

- SULTANA, B., HUSSAIN, Z., ASIF, M., MUNIR, A. 2012. Investigation on the antioxidant activity of leaves, peels, stems bark, and kernel of mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Food Science, Pakistan*. 77(8): 849–52.
- SYMONOWICZ, M., SYKULA, A., LODYGA, E., RUMORA, I., STRAUKAS, M. 2012. Evaluation of polyphenols and anthocyanins contents in black chokeberry – *Photinia melanocarpa* (Michx.) fruits extract. *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research, Poland*. 69(3): 381–387.
- VEGA, M. 2001. *Etnobotánica de la Amazonía Peruana*. Quito, Ecuador, Abya-Yala. 166 p.
- ZAPATA, L., HEREDIA, A., QUINTEROS, C., MALLERET, A., CLEMENTE, G., CÁRCEL, J. 2014. Optimización de la extracción de antocianinas de arándanos. *Ciencia, Docencia y Tecnología, Argentina*. 25(49): 166–192.
- GARCIA O., BENITO I., JULIO R. 2008. Hacia una definición de fibra alimentaria. *Scielo. Venezuela*. 21(1): 10 – 18.
- PINZON M. 2010. *Carbohidratos estructura y clasificación*. Universidad autónoma del estado de mexico. 55p.

IX. ANEXO

A – I. Cuadro de Análisis de la Varianza para humedad

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	190,10	1	190,10	267,22	0.0001
TRATAMIENTO	190,10	1	190,10	267,22	0.0001
Error	2,86	4	0,71		
Total	193,85	5			

A – Ia. Pruebas de Múltiple Rangos para humedad

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,917

Error: 0,71 gl: 4

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
HOJA	62,79	3	0,49	A
TALLO	51,50	3	0,49	B

A – II. Cuadro de Análisis de la Varianza para proteína BS

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	19,14	1	19,14	1637,14	<0.0001
TRATAMIENTO	19,14	1	19,14	1637,14	<0.0001
Error	0,05	4	0,01		
Total	19,19	5			

A – IIa. Pruebas de Múltiple Rangos para proteína BS

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,25

Error: 0,01 gl: 4

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
HOJA	5,47	3	0,06	A
TALLO	1,90	3	0,06	B

A – III. Cuadro de Análisis de la Varianza para proteína BH

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.		1,86	1	1,86	8089,01 <0,0001
TRATAMIENTO		1,86	1	1,86	8089,01 < 0,0001
Error		0,0009	4	0,0002	
Total		1,86	5		

A – IIIa. Pruebas de Múltiple Rangos para proteína BH

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,03

Error: 0,0002 gl: 4

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
HOJA	2,04	3	0,0088	A
TALLO	0,92	3	0,0088	B

A – IV. Cuadro de Análisis de la Varianza para grasa BS

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	87,82	1	87,82	2205,18	<0.0001
TRATAMIENTO	87,82	1	87,82	2205,18	<0,0001
Error	0,16	4	0,04		
Total	87,98	5			

A – IVa. Pruebas de Múltiple Rangos para grasa BS

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,45

Error: 0,04 gl: 4

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
HOJA	9,02	3	0,12	A
TALLO	1.37	3	0,12	B

A – V. Cuadro de Análisis de la Varianza para grasa BH

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	10,86	1	10,86	3435,51	<0,0001
TRATAMIENTO	10,86	1	10,86	3435,51	<0,0001
Error	0,01	4	0,0032		
Total	10,88	5			

A – Va. Pruebas de Múltiple Rangos para grasa BH

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,13

Error: 0,0032 gl: 4

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
HOJA	3,36	3	0,03	A
TALLO	0,67	3	0,03	B

A – VI. Cuadro de Análisis de la Varianza para fibra BS

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	528,82	1	528,82	140,77	0,0003
TRATAMIENTO	528,82	1	528,82	140,77	0,0003
Error	15,03	4	3,76		
Total	543,85	5			

A – VIa. Pruebas de Múltiple Rangos para fibra BS

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,40

Error: 3,76 gl: 4

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
TALLO	43,20	3	1,12	A
HOJA	24,42	3	1,12	B

A – VII. Cuadro de Análisis de la Varianza para fibra BH

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	210,72	1	210,72	395,89	<0.0001
TRATAMIENTO	210,72	1	210,72	395,89	<0.0001
Error	2,13	4	0,53		
<u>Total</u>	<u>212,85</u>	<u>5</u>			

