



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional

Esta licencia permite a otras distribuir, combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial y, a pesar que son nuevas obras deben siempre rendir crédito y ser no comerciales, no están obligadas a licenciar sus obras derivadas bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>

UNIVERSIDAD NACIONAL “SAN LUIS GONZAGA”

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS POS COSECHA DE *Arachis hypogaea* L (MANÍ)

AUTOR:

OLGA MORENO SAAVEDRA

ICA – PERÚ

2,021

Dedicatoria:

A mis padres, quienes siempre están a mi lado apoyándome en todo, para alcanzar mi sueño de ser profesional.

A mis hermanos y familiares, por el apoyo incondicional brindado día a día.

Agradecimientos:

A Dios, por brindarme todo lo bueno que hay en mi vida.

Al Mg. Mario Guevara Escalante, mi asesor de Tesis, por la orientación, tiempo y paciencia.

A mis maestros de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga, por las pautas recibidas en mi formación profesional.

A mis compañeros de clase por las experiencias inolvidables vividas.

ÍNDICE.

RESUMEN.	vi
ABSTRACT.	viii
INTRODUCCIÓN.	x
CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	12
1.1. Descripción de la realidad problemática.	12
1.2. Formulación del problema.	13
1.3. Justificación e importancia.	13
1.4. Objetivos de la investigación.	14
1.5. Hipótesis y variables.	14
CAPÍTULO II. BASES TEÓRICAS.	16
2.1. Antecedentes.	16
2.2. Marco teórico.	17
2.2.1. <i>Arachis hypogaea</i> L (maní).	17
2.2.2. Los radicales libres.	20
2.2.3. El proceso de oxidación y los agentes promotores.	21
2.2.4. Estrés oxidativo.	22
2.2.5. Los antioxidantes dietéticos.	22
2.2.6. Compuestos fitoquímicos con actividad antioxidante.	23
2.2.7. Funciones y beneficios del consumo de los fitoquímicos	24
2.3. Marco conceptual.	25
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA.	31
3.1. Diseño de la investigación.	31
3.2. Población y muestra.	31
3.3. Técnicas y procedimientos de recolección de datos.	31
3.3.1. Preparación de la muestra recolectada.	31

3.3.2. Obtención del extracto hidroalcohólico.	32
3.3.3. Determinación fitoquímica cualitativa.	33
3.3.4. Método DPPH.	40
Preparación del radical DPPH.	40
Preparación de las soluciones de la muestra.	41
Preparación de las muestras con el DPPH.	41
Lectura de las muestras en el espectrofotómetro.	42
Preparación del blanco.	42
Lectura en el espectrofotómetro de las muestras.	42
Procedimiento para determinar la actividad antioxidante.	43
3.4. Técnicas de procesamiento de la información.	43
3.5. Aspectos éticos.	43
CAPÍTULO IV. RESULTADOS.	44
4.1. Resultados.	44
4.2. Discusión.	48
CONCLUSIONES.	50
RECOMENDACIONES.	51
FUENTES DE INFORMACIÓN.	52
ANEXO.	56

RESUMEN.

Arachis hypogaea, es una planta originaria de Perú con antigua evidencia histórica, sus frutos aparecen representados en collares de oro y plata en los restos arqueológicos de la tumba del Señor de Sipán, en Huaca Rajada, con antigüedad de más de 5,000 años. Un radical libre es un átomo o molécula que contiene un electrón desapareado en su orbital exterior; existen dos orígenes de los radicales libres, la endógena a través del metabolismo aerobio y el exógeno por la contaminación ambiental, consumo de tabaco y alimentos procesados, algunos medicamentos y la exposición a pesticidas. El estrés oxidativo asocia a las células y la acción de un radical libre que las afecta, en condiciones normales existe un equilibrio entre producción de radicales libres y los mecanismos antioxidantes, reduciendo la toxicidad y el daño celular, al romperse el equilibrio por déficit del sistema antioxidante o proliferación abundante de radicales libres, se producen las enfermedades degenerativas y el cáncer. Los fitoquímicos son sustancias presentes de manera natural en los alimentos de origen vegetal, son beneficiosos para la salud, especialmente por su poder antioxidante y en la prevención del cáncer y otras diversas funciones beneficiosas. **Problema principal:** ¿Cuál es el resultado de la evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas pos cosecha de *Arachis hypogaea* L (maní)? **Problemas Secundarios:** ¿Qué indica el resultado de la evaluación de la composición fitoquímica cualitativa del extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas pos cosecha de la especie vegetal *Arachis hypogaea* L (maní)? ¿Cuál es el resultado de la aplicación del método del radical DPPH en el extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas pos cosecha de la especie vegetal *Arachis hypogaea* L (maní)? **Hipótesis Principal:** La evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas pos cosecha

de la especie vegetal *Arachis hypogaea* L (maní) demuestra la su actividad antioxidante. **Hipótesis Secundarias:** La composición fitoquímica cualitativa del extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas pos cosecha de la especie vegetal *Arachis hypogaea* L (maní) indica presencia de metabolitos secundarios con actividad antioxidante. En resultado de la aplicación del método del radical libre DPPH en el extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas pos cosecha de la especie vegetal *Arachis hypogaea* L (maní) evidencia su actividad antioxidante.

Variable Independiente: Extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas pos cosecha de la especie vegetal *Arachis hypogaea* L (maní). **Variables Dependientes:** Composición fitoquímica. Método del radical libre DPPH. **Objetivo General:** Evaluar la actividad antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas pos cosecha de *Arachis hypogaea* L (maní). **Objetivos Específicos:** Identificar cualitativamente la composición fitoquímica. Aplicar el método del radical libre DPPH. **Conclusiones:** Se obtuvo el extracto hidroalcohólico de las hojas pos cosecha de la especie vegetal *Arachis hypogaea* L (maní), para realizar los análisis que permitieron conocer la composición fitoquímica cualitativa y capacidad antioxidante. La realización de la evaluación de la composición fitoquímica, reveló la presencia de presencia de aceites y grasas, compuestos fenólicos totales, quinonas y flavonoides; de los cuales, los tres últimos tienen una reconocida actividad antioxidante. La evaluación de la actividad antioxidante reveló que la concentración de 200 µg/mL, obtuvo el más alto porcentaje de inhibición con 36.56 %, seguido de las concentraciones de 150 µg/mL con 31.55 %, 100 µg/mL con 22.07 % y 50 µg/mL con 14.48 %.

Palabras clave: *Arachis hypogaea* L (maní), fitoquímica, radical libre, antioxidantes.

ABSTRACT.

Arachis hypogaea, is a plant native to Peru with ancient historical evidence, its fruits are represented in gold and silver necklaces in the archaeological remains of the tomb of the Lord of Sipan, in Huaca Rajada, with more than 5,000 years old. A free radical is an atom or molecule that contains an electron that has disappeared in its external orbit; there are two origins of free radicals, endogenous through aerobic metabolism and exogenous through environmental pollution, consumption of tobacco and processed foods, some medicines and exposure to pesticides. The oxidative stress associates to the cells and the action of a free radical that affects them, in normal conditions there is a balance between production of free radicals and the antioxidant mechanisms, reducing the toxicity and the cellular damage, when breaking the balance by deficit of the antioxidant system or abundant proliferation of free radicals, the degenerative diseases and the cancer take place. Phytochemicals are substances naturally present in foods of plant origin, are beneficial to health, especially for their antioxidant power and in the prevention of cancer and other various beneficial functions. **Primary Problem:** What is the result of the evaluation of the in vitro antioxidant activity of the hydroalcoholic extract obtained from the post-harvest leaves of *Arachis hypogaea* L (peanut)? **Secondary Problems:** What is the result of the evaluation of the qualitative phytochemical composition of the hydroalcoholic extract obtained from the post-harvest leaves of the plant species *Arachis hypogaea* L (peanut)? What is the result of the application of the DPPH radical method in the hydroalcoholic extract obtained from the post-harvest leaves of the plant species *Arachis hypogaea* L (peanut)? **Main Hypothesis:** The evaluation of the in vitro antioxidant activity of the hydroalcoholic extract obtained from the post-harvest leaves of the plant species *Arachis hypogaea* L (peanut) demonstrates its antioxidant activity.

Secondary Hypothesis: The qualitative phytochemical composition of the hydroalcoholic extract obtained from the post-harvest leaves of the plant species *Arachis hypogaea* L (peanut) indicates the presence of secondary metabolites with antioxidant activity. In result of the application of the DPPH free radical method in the hydroalcoholic extract obtained from the post-harvest leaves of the plant species *Arachis hypogaea* L (peanut) evidences its antioxidant activity.

Independent Variable: Hydroalcoholic extract obtained from the post-harvest leaves of the plant species *Arachis hypogaea* L (peanut). **Dependent Variables:**

Phytochemical composition. DPPH free radical method. **General Objective:** To evaluate the in vitro antioxidant activity of the hydroalcoholic extract obtained from the post-harvest leaves of *Arachis hypogaea* L (peanut). **Specific Objectives:** To

identify qualitatively the phytochemical composition. To apply the DPPH free radical method. **Conclusions:** It was possible to obtain the hydroalcoholic extract of the post-harvest leaves of the vegetable species *Arachis hypogaea* L (peanut), with which the detailed analyses in the methodological part were carried out. The evaluation of the phytochemical composition revealed the presence of oils and fats, total phenolic compounds, quinones and flavonoids; of which the last three have a recognized antioxidant activity. The evaluation of the antioxidant activity revealed that the concentration of 200 µg/mL, obtained the highest percentage of inhibition with 36.56 %, followed by the concentrations of 150 µg/mL with 31.55 %, 100 µg/mL with 22.07 % and 50 µg/mL with 14.48 %.

