UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS PURAS Y NATURALES
CARRERA DE CIENCIAS QUÍMICAS

VALORACIÓN FOTOPROTECTORA *IN VITRO* DE EXTRACTOS FENÓLICOS A PARTIR DE CUATRO VARIEDADES DE QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd*)* DE LA PROVINCIA AROMA DEL DEPARTAMENTO DE LA PAZ

Por: Luz Gabriela Tarquino Flores

La Paz, Bolivia 2018

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS PURAS Y NATURALES
CARRERA DE CIENCIAS QUIMICAS

VALORACIÓN FOTOPROTECTORA *IN VITRO* DE EXTRACTOS FENÓLICOS A PARTIR DE CUATRO VARIEDADES DE QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd*)* DE LA PROVINCIA AROMA DEL DEPARTAMENTO DE LA PAZ

LUZ GABRIELA TARQUINO FLORES

ASESOR:

M.Sc. Lily Salcedo Ortiz

TRIBUNAL REVISOR:

Dr. Yonny Flores

Dra. Maria Eugenia García
(Docente de la materia Prácticas Profesionales)

La Paz – Bolivia

2018

DEDICATORIA

A mi padre Carlos M. Tarquino Cabrera y a mi querida madre, Teodora Flores Pérez quienes siempre me han brindado su apoyo y comprensión; gracias a ellos pude concluir mis estudios satisfactoriamente, ya que pude sentir sus buenos deseos, tanto para mí como para mis hermanos.

A mis hermanas: Ruth, Álvaro y Mauricio, quienes siempre estuvieron para darme su apoyo incondicional e incentivo para forjarme como profesional.

AGRADECIMIENTOS

El haber llegado a este punto de mi formación profesional lo debo a mi familia, razón por lo cual deseo expresar un profundo y eterno agradecimiento a mis padres y hermanos, en especial a mi madre, quien siempre me incentiva a estudiar y me enseño que todo es posible en la vida.

Al personal docente de la Carrera de Ciencias Químicas, de la Facultad de Ciencias Puras y Naturales de la Universidad Mayor de San Andrés por su importante tarea de formar profesionales en el campo.

A mi asesora, M.Sc. Lily Salcedo Ortiz, una gran profesional admirable y respetable, por colaborarme en la revisión del presente trabajo de investigación; además, agradecerle por su desinteresada ayuda que realiza, no sólo a mi persona, sino a todos los estudiantes que requieren una orientación.

Deseo expresar un sincero agradecimiento a la siguiente institución, la Estación Experimental Patacamaya y a su director Ing. Freddy Carlos Mena por el apoyo brindado que de una manera hicieron posible la realización del trabajo de investigación.

Al Ing. M.Sc. Orlando Choque por su apoyo y colaboración desde los primeros momentos en mi camino en la realización de esta memoria, persona a quien admiro.

A mi tribunal revisor conformado por: Dr. Yonny Flores por sus observaciones y sugerencias acertadas para la elaboración final de este documento.

Expresar mi gratitud por la valiosa cooperación recibida a la Lic. Peggy Ormachea y al Lic. Santiago Tarqui por sus sugerencias y comentarios críticos.

A mis señores revisores profesionales con altos conocimientos y de grandes valores quienes me apoyaron en el transcurso de la investigación, como en la redacción del documento presente.

A todos mis amigos y amigas de la Carrera de Ciencias Químicas, por brindarme su amistad y por los muchos momentos felices y tristes que vivimos en nuestra querida Facultad.

A todo ellos mi agradecimiento por su valioso apoyo.