A – VIIa. Pruebas de Múltiple Rangos para fibra BH

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,65

Error: 0,53 gl: 4

<u>TRATAMIENTO</u>	<u>Medias</u>	<u>n</u>	<u>E.E.</u>	
TALLO	20,94	3	0,42	A
HOJA	9,08	3	0,42	B

A – VIII. Cuadro de Análisis de la Varianza para ceniza BS

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	54,70	1	54,70	6290,67	<0.0001
TRATAMIENTO	54,70	1	54,70	6290,67	<0.0001
Error	0,03	4	0,0087		
<u>Total</u>	<u>54,73</u>	<u>5</u>			

A – VIIIa. Pruebas de Múltiple Rangos para ceniza BS

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,21

Error: 0,0087 gl: 4

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
TALLO	10,05	3	0,05	A
HOJA	4,01	3	0,05	B

A – IX. Cuadro de Análisis de la Varianza para ceniza BH

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	17,14	1	17,14	4898,75	<0.0001
TRATAMIENTO	17,14	1	17,14	4898,75	<0.0001
Error	0,01	4	0,0035		
Total	17,16	5			

A – IXa. Pruebas de Múltiple Rangos para ceniza BH

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,13

Error: 0,0035 gl: 4

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
TALLO	4,87	3	0,03	A
HOJA	1,49	3	0,03	B

A – X. Cuadro de Análisis de la Varianza para carbohidratos BS

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	277,07	1	277,07	64,91	0,0013
TRATAMIENTO	277,07	1	277,07	64,91	0,0013
Error	17,07	4	4,27		
<u>Total</u>	<u>294,15</u>	<u>5</u>			

A – Xa. Pruebas de Múltiple Rangos para carbohidratos BS

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,68

Error: 4,27 gl: 4

<u>TRATAMIENTO</u>	<u>Medias</u>	<u>n</u>	<u>E.E.</u>	
HOJA	57,07	3	1,19	A
TALLO	43,50	3	1,19	B

A – XI. Cuadro de Análisis de la Varianza para carbohidratos BH

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	0,03	1	0,03	0,02	0,90
TRATAMIENTO	0,03	1	0,03	0,02	0,90
Error	6,67	4	1,67		
<u>Total</u>	<u>6,70</u>	<u>5</u>			

A – XIa. Pruebas de Múltiple Rangos para carbohidratos BS

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,93

Error: 1,67 gl: 4

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
HOJA	21,24	3	0,75	A
TALLO	21,10	3	0,75	A

A – XII. Resultados de las absorbancias de la curva estándar de polifenoles.

Concentraciones (mg EAG/mL)	Absorbancias (700 nm)			Promedio
	R ₁	R ₂	R ₃	
0,80	0,88	0,94	0,81	0,88
0,60	0,65	0,65	0,79	0,67
0,40	0,44	0,49	0,50	0,46
0,20	0,24	0,20	0,22	0,22
0,10	0,12	0,12	0,11	0,12
0,05	0,05	0,06	0,08	0,06
0,01	0,01	0,01	0,02	0,01

A – XIII. Análisis de varianza de contenido de polifenoles totales en las hojas y tallo de ajos sacha.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F cal.	P _{valor}
Tratamientos	1	145,34	145,34	229,75	0,0001
Error experimental	4	2,53	0,63		
Total	5	147,87			

A – XIV. Análisis de varianza de contenido de antocianinas totales en las hojas y tallo de ajos sacha.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F cal.	P_{valor}
Tratamientos	1	145,34	145,34	229,75	0,0001
Error experimental	4	2,53	0,63		
Total	5	147,87			

A – XV. Análisis de varianza de IC₅₀ del radical DPPH en las hojas y tallo de ajos sacha.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F cal.	P_{valor}
Tratamientos	1	0,00	0,00	0,06	0,82
Error experimental	4	0,19	0,05		
Total	5	0,19			

A – XVI. Análisis de varianza de IC₅₀ del radical ABTS⁰⁺ en las hojas y tallo de ajos sacha.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F cal.	P_{valor}
Tratamientos	1	0,01	0,01	0,22	0,66
Error experimental	4	0,11	0,03		
Total	5	0,12			

A – XVII. Cuadro de análisis de varianza del efecto de la temperatura y pH en la estabilidad del extracto del ajo sachá en función del DPPH.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	9,24	17	0,54	330,16	<0.0001
Tratamiento	0,83	1	0,83	504,06	<0.0001
Temperatura	6,83	2	3,41	2073,22	<0.0001
Tratamiento*Temperatura	0,24	2	0,12	72,46	<0.0001
pH	0,98	2	0,49	296,93	<0.0001
Tratamiento*pH	0,08	2	0,04	25,00	<0.0001
Temperatura*pH	0,07	4	0,02	11,30	<0.0001
Trat. Temperatura*pH..	0,21	4	0,05	32,07	<0.0001
Error	0,06	36	0,00		
Total	9,30	53			