Keywords: *Arachis hypogaea* L (peanut), phytochemistry, free radical, antioxidants.

INTRODUCCIÓN.

Durante el metabolismo en los seres vivos, la combustión química del metabolismo aerobio produce sustancias oxidantes altamente reactivas, también, factores como la contaminación ambiental, consumo de tabaco, alimentos procesados, medicamentos, la exposición a pesticidas también los producen. En condiciones fisiológicas normales, el organismo neutraliza a los radicales libres mediante enzimas antioxidantes, pero si la capacidad de control de las sustancias oxidantes mediante los sistemas antioxidantes es superada, se establece el estrés oxidante, que puede provocar grandes daños al organismo, además de procesos inflamatorios, enfermedades cardiovasculares, y otras enfermedades crónico-degenerativas en los seres humanos, como las cardiopatías, diabetes y cáncer. ⁽¹⁾

Los compuestos fitoquímicos están presentes de manera natural en los alimentos vegetales. Presentan propiedades benéficas para la salud, como la actividad antioxidante, con una importante relación en la prevención del cáncer. Los compuestos fitoquímicos se encuentran en los alimentos vegetales, pero no son nutrientes, macronutrientes, vitaminas ni minerales, a los alimentos que contienen sustancias fitoquímicas se denominan alimentos funcionales ya que, además del componente nutricional, también aporta otro tipo de ventajas para la salud. ⁽²⁾

Los carotenoides son elementos pro-vitamina A, así que poseen funciones similares a esta vitamina: colaboran en mantener una correcta visión, la integridad del sistema óseo y epitelial y es importante también durante la lactancia materna, ya que colabora en la producción láctea. Existen sustancias fitoquímicas, como los fenoles, terpenos, flavonoides y carotenoides, con actividad antioxidante, beneficiosas en la reducción de la inflamación, actuando beneficiosamente en casos de enfermedades cardiovasculares como infartos, anginas de pecho, hipertensión arterial, arterioesclerosis, etc. ⁽²⁾

Por estas consideraciones, consideramos de interés el estudio propuesto, con la finalidad de conocer la composición fitoquímica cualitativa y actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas pos cosecha de la especie vegetal *Arachis hypogaea* L (maní).

CAPÍTULO I.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

1.1. Descripción de la realidad problemática.

A diario nos exponemos a los factores ambientales, como el sol, humos tóxicos como el cigarro, el alcohol, la contaminación ambiental, el oxígeno, necesario para la respiración, también es fuente de radicales libres perjudiciales para la salud, la exposición a estos factores producen oxidación, el cual es un proceso en el que los componentes químicos del organismo se ven alterados y se convierten en lo que se conoce como radicales libres, muy vinculados al proceso de envejecimiento, a enfermedades cardiacas, cáncer, diabetes y otras.

Frente a los radicales libres están los antioxidantes, que son sustancias naturales que podrían detener o limitar los daños causados por los radicales libres, en la actualidad existe la tendencia a la búsqueda de especies vegetales que contengan principios activos con propiedades medicinales, una actividad muy importante es la actividad antioxidante, y mediante la investigación fitoquímica, se contribuye a la obtención de fitofármacos, mediante la identificación de especies vegetales que presenten actividad biológica para su aprovechamiento.

Asimismo, se sabe que la actividad agrícola cotidiana genera la acumulación de residuos vegetales con impacto negativo, que muchas veces son quemados para su eliminación, causando un grave problema ambiental, ya que afecta a todas las actividades, personas y espacios lo cual se convierte en un problema para la sociedad, al no existir lugares idóneos que permitan la colocación correcta de los mismos, por lo que la investigación propone darle un aprovechamiento a las hojas pos cosecha

provenientes de la especie vegetal *Arachis hypogaea* L (maní), mediante el mejor conocimiento de su composición fitoquímica y actividad antioxidante.

1.2. Formulación del problema.

1.2.1. Problema principal.

¿Cuál es el resultado de la evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas pos cosecha de *Arachis hypogaea* L (maní)?

1.2.2. Problemas secundarios.

- ¿Qué indica el resultado de la evaluación de la composición fitoquímica cualitativa del extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas pos cosecha de la especie vegetal *Arachis hypogaea* L (maní)?
- ¿Cuál es el resultado de la aplicación del método del radical DPPH en el extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas pos cosecha de la especie vegetal *Arachis hypogaea* L (maní)?

1.3. Justificación e importancia.

La exposición a los radicales libres de origen endógeno y exógeno, es perjudicial para la salud, resulta de gran importancia entender el papel de los radicales libres en nuestro metabolismo para así comprender su relación con diversas enfermedades crónico-degenerativas en los seres humanos, como las cardiopatías, diabetes y cáncer, por lo que es necesario realizar la búsqueda de nuevas fuentes de antioxidantes, sustancias naturales que podrían detener o limitar los daños causados por los radicales libres. ⁽³⁾

Existen fuentes naturales de antioxidantes, provenientes de las especies vegetales, lo que posible darle utilidad a los tallos y hojas de especies vegetales después de la cosecha, que normalmente serian descartados o quemados en los campos de cultivo. ⁽⁴⁾

En este caso, se considera que la investigación planteada justifica su realización, ya que permitirá conocer la composición fitoquímica cualitativa y actividad antioxidante de la especie vegetal *Arachis hypogaea* L (maní).

1.4. Objetivos de la investigación.

1.4.1. Objetivo General.

Evaluar la actividad antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas pos cosecha de *Arachis hypogaea* L (maní).

1.4.2. Objetivos Específicos.

- Identificar cualitativamente la composición fitoquímica.
- Aplicar el método del radical libre DPPH.

1.5. Hipótesis y variables.

1.5.1. Hipótesis.

– Hipótesis principal.

La evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas pos cosecha de la especie vegetal *Arachis hypogaea* L (maní) demuestra la su actividad antioxidante.

– Hipótesis secundarias.

La composición fitoquímica cualitativa del extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas pos cosecha de la especie

vegetal *Arachis hypogaea* L (maní) indica presencia de metabolitos secundarios con actividad antioxidante.

En resultado de la aplicación del método del radical libre DPPH en el extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas pos cosecha de la especie vegetal *Arachis hypogaea* L (maní) evidencia su actividad antioxidante.

1.5.2. Variables.

– **Variable independiente.**

Extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas pos cosecha de la especie vegetal *Arachis hypogaea* L (maní).

– **Variables dependientes.**

Composición fitoquímica.

Método del radical libre DPPH.

– **Operacionalización de variables.**

Variable Principal	
Extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas pos cosecha de la especie vegetal <i>Arachis hypogaea</i> L (maní)	
Variables secundarias	
Composición fitoquímica	Compuestos químicos de origen natural, presentes en especies vegetales, con efecto benéfico en la salud
Método del radical libre DPPH	Técnica para evaluar la capacidad antioxidante de alimentos y plantas medicinales, utilizando el radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo

CAPÍTULO II.

BASES TEÓRICAS.

2.1. Antecedentes.

- Larrauri M. Córdoba Argentina. 2016. Estudio de la actividad antioxidante y antimicrobiana de polifenoles obtenidos del tegumento de maní. Llegando a las siguientes conclusiones: El tegumento de maní presenta alto contenido de materia grasa, por lo tanto, es importante desengrasarlo para continuar con el proceso de extracción y purificación de extractos y fracciones de tegumento de maní con alto contenido de compuestos polifenólicos con actividad antioxidante. El tegumento de maní obtenido por un proceso industrial de blanchado permite mayor extracción de fenoles y flavonoides. La partición con acetato de etilo aumenta la concentración de fenoles. En función de los resultados obtenidos, la fracción BAE presenta una mayor potencialidad antioxidante por concentrar en mayor medida a los polifenoles del extracto crudo. ⁽⁵⁾
- Trillos A. Tolima Colombia. 2014. Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana del extracto proteico crudo y su hidrolizado obtenidos a partir de hoja de maní forrajero *Arachis pinto* (Fabácea). Llegando a las siguientes conclusiones: El extracto crudo proteico de *Arachis pinto* tuvo una eficiencia proteica de 47,5 mg/g de hoja, el cual presentó una actividad antimicrobiana sobre *Escherichia coli*, bacteria gram negativa, y frente al hongo *Cladosporium sp.* Se observó una actividad bacteriostática de los hidrolizados del extracto crudo proteico de *Arachis pinto* sobre *Staphylococcus aureus*,

bacteria perteneciente al grupo de gram positivas. El hidrolizado del extracto crudo proteico de *A. pinto* presenta una mejor actividad antioxidante que el Trolox. Sin embargo, no se encontró diferencias significativas entre los tiempos de hidrolizados para este potencial. ⁽⁶⁾

- Domínguez N. Quito Ecuador. 2010. Estudio investigativo del maní análisis de las propiedades nutricionales y medicinales, usos y propuesta gastronómica. Llegando a las siguientes conclusiones: El maní por ser una leguminosa con alto contenido nutricional produce sensación de saciedad lo que ayuda en el control dietario como parte de un estilo de vida y de alimentación sana. El maní es una leguminosa que no solo posee un alto contenido nutricional sino también que aporta beneficios medicinales como por ejemplo reduce el riesgo de enfermedades cardiacas y ayuda a reducir el riesgo de diabetes entre otras más. Se pudo también concluir que la mayoría de consumidores de este agradable producto no tiene los suficientes conocimientos sobre el aporte nutricional y medicinal que esta leguminosa brinda. El maní ha sido llamado el multivitamínico de la madre naturaleza. ⁽⁷⁾

2.2. Marco teórico.

2.2.1. *Arachis hypogaea* L (maní).