INDICE

I. INTRODUCCION 8

1.1. **Justificación** 8

II. OBJETIVOS 10

2.1. Objetivo General 10

2.2. Objetivos Específicos 10

III. REVISION BIBLIOGRAFICA 11

3.1. Quinua 11

3.1.1. Características de la quinua de las variedades de estudio Kurmi, Phisanqalla, Ajara y Punaya. 12

3.1.2. Análisis proximal en la quinua de las variedades Kurmi, Phisanqalla, Ajara y Punaya 12

3.1.3. Metabolitos secundarios en la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) 13

3.2. Compuestos fenólicos 14

3.2.1. Estructura de compuestos fenólicos 14

3.2.2. Actividad biológica de compuestos fenólicos en la quinua 15

3.3. Radiación Ultravioleta 17

3.3.1. Radiación Ultravioleta en la Altura 18

3.4. Fotoprotección 18

3.5. Actividad antitirosinasa 20

3.6. Nutricosméticos 21

IV. MATERIALES Y REACTIVOS 23

4.1. Materiales 23

4.2. Reactivos 23

V. PARTE EXPERIMENTAL 24

5.1. Localización 24

5.2. Procedencia de muestras. 25

5.3. Procesamiento de las muestras 25

5.4. Análisis proximal 26

5.5. Evaluación de la capacidad de absorción de UV de extractos fenólicos 26

5.5.1. Obtención de los extractos ricos en compuestos fenólicos 26

5.5.2. Análisis fitoquímico 27

5.5.3. Barridos espectrales 29

5.6. Cuantificación de flavonoides totales por el método de $AlCl3$ 29

5.6.1. Preparación de reactivos y soluciones 29

5.6.2. Determinación de flavonoides totales 29

5.7. Evaluación in vitro de la actividad antitirosinasa 30

5.7.1. Preparación de reactivos y soluciones 30

5.7.2. Determinación del porcentaje de inhibición de la Tirosinasa 31

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 32

6.1. Análisis proximal 32

6.1.1. Análisis del contenido de humedad 33

6.1.2. Análisis del contenido de materia grasa 34

6.1.3. Análisis del contenido de cenizas 35

6.1.4. Análisis del contenido de fibra de las cuatro variedades de estudio 36

6.1.5. Análisis del contenido de carbohidratos de las cuatro variedades de estudio 38

6.2. Extractos ricos en compuestos fenólicos 39

6.2. Análisis fitoquímico 42

6.3. Barridos espectrales 44

6.4. Cuantificación de flavonoides totales por el método de $AlCl3$ 45

6.4.1. Análisis estadístico de la cuantificación de flavonoides totales 46

6.5. Determinación *in vitro* de la actividad anti-tirosinasa 48

VII. CONCLUSIONES 49

VIII. RECOMENDACIONES 50

VI. BIBLLIOGRAFIA 51

VII. ANEXOS 56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Actividad neutralizante de radicales libres mediante donación de protones y posterior estabilización de la molécula de flavonoide. 16

Figura 2. Sitios de unión de iones metálicos ($Men+$) en la molécula de polifenol (Pietta, 2000). 16

Figura 3. Mecanismo de la melanogénesis (Fang et al, 2002) 21

Figura 4. Mapa de ubicación del municipio de Patacamaya 24

Figura 5. Flujograma de obtención de extractos ricos en compuestos fenólicos 27

Figura 6. Flujograma del screening de extractos ricos fenólicos 28

Figura 7. Flujograma para determinar actividad anti tirosinasa 31

Figura 8. Contenido de humedad en las variedades de estudio 33

Figura 9. Contenido de materia grasa en las variedades de estudio 34

Figura 10. Contenido de cenizas en las cuatro variedades de quinua 36

Figura 11. Contenido de fibra en las cuatro variedades de estudio 37

Figura 12. Contenido de carbohidratos en las cuatro variedades de estudio 38

Figura 13. Rendimiento total para la obtención de extractos ricos en compuestos fenólicos 39

Figura 14. Curvas de extractos ricos en compuestos fenólicos de las cuatro variedades y sus respectivas ecuaciones lineales 40

Figura 15. Barrido espectral de extractos ricos en compuestos fenólicos de las variedades de estudio 44

Figura 16. Curva de calibración de Quercetina 45

Figura 17. Contenido de Flavonoides totales 46

Figura 18. Promedio de Absorbancias en la cuantificación de flavonoides totales 47

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Composición de aminoácidos de la quinua (*Chenopodium quinoa*) 11

Cuadro 2. Características morfológicas y comerciales de las variedades de quinua: Kurmi, Phisanqalla, Ajara, Punaya 12

Cuadro 3. Composición químico proximal de cuatro variedades de quinua Kurmi, Pisanqalla, Ajara y Punaya. 13

Cuadro 4. Clasificación de los compuestos fenólicos 15

Cuadro 5. Precedencia y color de la muestra 25

Cuadro 6. Etapas de procesamiento de muestras 25

Cuadro 7. Resumen del análisis proximal de las cuatro variedades de quinua según las normas de la AOAC aplicadas por la Norma Boliviana para Cereales-Quinua en grano 32

Cuadro 8. Análisis de varianza del contenido de humedad de las variedades de estudio33

Cuadro 9. Test de Duncan para la variable humedad 33

Cuadro 10. Análisis de varianza del contenido de materia grasa de las cuatro variedades 34

Cuadro 11. Test de Duncan para la variable materia grasa 34

Cuadro 12. Análisis de varianza del contenido de cenizas de las variedades de estudio 35