A – XVIII. Cuadro de Análisis de la Varianza del Efecto de la temperatura y pH en la estabilidad del extracto del ajo sachá en función a los polifenoles totales

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3961,95	17	233,06	116,13	<0.0001
tratamiento	349,45	1	349,45	174,13	<0.0001
temperatura	3100,82	2	1550,41	772,55	<0.0001
tratamiento*temperatura	94,30	2	47,14	23,49	<0.0001
pH	151,46	2	75,73	37,74	<0.0001
tratamiento*pH	39,95	2	19,98	9,95	0.0004
temperatura*pH	99,06	4	24,76	12,34	<0.0001
trat. Temp. pH..	126,92	4	31,73	15,81	<0.0001
Error	72,23	36	2,01		
Total	4034,20	53			

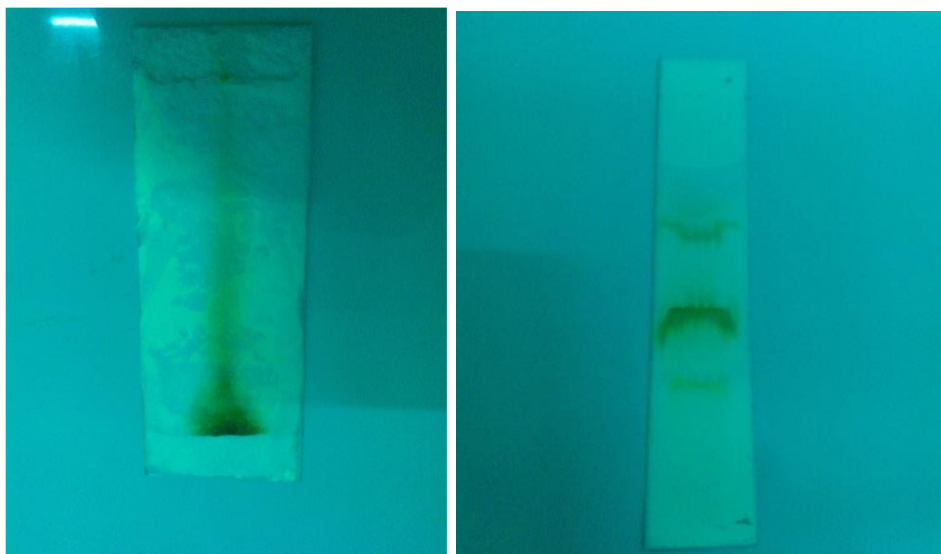
A – XVIII. Pruebas de Múltiple Rangos para el efecto de la temperatura y pH en la estabilidad del extracto del ajo sachá en función del contenido de polifenoles.

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=4,34

Error: 2,01 gl: 36

tratamiento	temperatura	pH	Medias	n	E.E.					
Extracto hoja	60.00	4,50	37,76	3	0,82	A				
Extracto hoja	60.00	4,00	34,57	3	0,82	A				
Extracto hoja	60.00	3,50	28,25	3	0,82		B			
Extracto tallo	60.00	3,50	27,23	3	0,82		B			
Extracto tallo	60.00	4,50	26,26	3	0,82		B			
Extracto hoja	50.00	4,00	24,62	3	0,82		B	C		
Extracto hoja	50.00	4,50	21,63	3	0,82			C	D	
Extracto tallo	60.00	4,00	21,52	3	0,82			C	D	
Extracto tallo	50.00	4,00	20,52	3	0,82			C	D	
Extracto tallo	50.00	4,50	19,55	3	0,82				D	
Extracto hoja	50.00	3,50	19,33	3	0,82				D	
Extracto hoja	40.00	4,50	13,60	3	0,82				E	
Extracto hoja	40.00	4,00	12,32	3	0,82				E	F
Extracto tallo	50.00	3,50	11,60	3	0,82				E	F
Extracto tallo	40.00	4,50	10,68	3	0,82				E	F
Extracto tallo	40.00	3,50	9,70	3	0,82				E	F
Extracto hoja	40.00	3,50	9,36	3	0,82				E	F
Extracto tallo	40.00	4,00	8,60	3	0,82					F

A – XIX. Color de la fluorescencia que desarrollan a la luz UV.



Tallo

hoja