Distribución.

La especie *Arachis hypogaea*, var. Peruviana, es una planta originaria de Perú cuyas evidencias se encuentran en los departamentos de Ayacucho, Ancash, La Libertad y Lambayeque, donde fueron encontradas representaciones de los frutos de esta planta en forma de collares de oro y plata en los restos arqueológicos de la tumba del Señor de Sipán, en Huaca Rajada,

en la costa del departamento de Lambayeque, con antigüedad de más de 5,000 años.

Existen otras especies en América del Sur originarias de Bolivia, norte de Argentina y Brasil, países donde se explota esta planta comercialmente como fuente de aceite vegetal. En el siglo XVI, fue llevado por los españoles al continente asiático donde se desarrolló un segundo centro genético y domesticación de esta planta. Actualmente se cultiva en todos los países tropicales y subtropicales.

Aun cuando algunos países asiáticos, como China e India, producen cerca de las dos terceras partes de la cosecha mundial, en la actualidad el maní es una fuente importante de aceite para cocer alimentos en los trópicos americanos, ocupando el segundo lugar respecto a la palma de aceite en África.

Fue a principios del siglo XX cuando los agricultores del sur de Estados Unidos introdujeron esta planta y popularizaron definitivamente su cultivo, sembrándolo en sus plantaciones en vez de algodón.

Los frutos de esta planta constituyen una importante fuente de proteínas de origen vegetal tanto para consumo humano como animal, además genera valiosos ingresos para los pequeños productores de los países en vías de desarrollo, donde se produce el 90 por ciento de la producción mundial. ⁽⁸⁾

Nombres populares.

Se le conoce como: maní, *peanut*, *groundnut*, *earthnut*, *monkey nut*, *Manila nut*, *chinese nut*, *pindar nut* o *goober pea*. ⁽⁸⁾

Descripción botánica.

Es una planta anual herbácea erecta, ascendente, de 15 a 70 cm. de alto, tallos ligeramente pilosos con ramificaciones desde la base, que desarrolla raíces cuando dichas ramas tocan el suelo.

Las hojas: Son uniformemente pinnadas con 2 pares de folíolos oblongos –ovados u ovaovados de 4-8 cm. de largo, obtusos o ligeramente puntiagudos en el ápice, con márgenes completos; las estípulas son lineares puntiagudas, grandes, prominentes, y llegan hasta la base del pecíolo.

Las flores: Son ostentosas, sésiles al inicio que nacen posteriormente en unas cuantas inflorescencias cortas, densas y axilares. El tubo del cáliz es de forma tubular. La corola es de color amarillo brillante de 0.9 – 1.4 cm. de diámetro y el estándar que es de tamaño grande frecuentemente presenta manchas moradas. Las alas son libres de la quilla puntiaguda y de tamaño más grande. Los estambres son 9 y uno diadelfo y en algunas ocasiones 9 y uno monoadelfo. Después de que las flores han sido fertilizadas, el pedicelo verdadero se desarrolla en un tallo o estaquilla de 3-10 cm. de longitud que gradualmente empuja el ovario dentro del suelo. Tan pronto como las flores producen la estaquilla que va al suelo, las flores desaparecen, los frutos maduran y estarán listos para su cosecha en un período de tiempo que dura de 8 a 10 semanas.

Vainas: Se encuentran enterradas de 3 a 10cm debajo de la superficie, son de 1 a 7 cm de largo, abultadas en su interior y con una a cuatro semillas, de color café amarillento, con bordes prominentes reticulados y más o menos deprimidos entre las semillas. La testa es de color rojo claro o rojo oscuro. ⁽⁸⁾

Taxonomía. ⁽⁸⁾

***Arachis hypogaea* en Köhler's Medicinal Plants, 1887.**

Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Orden:	<i>Fabales</i>
Familia:	<i>Fabácea</i>
Subfamilia:	<i>Faboideae</i>
Tribu:	<i>Aeschynomeneae</i>
Género:	<i>Arachis</i>
Especie:	<i>Arachis hypogaea</i> L.

Composición química. ⁽⁸⁾

Los granos frescos son altamente nutritivos y en consecuencia muy importantes en la dieta de millones de personas que carecen de proteínas y de grasas naturales.

Composición química de semillas de maní frescas (%).

Componentes	%
Agua	5.0
Proteína	30.0
Grasa	48.0
Carbohidratos	15.5
Fibra cruda	3.0
Ceniza	2.0

2.2.2. Los radicales libres.

Un radical libre es un átomo o molécula que contiene un electrón desapareado en su orbital exterior. En un organismo normal la combustión química del metabolismo aerobio produce sustancias oxidantes altamente reactivas, tales como: el anión superóxido, peróxido de hidrógeno, entre otras, que también se pueden generar por otros factores como la contaminación ambiental, el consumo de tabaco, alimentos procesados, medicamentos o por la exposición a pesticidas. En condiciones fisiológicas, el organismo neutraliza los

radicales libres con enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, etc. Si la capacidad de control de las sustancias oxidantes por sistemas antioxidantes es superada cambia el balance a favor de la oxidación y se establece el estrés oxidante, que puede provocar grandes daños a células y biomoléculas, como ácidos nucleicos, proteínas, polisacáridos y lípidos. Actualmente se sabe que el estrés celular contribuye a procesos inflamatorios y disfunción endotelial, considerado este último como el factor de riesgo principal de enfermedades cardiovasculares. Por todo lo anterior, resulta de gran importancia entender el papel de los radicales libres en nuestro metabolismo para así comprender su relación con diversas enfermedades crónico-degenerativas en los seres humanos, como las cardiopatías, diabetes y cáncer. ⁽⁹⁾

2.2.3. El proceso de oxidación y los agentes promotores.

Asociado a la función antioxidante se considera el proceso de óxido-reducción que remite a dos momentos básicos:

- Oxidación que implica pérdida de electrones de hidrógeno con la ganancia de oxígeno en la molécula.
- Reducción que significa ganancia de electrones de hidrógeno con la pérdida de oxígeno.

Así el oxidante se reduce al reaccionar con aquella molécula que oxida. Este proceso es cotidiano en el organismo humano y representa el conocido par óxido-reductor o balance rédox. Es pertinente aclarar que a veces el término oxidación sólo se remite a ciertas sustancias aisladas (oxidación de grasa), pero no hay una

comprensión específica de que esta denominación (oxidación) se refiere a procesos celulares, internos que conllevan la aparición de enfermedades. No sólo hay que valorar los mecanismos de defensa del organismo, sino también las especies involucradas. ⁽¹⁰⁾

2.2.4. Estrés oxidativo.

No hay que confundir este mecanismo celular con el estrés cotidiano derivado de las problemáticas que enfrenta el organismo humano en su vida diaria (trabajo, familia, trámites, entre otras). El estrés oxidativo es un término asociado a las células y a la acción de un radical libre que le afecta, así en condiciones normales se da un equilibrio entre la producción de radicales libres u otras especies reactivas con los mecanismos antioxidantes (exógeno y endógeno). Este equilibrio permite que la toxicidad por oxidación sea menor y con menos daño celular.

Cuando se rompe el equilibrio, éste se podrá asociar con un déficit en el sistema antioxidante o por la proliferación descontrolada de los radicales libres. ⁽¹¹⁾

2.2.5. Los antioxidantes dietéticos.

Un antioxidante dietético es una sustancia que forma parte de los alimentos de consumo cotidiano y que puede prevenir los efectos adversos de especies reactivas sobre las funciones fisiológicas normales de los humanos. Las propiedades antioxidantes no sólo deben estudiarse por sus interacciones químico-biológicas, sino por su función en el deterioro oxidativo que afecta a los alimentos. Se utilizan en la industria alimentaria adicionados a las grasas u otros productos para retrasar los procesos de oxidación, en tanto previenen el comienzo de la rancidez oxidativa (grasas). ⁽¹¹⁾

Las frutas y verduras son componentes importantes de una dieta saludable. Un bajo consumo de frutas y verduras está asociado a una mala salud y a un mayor riesgo de enfermedades no transmisibles. Se estima que en 2017 unos 3,9 millones de muertes se debieron a un consumo inadecuado de frutas y verduras.

Incorporar las frutas y verduras a la dieta diaria puede reducir el riesgo de algunas enfermedades no transmisibles, como las cardiopatías y determinados tipos de cáncer. También existen algunos datos que indican que cuando se consumen como parte de una dieta saludable baja en grasas, azúcares y sal (o sodio), las frutas y verduras también pueden contribuir a prevenir el aumento de peso y reducir el riesgo de obesidad, un factor de riesgo independiente de las enfermedades no transmisibles.

Además, las frutas y las verduras son una fuente rica de vitaminas y minerales, fibra alimentaria y todo un cúmulo de sustancias no nutrientes beneficiosas, como fitoesteroles, flavonoides y otros antioxidantes. El consumo variado de frutas y verduras ayuda a asegurar una ingesta adecuada de muchos de esos nutrientes esenciales. ⁽¹²⁾

2.2.6. Compuestos fitoquímicos con actividad antioxidante.

Las sustancias fitoquímicas son elementos químicos que están presentes de manera natural en los alimentos de origen vegetal. Sus beneficios para la salud (especialmente su poder antioxidante y su posible papel en la prevención del cáncer) son investigados de manera exhaustiva en la actualidad.

Los fitoquímicos se encuentran en los alimentos pero no son propiamente nutrientes, ni macronutrientes ni tampoco están

incluidos dentro del grupo de vitaminas ni minerales. Por tanto no tienen función energética ni nutricional y, sin embargo, están presentes en determinados alimentos aportando diversas funciones beneficiosas. Es por ello que los alimentos que contienen sustancias fitoquímicas se denominan alimentos funcionales ya que, además del componente nutricional, también aporta otro tipo de ventajas para la salud.

En una dieta habitual y saludable podemos encontrar una cantidad de componentes fitoquímicos que sea suficiente para ejercer sus beneficios en nuestro organismo. Asimismo, la combinación en el mismo alimento de diferentes compuestos fitoquímicos potencia y mejora los efectos de los mismos, más que si se tomaran por separado o a modo de suplementación. ⁽¹³⁾

2.2.7. Funciones y beneficios del consumo de los fitoquímicos.

Muchos de los fitoquímicos aportan cualidades organolépticas o sensoriales a los alimentos donde están presentes. Estos compuestos son los encargados de asignar color, olor y sabor a los platos. Pero, además, el consumo de componentes fitoquímicos presentes en los alimentos está asociado a múltiples beneficios para la salud. Este es un campo que está en plena investigación y se continúan descubriendo nuevos efectos de los mismos.

Los carotenoides son elementos pro-vitamina A, así que poseen funciones similares a esta vitamina: colaboran en mantener una correcta visión, la integridad del sistema óseo y epitelial y es importante también durante la lactancia materna, ya que colabora en la producción láctea.

Varios de los fitoquímicos, en especial, fenoles y terpenos, entre ellos flavonoides y carotenoides, tienen una función eminentemente antioxidante, lo que quiere decir que colaboran en reducir las inflamaciones y actúan como protectores en enfermedades cardiovasculares: infartos, anginas de pecho, hipertensión arterial, arterioesclerosis, etcétera. Uno de los más famosos en este momento es el resveratrol, cuyo nombre seguramente hayas escuchado asociado al vino.

Otro de los efectos más publicitados de las sustancias fitoquímicas es su posible relación en la prevención de determinados procesos tumorales o cancerosos. Esta función se lleva a cabo a través de la conversión de sustancias potencialmente tóxicas o nocivas en otras no peligrosas. También el comportamiento antioxidante participa de manera positiva en esta protección. ⁽¹³⁾

2.3. Marco conceptual.

- Antioxidantes: Los antioxidantes son compuestos los cuales pueden inhibir o retardar la oxigenación de otras moléculas inhibiendo la iniciación y/o propagación de las reacciones en cadena de los radicales libres. ⁽¹⁴⁾
- Capacidad antioxidante: La oxidación y los agentes oxidantes químicamente la oxidación de un compuesto es la pérdida de electrones, de hidrógenos o la ganancia de oxígeno en una molécula. La reducción de un compuesto es exactamente lo contrario; es decir, la ganancia de electrones, de hidrógenos o la pérdida de oxígeno. En tal sentido, un agente oxidante es una molécula que se reduce al reaccionar con la molécula a la cual oxida. ⁽¹⁵⁾

- Fenoles: Son compuestos orgánicos en cuyas estructuras moleculares contienen al menos un grupo fenol, un anillo aromático unido a al menos un grupo funcional. Muchos son clasificados como metabolitos secundarios de las plantas, aquellos productos biosintetizados en las plantas que poseen la característica biológica de ser productos secundarios de su metabolismo. ⁽¹⁶⁾
- Flavonoides: Los flavonoides son compuestos fenólicos de 15 carbonos que se distribuyen en el reino vegetal en más de 2.000 especies de muy diversas familias. Debido a sus propiedades antioxidantes y secuestrantes de radicales libres, se consideran provechosos para la salud humana por su acción protectora en la terapia preventiva de diversas cardiopatías. ⁽¹⁷⁾
- Polifenoles: Los polifenoles son un grupo de sustancias químicas encontradas en plantas caracterizadas por la presencia de más de un grupo fenol por molécula. Los polifenoles son generalmente subdivididos en taninos hidrolizables, que son ésteres de ácido gálico de glucosa y otros azúcares; y fenilpropanoides, como la lignina, flavonoides y taninos condensados. ⁽¹⁸⁾
- Radicales libres: Los radicales libres se pueden definir como sustancias químicas reactivas que tienen un solo electrón desemparejado en una órbita externa. Esta configuración inestable genera energía, que es liberada a través de reacciones con moléculas próximas, como proteínas, lípidos, hidratos de carbono y ácidos nucleicos. ⁽¹⁸⁾
- Absorbancia: Medida de concentración del material presente, negativo de la Transmitancia ($-\log T$) del producto de coeficiente de extinción,

paso óptico y la concentración en función de T, $A=\log(1/T)$, donde la absorbancia es adimensional. ⁽¹⁹⁾

- Analito: El material particular o cualidad a ser determinada en un análisis. ⁽¹⁹⁾
- Calibración: Conjunto de operaciones que establecen, bajo condiciones especificadas, la relación entre los valores indicados por un instrumento o un sistema de medición o los valores representados por una medida materializada y los valores correspondientes realizados por los patrones o materiales de referencia. ⁽¹⁹⁾
- Concentración: La cantidad de un soluto en un volumen determinado de solución, Ej., moles por litro. ⁽¹⁹⁾
- Cubeta o celda: Receptáculo transparente en el cual las soluciones de muestra son introducidas en la senda de la luz del espectrómetro. Generalmente cuenta con dos lados iguales Ej., 1 cm, 1 cm mientras que la tercera dimensión es alargada posiblemente tan grande como 15 cm. Para trabajos en ultravioleta, el material es cuarzo. El trabajo en zona visible permite utilizar celdas de vidrio o plástico. ⁽¹⁹⁾
- Solvente: Líquido usado para disolver la muestra a analizar. Comúnmente agua o metanol de alta pureza. Generalmente designado, especialmente o purificado para trabajo en ultravioleta, Ej., "Spectro-Quality" o "Spectro-Grade". ⁽¹⁹⁾
- Espectrofotómetro de Simple Haz (Un solo haz): Es un instrumento que tiene una trayectoria óptica. La muestra y el disolvente puro (o el reactivo que funciona como blanco) se examinan por separado para establecer P y Po y realizar las mediciones de absorbancia. Por lo general, se opera en forma manual. ⁽¹⁹⁾

- Fuente: También conocida como "lámpara". Este es el origen de la luz utilizada en el espectrómetro, y puede ser una fuente incandescente para la zona visible o una lámpara de descarga de gas de deuterio para el ultravioleta. ⁽¹⁹⁾
- Lámpara de Tungsteno: Es una lámpara de luz, eléctrica, que tiene un filamento calentado por electricidad y que es tungsteno metálico. Al igual que otros sólidos incandescentes, el filamento da una longitud de onda continua que se aproxima a la "radiación de cuerpo oscuro". En condiciones normales de operación, la lámpara es adecuada como una fuente para la región visible del espectro y es útil sólo para distancias cortas en las regiones ultravioleta e infrarrojo. ⁽¹⁹⁾
- Ley de Beer: Relación entre la cantidad de luz absorbida por un analito y su concentración, paso óptico y absorptividad, expresada en gramos por 100mL o molaridad, escrito como $A = \epsilon bc$. ⁽¹⁹⁾
- Longitud de Onda: La distancia de una cresta, de una onda electromagnética a la misma posición en la onda subsecuente. Distancia pico a pico, generalmente medida en nanómetros. ²⁰
- Magnitud (Medible): Atributo de un fenómeno, de un cuerpo o de una sustancia, el cual es susceptible de ser identificado cualitativamente y determinado cuantitativamente. ⁽¹⁹⁾
- Matriz: Medio en el que se encuentra el analito. ⁽¹⁹⁾
- Mensurando: Magnitud particular sujeta a medición. ⁽¹⁹⁾
- Nanómetro: (nm) Antiguamente milimicrón o milimicra, $m\mu$. Es una unidad común para la longitud de onda, en particular para la región ultravioleta-visible. $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$. ⁽¹⁹⁾

- Patrón de Medición: Medida materializada, instrumento de medición, material de referencia o sistema de medición, destinado a definir, realizar, conservar o reproducir una unidad o uno o varios valores de una magnitud para servir de referencia. ⁽¹⁹⁾
- Protocolo: Instrucciones detalladas para la realización de todos los aspectos de un programa de medición. ⁽¹⁹⁾
- Referencia. (Blanco): En el contexto, todo lo que está en el paso de luz de la muestra excepto el analito de interés: cubeta, disolvente y cualquier buffer o matriz para preparar la muestra. ⁽¹⁹⁾
- Selectividad: La selectividad de un método analítico denota el grado de ausencia de interferencias debidas a otras especies contenidas en la matriz de la muestra. ⁽¹⁹⁾
- Sensor: Elemento de un instrumento de medición o de cadena de medición, que está directamente afectado por el mensurando. ⁽¹⁹⁾
- Señal: La salida del detector debida a su respuesta a la luz emergente del contenedor de la muestra o de referencia. ⁽¹⁹⁾
- Técnica: Principio químico o físico utilizado separadamente o en combinación con otras técnicas para analizar la composición de los materiales. ⁽¹⁹⁾
- Transmitancia, T: Es la fracción de la energía radiante incidente que transmite o emite la muestra. $T=P/P_o$. A menudo se expresa como un porcentaje: $\%T= (P/P_o) \times 100$. ⁽¹⁹⁾
- Trazabilidad: Propiedad del resultado de una medición o de un patrón de medición, por medio de la cual estos pueden relacionarse a referencias establecidas, generalmente patrones nacionales o

internacionales, por medio de una cadena ininterrumpida de comparaciones teniendo todas ellas incertidumbres determinadas. ⁽¹⁹⁾

- Valor de blanco (en medición): es la lectura o resultado originado por la matriz, reactivos y cualquier sesgo residual, en un proceso o instrumento de medición que contribuye al valor obtenido de una magnitud en el procedimiento de medición analítica. ⁽¹⁹⁾

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA.

3.1. Diseño de la investigación.

3.1.1. Tipo. Descriptivo.

Descriptivo ya que se describieron los resultados obtenidos de la investigación.

3.1.2. Nivel. Observacional.

Observacional porque se observó todos los acontecimientos ocurridos durante el proceso de ejecución de la investigación.

3.1.3. Diseño. Transversal.

Transversal porque los análisis de laboratorio se realizaron en un único momento.

3.2. Población y muestra.

– Población.

Hojas pos cosecha de la especie vegetal *Arachis hypogaea* L (maní), provenientes de la ciudad de Chincha.

– Muestra.

Se recolectó un (1) kilogramo de hojas y tallos para ser seleccionadas y procesadas, de la población en estudio.

3.3. Técnicas y procedimientos de recolección de datos.

3.3.1. Preparación de la muestra recolectada.

- La recolección de la muestra se realizó en la ciudad de Chincha, se descartaron las hojas y tallos en mal estado, solo se conservó, para el estudio, el material óptimo; luego se realizó la limpieza del material con la ayuda de un paño suave, limpio y agua destilada.

- A continuación se realizó el secado natural, para ello, se colocó la muestra espaciada sobre papel kraft, en una mesa de tamaño adecuado, con protección de la luz solar directa, insectos, roedores y polvo, durante siete días.
- Una vez seco el material se realizó la molienda en un molino manual.
- Finalmente se guardó la muestra seca y molida en frascos de color ámbar, con tapa de plástico de boca ancha, para protegerlos de los rayos solares, con rótulos indicando el título del trabajo, autores, y fecha de almacenamiento.

3.3.2. Obtención del extracto hidroalcohólico.

En el laboratorio se obtienen extractos, empleando drogas vegetales y solventes, en este caso, se empleó un equipo percolador artesanal, donde se puso en contacto el solvente (mezcla hidroalcohólica de etanol 96° y agua destilada 50:50) con la droga pulverizada, el proceso se realizó en un solo sentido, alcanzando concentraciones crecientes, de tal modo que el equilibrio entre el solvente dentro y fuera del marco nunca se alcanza, por lo que la droga vegetal siempre estuvo en contacto con nuevas proporciones del solvente, cediendo así, todos sus componentes solubles de manera progresiva.

Se empleó un percolador cilíndrico (botella de vidrio sin fondo) al que se adicionó un dispositivo de descarga (vía de goteo intravenoso) del extracto en su parte inferior. El tiempo en que la droga permaneció en contacto con el menstuo fue de siete días.

Procedimiento.

- Se pesó 50g de la muestra seca y molida, se trasladó al frasco.
- Se midió 250mL del solvente (mezcla hidroalcohólica 50:50).
- Se tomó 5mL del solvente y agregó a la muestra para su humectación lo que permite su esponjamiento, facilitando la entrada del menstuo en las membranas celulares durante la percolación.
- Se instaló el percolador, se colocó la muestra en su lugar y agregó el solvente.
- Se dejó actuar y recogió el extracto al cuarto día, se agregó 100mL del solvente y se dejó actuar por tres días más.
- Se recogió el extracto obtenido.
- El extracto fluido (extracto más solvente) se trasladó a un equipo evaporador rotatorio, para la completa extracción del solvente, con lo que obtuvo el extracto seco (extracto libre de solvente).⁽²⁰⁾

3.3.3. Determinación fitoquímica cualitativa. ^(Anexo 5)

Etapa importante en la investigación en especies vegetales, permite determinar cualitativamente los principales grupos fitoquímicos presentes en una droga vegetal, orienta el fraccionamiento de los extractos, para el aislamiento de los grupos fitoquímicos de mayor interés; se realiza con reactivos químicos que producen cambios en la coloración y formación de precipitados.²²

Los metabolitos secundarios determinados en la muestra en estudio fueron alcaloides, aceites y grasas, triterpenos - esteroides, saponinas, quinonas y flavonoides.

Alcaloides:

Se realiza la determinación usando los reactivos denominados como Dragendorff, Mayer y Wagner, su preparación es la siguiente:

Mayer.

Se disolvió 1.36g de cloruro de mercurio en 60mL de agua y 5g de yoduro de potasio en 10mL de agua, se unieron ambas soluciones y aforaron a 100mL.

Se debe tener en cuenta que este reactivo solo debe agregarse a soluciones previamente aciduladas con ácido clorhídrico (HCl) o ácido sulfúrico (H₂SO₄) diluido; el extracto no debe tener ácido acético o etanol; solo debe agregarse unas cuantas gotas del reactivo porque algunos alcaloides son solubles en exceso de reactivo; la reacción es positiva si aparece un precipitado de color blanco. ⁽²¹⁾

Dragendorff:

Se prepararon dos soluciones, para preparar la solución A, se disolvió 0,85g de nitrato de bismuto pentahidratado en 20mL de ácido nítrico; para la solución B, se disolvió 27,2 g de yoduro de potasio en 50mL de agua, se mezcló ambas soluciones, se dejó en reposo durante 24 horas, se decantó para retirar los cristales de nitrito de potasio formado, luego se aforó a 100mL. La prueba es positiva para alcaloides al producirse precipitados de color rojo, naranja o marrón persistentes. ⁽²¹⁾

Procedimiento analítico para la determinación de alcaloides.

Para la evaluación de la presencia de los alcaloides en el extracto acuoso e hidroalcohólico se realizaron los siguientes procedimientos:

- En un vaso de precipitados de 100mL, se tomó una porción del extracto seco y se solubilizó en 20mL de agua destilada.
- Se agregó 2mL de ácido clorhídrico al 10% para acidificarlo.
- Se homogenizó con ayuda de una bagueta.
- Se calentó con agitación suave en el equipo de baño maría durante 5 minutos, se dejó enfriar y filtró.
- Se tomó cinco tubos de ensayo numerados del uno al cinco, en cada uno de ellos se puso 2 mL del filtrado ácido y frío.
- A los cuatro primeros tubos, se agregó cuatro gotas de uno de los reactivos de Dragendorff, Mayer Wagner y Hager, el tubo número cinco se reserva como referencia del color y aspecto.
- El cambio en el color, formación de turbidez o precipitados (anaranjado, blanco, crema y/o marrón respectivamente), en tres tubos de ensayo, significa una reacción positiva a presencia de alcaloides. ⁽²¹⁾

Aceites y Grasas.

Las grasas o también denominados lípidos, están formadas por combinaciones de ésteres, como la glicerina con los ácidos grasos superiores, entre ellos principalmente el palmítico, oleico y esteárico. Pocos grasas presentan en su composición en cantidades considerables, a los ácidos grasos inferiores, entre ellos la mantequilla.

Presentan insolubilidad en el agua, tienen buena disolución solventes no polares, como el éter sulfúrico, sulfuro de carbono,

benceno, cloroformo y derivados líquidos del petróleo. Los lípidos están presentes en los vegetales y animales. Algunos vegetales almacenan cantidades variables de lípidos en sus frutos, semillas y otras partes.

Existen dos tipos de lípidos, los sólidos o grasas, y los líquidos o aceites; se denomina grasa a las que presentan consistencia sólida o semisólida a temperatura ambiente, mientras que se denomina aceite a las líquidas a temperatura ambiente.

Existen diferentes familias o clases de lípidos, pero las propiedades distintivas de todos ellos derivan de la naturaleza hidrocarbonada de la porción principal de su estructura. Se considera grasa al extracto etéreo que se obtiene cuando la muestra es sometida a extracción con éter etílico.

Para extraer los compuestos grasos se emplea el método de extracto etéreo, para lo cual se emplea el equipo Soxhlet, es muy eficaz y consta en tres partes:

- Refrigerante.
- Extractor, posee un sifón que se acciona automáticamente.
- Recipiente colector, donde se recibe el extracto, (solvente y grasa).

Procedimiento:

El solvente se calentó en el recipiente colector, sus vapores ascienden por el tubo lateral, el refrigerante los condensó y cayeron sobre la muestra que se encuentra en la cámara de extracción paquete de papel de filtro. El solvente se acumuló hasta que el nivel sobrepasó el tubo del sifón, se accionó y el solvente cargado de

materia grasa discurrió al recipiente colector; reiniciándose nuevamente el ciclo, durante el tiempo que dure la extracción, en forma automática e intermitente.

Procedimiento:

- Se pesó 10g de muestra fresca se colocó en un cartucho confeccionado con papel de filtro.
- Se instaló el equipo Soxhlet.
- Se añadió 250mL de éter en el recipiente colector.
- Se hizo circular el agua por el refrigerante y encendió la manta de calentamiento.
- Se efectuó la extracción durante 5 horas.
- Se dejó enfriar y desacopló el equipo.
- Se hizo evaporar el éter (recuperándolo) en el equipo rotavapor.
- Se trasladó el extracto a un vaso de 500 mL y se llevó a la estufa durante tres horas.
- Se dejó enfriar, y recuperó el extracto graso ya seco con ayuda de una espátula,
- Se pesó y anotó los resultados. ⁽²²⁾

Triterpenos y esteroides.

Este grupo de principios activos está constituido por numerosos compuestos, estructuralmente muy similares, derivados mayoritariamente del epoxiesqualeno o en menor número del propio esqualeno. Todos ellos poseen un hidroxilo en el C₃ que les permite la unión con una o varias moléculas glucídicas, dando lugar a estructuras heterosídicas. Pueden establecerse dos grandes grupos dependiendo de su estructura química: triterpenos (tetra y

pentacíclicos) y esteroides. Se encuentran en estos grupos compuestos de gran interés farmacéutico como son los saponósidos y los heterósidos cardiotónicos.

- Se colocó 0.5mL de la muestra en un tubo de ensayo.
- Se le agregó 0.5mL de anhídrido acético y 1 gota de ácido sulfúrico concentrado.
- La reacción es positiva al aparecer una coloración intensa que puede ser azul, verde o naranja. ⁽²²⁾

Compuestos fenólicos totales.

Los compuestos fenólicos tienen su origen en el mundo vegetal. Son unos de los principales metabolitos secundarios de las plantas y su presencia en el reino animal se debe a su ingestión.

Lo más destacable de los compuestos fenólicos son sus propiedades antioxidantes.

Procedimiento.

- Se pesó 1g de la muestra, se trasladó a un tubo de ensayo y añadió 10mL metanol.
- Se homogenizó el contenido de los tubos en el vórtex y centrifugó a 10000 rpm durante 15 minutos a 10°C.
- Se recuperó el sobrenadante.
- A 1mL del sobrenadante recuperado, se agregó una gota de cloruro férrico al 1%.
- El cambio de coloración a rojo, azul, verde, o púrpura indica la presencia de compuestos fenólicos. ⁽²¹⁾

Saponinas.

Se encuentran en diferentes variedades de especies vegetales, como la alfalfa, soya y leguminosas, presentan un efecto negativo

en la asimilación de los nutrientes del alimento. Es considerado como un factor fitoquímico tóxico estable al calor.

Procedimiento

- Se pesó 5g de muestra, en una balanza de precisión y trasladó a un frasco hermético.
- Se adicionó 50mL de metanol, y dejó en maceración por dos días.
- Se filtró y llevó al evaporador rotatorio, recuperándose el solvente.
- Una porción de este extracto se disolvió con agua destilada caliente (en dos tubos de ensayo), se calentó durante 15 minutos en el equipo de baño maría a 70°C, y luego se agitó vigorosamente durante 5 minutos.
- La formación de espuma con apariencia de panal de abejas, estable por unos 30 minutos, se considera positivo a la presencia de saponinas. ⁽²¹⁾

Quinonas.

Los quinonas son pigmentos, cuya característica es su color, que va del amarillo pálido pasando por el anaranjado y el rojo al negro. Estos compuestos se encuentran en la corteza y la raíz de las plantas superiores, en los líquenes, los hongos, las bacterias, los artrópodos y en los equinodermos.

- Se tomó una porción del extracto seco.
- Se solubilizó con 1mL de diclorometano.
- Se le adicionó 1mL de NaOH al 5%.
- Se agitó para homogenizar las fases, se dejó en reposo hasta su separación.

- Si la fase acuosa alcalina (superior), se colorea de rosado o rojo el ensayo es positivo. ⁽²¹⁾

Flavonoides.

Se realizó la determinación cualitativa de flavonoides, siguiendo el siguiente procedimiento:

- Se tomó una alícuota del extracto hidroalcohólico desecado y se colocó en un vaso de precipitados.
- Se agregó 10mL de agua destilada.
- Se solubilizó con ayuda de una bagueta de vidrio.
- Se midió 1mL del extracto acuoso con la ayuda de una pipeta y propipeta.
- Se trasladó a un tubo de ensayo.
- Se agregó un pequeño trozo de magnesio (Mg).
- Se le agregó 1mL de ácido clorhídrico concentrado (HCl) por las paredes del tubo de ensayo, para acidificar la muestra.
- Se dejó en reposo por cinco minutos.
- Luego se visualizó la muestra, la obtención de una coloración entre naranja a violeta, indica que la prueba es positiva. ⁽²³⁾

3.3.4. Método DPPH.

Preparación del radical DPPH.

Se preparó 100mL de la solución de DPPH (2,2- difenil-1-picril-hidrazilo) en metanol a una concentración de 20mg/L.

- Se pesó dos miligramos (2mg) del radical DPPH, en una luna de reloj previamente lavada, seca y tarada.
- Se disolvió en 100mL de metanol al 80% (80mL de metanol y 20 mL de agua destilada).

- La solución se llevó al equipo Vortex por 20 minutos, para lograr su completa disolución.
- La solución de DPPH se guardó en una fiola de color ámbar rotulado, para proteger el reactivo de la luz. ⁽²⁴⁾

Preparación de las soluciones de la muestra.

- Se preparó una solución de la muestra a una concentración de 300ug/mL, para lo cual se pesó 30mg del extracto seco, luego se disolvió en 80mL la solución metanólica al 80% (80 mL de metanol y 20 mL de agua destilada), finalmente se enrasó a 100mL en una fiola.
- Se preparó la disolución de la muestra a una concentración de 600ug/mL, para lo cual se pesó 60mg del extracto seco, luego se disolvió en 80mL de la solución metanólica al 80% (80 mL de metanol y 20 mL de agua destilada), luego se enrasó a 100mL en una fiola. ⁽²⁴⁾

Preparación de las muestras con el DPPH.

- Se tomó 0.75 mL de la solución de la muestra con concentración de 300ug/mL, se le agregó 1.50mL de la solución de DPPH, con lo que se obtuvo una muestra de concentración 100ug/mL (muestra C).
- Luego se diluyó la solución de 300ug/mL con la solución de DPPH en una proporción 1:5, para obtener una concentración de final de 50ug/ml (solución D).
- Luego se tomó 0.75 mL de la solución de 600ug/mL, se le agregó 1.50mL de la solución de DPPH, obteniéndose una concentración final de 200ug/mL (solución A).

- Luego se diluyó la solución de 600ug/mL con la solución de DPPH en una proporción 1:4, para obtener una concentración de final de 150ug/ml (solución B).⁽²⁴⁾

Lectura de las muestras en el espectrofotómetro.

- Se dejó en reposo las muestras por cinco minutos, protegidas de la luz.
- Luego las muestras fueron leídas en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 517nm.
- Se registraron las lecturas obtenidas.⁽²⁵⁾

Preparación del blanco.

- Se preparó el blanco con una solución de metanol y agua destilada en una proporción de dos en uno (2:1), para ajustar el espectrofotómetro a cero.
- Se preparó con 1.5 mL de metanol y 0.75 mL de muestra (solución A).⁽²⁵⁾

Lectura en el espectrofotómetro de las muestras.

- Se conectó el espectrofotómetro UV visible marca UNICO a la red de energía eléctrica, se presionó el botón de encendido, luego se programó la absorbancia a una longitud de onda de 517 μ m.
- Se trasvasó a una celda de cuarzo el blanco de la muestra y se ajustó el equipo a cero.
- Se trasvasó a una celda de cuarzo el patrón de referencia y midió la absorbancia.
- Se trasvasó a una celda de cuarzo la mezcla de DPPH más la muestra (solución A), se midió la absorbancia.

- Se trasvasó a una celda de cuarzo la mezcla de DPPH más la muestra (solución B), se midió la absorbancia.
- Se trasvasó a una celda de cuarzo la mezcla de DPPH más la muestra (solución C), se midió la absorbancia.
- Se anotó los valores de absorbancia obtenidos.

Procedimiento para determinar la actividad antioxidante.

Para la determinación de la capacidad antioxidante o porcentaje de captación de radical libre de la muestra en estudio, se aplicó la siguiente formula: ⁽²⁵⁾

$$\text{Capacidad antioxidante} = 1 - \frac{(A2 - A3)}{A1} \times 100$$

Cálculo de la capacidad antioxidante:

A1= Absorbancia del patrón de referencia

A2= Absorbancia de la muestra

A3= Absorbancia del blanco de muestra

3.4. Técnicas de procesamiento de la información.

- Todos los análisis se realizaron por triplicado.
- Los resultados finales se expresaron como valores promedio.
- Los análisis dieron como resultado valores que fueron ordenados para su presentación, mediante cuadros y tablas, empleando el programa Microsoft Excel 2013.

3.5. Aspectos éticos.

En la investigación realizada, no se incluyó información sobre el estado de salud de seres humanos ni manejo de animales de experimentación o biomodelos experimentales, por lo que no se requiere de la realización de una declaración sobre aspectos éticos.

**CAPÍTULO IV.
RESULTADOS.**

4.1. Resultados.

4.1.1. Análisis fitoquímico.

Cuadro Nº 01			
Análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico			
	Metabolito Secundario	Reactivo/Análisis	Resultado
1	Alcaloides	Mayer	-
		Wagner	-
		Dragendorff	+
2	Aceites y grasas	Extracto etéreo	++
3	Compuestos fenólicos totales	Cloruro férrico	++
4	Saponinas.	Prueba espuma	-
5	Quinonas	Bornträger	++
6	Flavonoides	Magnesio	++

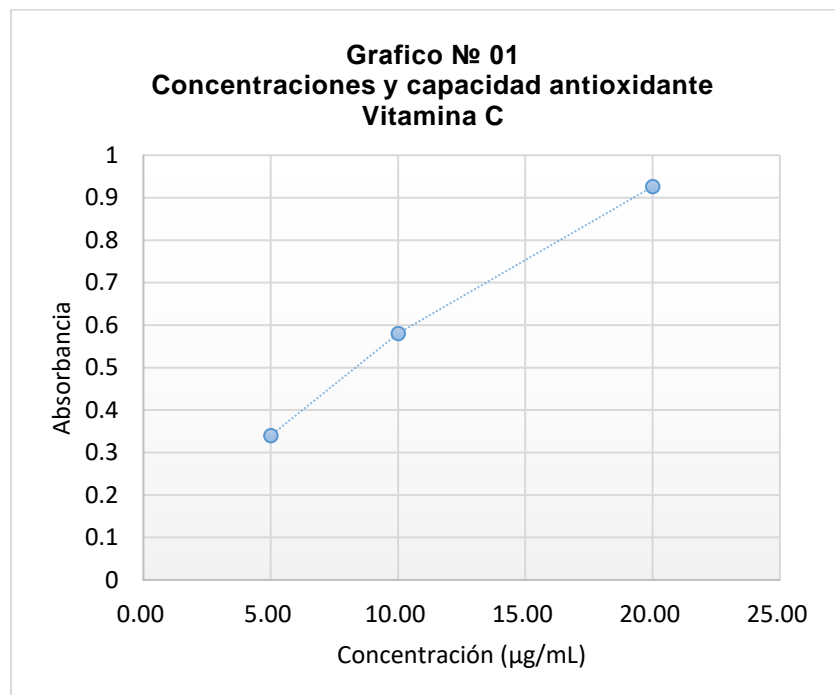
Datos de la investigación.

4.1.2. Determinación de la actividad antioxidante (método DPPH).

a) Concentraciones y absorbancia de la vitamina C.

Cuadro Nº 02	
Concentraciones y absorbancia de la vitamina C	
Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia
20	0.926
10	0.580
5	0.340

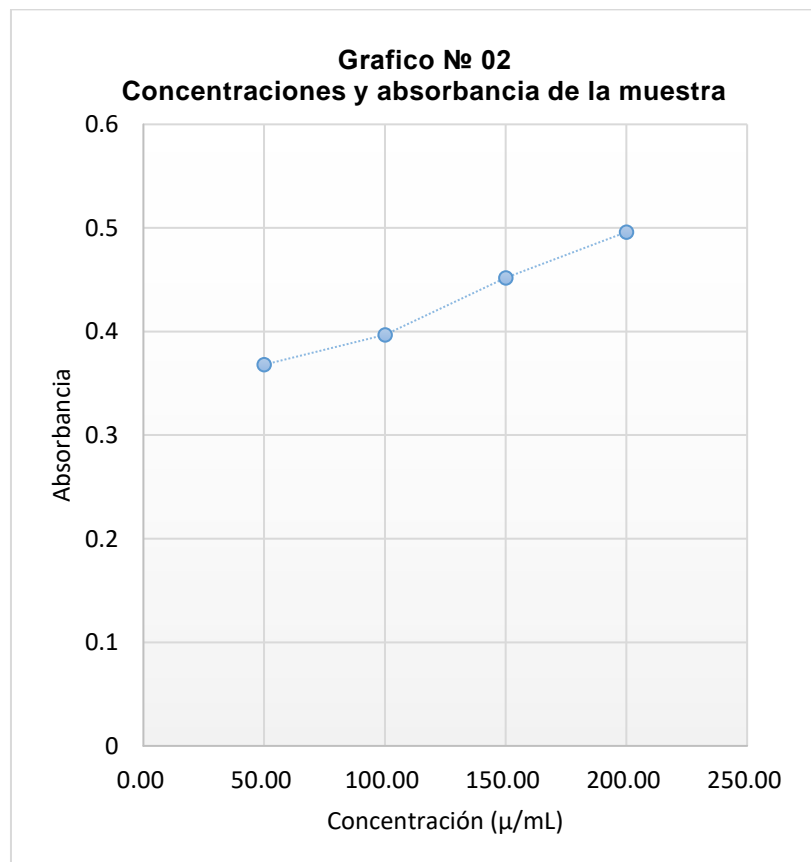
Datos de la investigación.



b) Concentraciones y absorbancia de la muestra.

Cuadro № 03	
Concentraciones y absorbancia de la muestra	
Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia
200	0.368
150	0.397
100	0.452
50	0.496

Datos de la investigación.

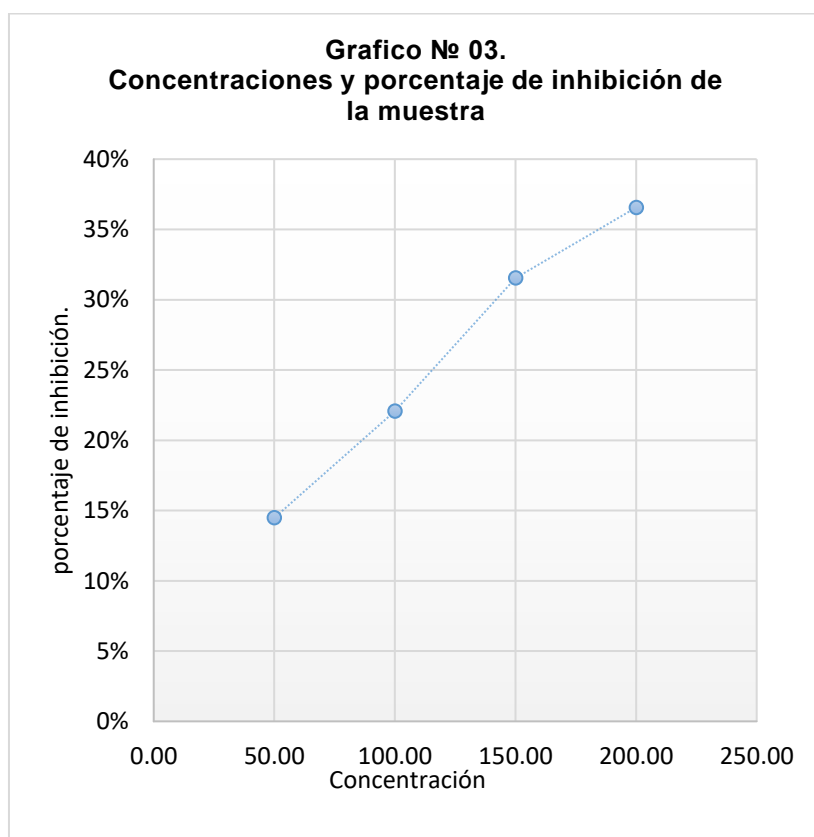


Datos de la investigación

c) Concentraciones y porcentaje de inhibición de la muestra.

Cuadro № 04	
Concentraciones y porcentaje de inhibición de la muestra	
Concentración (ug/mL)	% Inhibición.
200	36.56
150	31.55
100	22.07
50	14.48

Datos de la investigación.



Datos de la investigación.

4.2. Discusión.

La realización del metabolismo en los seres vivos, produce sustancias oxidantes perjudiciales para las células normales, por lo que el organismo lucha por neutralizarlas mediante las enzimas antioxidantes, siendo superada muchas veces, lo que provoca procesos inflamatorios, enfermedades cardiovasculares y otras enfermedades crónicas y degenerativas como cardiopatías, diabetes y cáncer. Los compuestos fitoquímicos están presentes de manera natural en los alimentos vegetales, algunas presentan actividad antioxidante, los residuos de las cosechas pueden presentar contenidos variables de materias de importancia en fitoterapia.

El análisis fitoquímico realizado al extracto hidroalcohólico de las hojas pos cosecha de *Arachis hypogaea* L (maní), tuvo como resultado la determinación de la presencia de aceites y grasas, compuestos fenólicos totales, quinonas y flavonoides; de los cuales, los tres últimos tienen una reconocida actividad antioxidante, los resultados se presentan en el Cuadro Nº 01.

Como parte del estudio, se realizó la preparación de tres soluciones de Vitamina C a las concentraciones de 20, 10 y 5 µg/mL, luego se realizó la lectura espectrofotométrica a 570 nm, las concentraciones y valores de absorbancia se presentan en el Cuadro Nº 02.

A continuación se realizó la preparación de cuatro diluciones con el extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas pos cosecha de *Arachis hypogaea* L (maní), con concentraciones de 200, 150, 100 y 50 µg/mL, luego se realizó la lectura de absorbancia en el espectrofotómetro a 570 nm, las concentraciones y valores de absorbancia obtenidas se presentan en el Cuadro Nº 03.

Con los resultados de las lecturas de absorbancia de la muestra en estudio, con las concentraciones de 200, 150, 100 y 50 $\mu\text{g/mL}$, se aplicó de la formula presentada en la página número 52, con lo que se obtuvo el porcentaje de inhibición el extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas pos cosecha de *Arachis hypogaea* L (maní), la concentración de 200 $\mu\text{g/mL}$, obtuvo el más alto porcentaje de inhibición con 36.56 %, seguido de las concentraciones de 150 $\mu\text{g/mL}$ con 31.55 %, 100 $\mu\text{g/mL}$ con 22.07 % y 50 $\mu\text{g/mL}$ con 14.48 %; las concentraciones y sus respectivos valores de absorbancia se presentan en el Cuadro Nº 04.

CONCLUSIONES.

La evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas pos cosecha de la especie vegetal *Arachis hypogaea* L (maní), permitió llegar a las siguientes conclusiones:

2. Se obtuvo el extracto hidroalcohólico de las hojas pos cosecha de la especie vegetal *Arachis hypogaea* L (maní), para realizar los análisis que permitieron conocer la composición fitoquímica cualitativa y capacidad antioxidante.
3. La evaluación de la composición fitoquímica, reveló la presencia de presencia de aceites y grasas, compuestos fenólicos totales, quinonas y flavonoides, de los cuales, los tres últimos tienen una reconocida actividad antioxidante
4. La evaluación de la actividad antioxidante reveló que la concentración de 200 $\mu\text{g/mL}$, obtuvo el más alto porcentaje de inhibición del radical libre DPPH con 36.56 %, seguido de las concentraciones de 150 $\mu\text{g/mL}$ con 31.55 %, 100 $\mu\text{g/mL}$ con 22.07 % y 50 $\mu\text{g/mL}$ con 14.48 %.

RECOMENDACIONES.

La evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas pos cosecha de la especie vegetal *Arachis hypogaea* L (maní), permitió realizar las siguientes recomendaciones:

1. Resaltar la importancia del consumo de especies vegetales frescos, por ser valiosas desde el aspecto nutricional, también debemos aprovecharlas como fuente de nutraceuticos, de gran importancia en la salud.
2. Buscar utilidad a los desechos de la actividad agrícola, aspecto importante desde el punto de vista de la protección a la ecología y naturaleza.
3. Promover la investigación en especies vegetales autóctonas útiles en fitoterapia.

FUENTES DE INFORMACIÓN.

1. Maldonado O. Et al. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. Rev Med UV, julio - diciembre 2010. Pp 32 – 9.
https://www.uv.mx/rm/num_anteriores/revmedica_vol10_num2/articulos/radicales.pdf
2. Webconsultas. Fitoquímicos. Qué son las sustancias fitoquímicas, funciones y beneficios.
<https://www.webconsultas.com/dieta-y-nutricion/nutrientes/que-son-las-sustancias-fitoquimicas-funciones-y-beneficios>
3. Maldonado O. Et al. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. Rev Med UV, julio - diciembre 2010. Pp 32 – 9.
https://www.uv.mx/rm/num_anteriores/revmedica_vol10_num2/articulos/radicales.pdf
4. Info.agro. Agricultura ecológica. Gestión y tratamiento de residuos agrícolas.
http://www.infoagro.com/hortalizas/residuos_agricolas.htm
5. Larrauri M. Estudio de la actividad antioxidante y antimicrobiana de polifenoles obtenidos del tegumento de maní. Universidad Nacional de Córdoba Argentina. 2016. Tesis para optar al Grado Académico de Doctor en Ciencias Agropecuarias.
<https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/4630/Larrauri%2C%20M.%20Estudio%20de%20la%20actividad%20antioxidante%20y%20antimicrobiana..%20.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
6. Trillos A. Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana del extracto proteico crudo y su hidrolizado obtenidos a partir de hoja de maní forrajero *Arachis pintoi* (Fabácea). Tolima Colombia. 2014. Universidad del Tolima.

Trabajo de grado como requisito parcial para optar por el título de pregrado en Biología.

<http://repository.ut.edu.co/bitstream/001/1257/1/RIUT-AAA-spa-2014-Evaluacion%C3%B3n%20de%20la%20actividad%20antioxidante%20y%20antimicrobiana%20del%20extracto%20proteico%20crudo%20y%20su%20hidrolizado%20obtenidos%20a%20partir%20de%20hoja%20de%20mani%20forrajero%20c%20Arachis%20pintoi.pdf>

7. Domínguez N. Estudio investigativo del maní análisis de las propiedades nutricionales y medicinales, usos y propuesta gastronómica. Quito Ecuador. 2010. Universidad Tecnológica Equinoccial. Tesis previa la obtención del Título de Administradora Gastronómica.

http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/11522/1/40911_1.pdf

8. Gobierno Regional La Libertad. Gerencia Regional de Recursos Naturales y Gestión del Medio Ambiente. Maní. *Arachis hypogaea* L. Var. Peruviana. Trujillo. Perú. 2006.

<http://www.agrolalibertad.gob.pe/sites/default/files/MANUAL%20DE%20MANI%2002-12-2009.pdf>

9. Maldonado O. Et al. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. Rev Med UV, julio - diciembre 2010. Pp 32 – 9.

https://www.uv.mx/rm/num_anteriores/revmedica_vol10_num2/articulos/radicales.pdf

10. Quintanar, M., Calderón, J. La capacidad antioxidante total. Bases y Aplicaciones. Rev Educación Bioq. 2009; 28 (3):89-101

11. Coronado M. Et al. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. Rev Chil Nutr Vol. 42, N°2, Junio 2015. Pp 206 – 12.

<https://scielo.conicyt.cl/pdf/rchnut/v42n2/art14.pdf>

12. Organización Mundial de la Salud. OMS. Biblioteca electrónica de documentación científica sobre medidas nutricionales. Aumentar el consumo de frutas y verduras para reducir el riesgo de enfermedades no transmisibles.
https://www.who.int/elena/titles/fruit_vegetables_ncds/es/
13. Webconsultas. Fitoquímicos. Qué son las sustancias fitoquímicas, funciones y beneficios.
<https://www.webconsultas.com/dieta-y-nutricion/nutrientes/que-son-las-sustancias-fitoquimicas-funciones-y-beneficios>
14. Leighton, F. (2008). Polifenoles y flavonoides. Boletín ciencia vino y salud. Programa bases moleculares de las enfermedades crónicas. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica – Chile.
15. Kuskoski M. Et al. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Revista CONABIO. Chile. 2009.
16. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. 1ª ed. Ediciones Omega S.A. España. 2000.
17. Londoño, J. (2008). Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. Programa de ingeniería de alimentos, Facultad de Ingenierías, Corporación Universitaria Grial-España.
18. Hirano, R. Et al. Capacidad antioxidante de diversos flavonoides contra los radicales DPPH y LDL. Oxidation. Internal Medicina I. Defensa del Colegio Médico Nacional. Tokorozawa. Saitama. Japan. J Nutr Sci Vitaminol (Tokio) 2001,47: 357-362.
19. Universidad de Guanajuato. Contenido. Material didáctico. Química Analítica. Glosario de términos.
<http://www.dcne.ugto.mx/Contenido/MaterialDidactico/amezquita/Analitica3/Glosario%20de%20Terminos.pdf>

20. Miranda M. Cuellar A. Manual de Prácticas de Laboratorio. Universidad de la Habana. Cuba, 2002. p. 44-49.
21. Miranda M. Métodos de análisis de drogas y extractos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana. Ciudad de la Habana. 2002
22. Miranda M. Farmacognosia y Productos naturales 2001. 1ª ed. Ed. Félix Varela. Cuba.
23. Lock O. Investigación Fitoquímica. Primera edición. Pontificia Universidad Católica del Perú. 1998.
24. Guija E. Et al. Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. Horiz Med 2015.; 15 (1): 57 – 60. Enero – marzo 2015.
<http://www.scielo.org.pe/pdf/hm/v15n1/a08v15n1.pdf>
25. Castañeda C. Ramos LL. Ibáñez V. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. Revista Horizonte Médico. Volumen 8, N° 1, Julio 2008.
https://medicina.usmp.edu.pe/medicina/horizonte/2008_1/Art4_Vol08_N1.pdf