Cuadro 13. Test de Duncan para la variable cenizas 35

Cuadro 14. Contenido de fibra de las cuatro variedades de quinua..... 36

Cuadro 15. Test de Duncan para la variable fibra de las cuatro variedades 37

Cuadro 16. Análisis de varianza del contenido de carbohidratos de las variedades de estudio 38

Cuadro 17. Numero de extracciones y Rendimiento por cada 100g de muestra 39

Cuadro 18. Grupos fitoquímicos relevantes de los granos de quinua 42

Cuadro 19. Flavonoides totales expresados como mgQue/100g de muestra seca..... 45

Cuadro 20. Análisis de varianza para la variable flavonoides totales 47

Cuadro 21. Test de Duncan para la variable flavonoides totales..... 47

Cuadro 22. Porcentaje de Inhibición de la enzima Tirosinasa en los extractos ricos en compuestos fenólicos..... 48

RESUMEN

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) es una planta que ha alcanzado un valioso reconocimiento por ser una fuente de alimentos altamente nutritivos, así como una especie rica en compuestos fenólicos, principalmente, flavonoides, compuestos con un potencial efecto benéfico para la salud, brindando protección contra múltiples enfermedades. El presente estudio evaluó la capacidad fotoprotectora de extractos ricos en compuestos fenólicos contenidos en cuatro variedades de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*.) provenientes del altiplano central boliviano; dos variedades comerciales: Kurmi (QK) y Phisancalla (QPi) y dos variedades de poco consumo: Ajara (QA) y Punaya (QPu), a través de barridos espectrales, cuantificación de flavonoides totales y actividad antitirosinasa i*n vitro*.

Los resultados mostraron que el extracto rico en compuestos fenólicos de la variedad QPi es la que presenta mayor contenido de flavonoides (92,865$\pm$0,003mg Que/ 100g) y la variedad QA mostró tener contenido mayoritario de compuestos que absorben en el rango de radiación UVA y UVB.

Los extractos ricos en compuestos fenólicos presentaron inhibición para la enzima Tirosinasa, de moderada a baja, destacando el extracto de la variedad QK con un 34% de inhibición.

I. INTRODUCCION

Los nutricosméticos son productos desde alimentos hasta bebidas cargados de nutrientes específicos para mejorar la belleza. El objetivo de los nutricosméticos es tener ingredientes poderosos, perfectamente digestibles y biodisponibles con beneficios de adentro hacia afuera. Así, no se notara cambios inmediatamente, sino gradualmente.

Otro ejemplo es él te verde, las infusiones de esta planta es buena para la salud de la piel, que es perfecto para prevenir el fotoenvejecimiento y que la piel luzca mejor. Tiene un alto contenido en antioxidantes y flavonoides y propiedades anti inflamatorias.

Rea (2001) indica que la quinua subsiste un medio ecológico con límites altitudinales de 3500 y 4000 msnm., donde frecuentemente los suelos son de escaso drenaje. Tiene nutrientes tales como almidón, proteínas, lípidos, vitaminas y minerales, provee ciertos compuestos de estructura fenólica con potenciales beneficios para la salud (Pasko et al, 2009; Repo Carrasco, 2011).

Según estudios realizados, los inhibidores de la enzima tirosinasa pueden ser clínicamente útiles para el tratamiento de algunos transtornos dermatológicos por la alta producción de melanina; ellos también encuentran usos en cosmética para despigmentación después de quemaduras.(Abugoch y Pasko, 2009).

Casanola et al (2012), indica que la tirosinasa juega un rol fundamental en la síntesis de la melanina, debido a que regula directamente la cantidad de melanina producida, su inhibición se ha convertido en una de las estrategias más importantes para el desarrollo de nuevos agentes despigmentantes y en productos médicos y cosméticos.

1.1. **Justificación**

La nutricosmética está cobrando importancia ya que a diferencia de la cosmética tradicional ayuda a tener un estilo de vida saludable; consiste en tomar productos por vía oral permitiendo que los nutrientes lleguen a todo nuestro organismo y actúen a nivel sistémico, gracias a este efecto en todo el organismo, los nutricosméticos intervienen más en profundidad.. Un ejemplo es el té verde, es rico en catequinas que modulan los caminos bioquímicos involucrados en la respuesta inflamatoria y la proliferación celular. Es efectivo

para evitar el daño celular producido en la piel humana por los rayos ultravioletas., mejora la elasticidad de los tejidos en mujeres con fotoenvejecimiento moderado. El mercado para este tipo de alimentos ha aumentado por la concientización del cuidado de la salud.

Los alimentos de altura, como los granos andinos del altiplano sufren un estrés ambiental por las condiciones climáticas en las que se desarrollan, por lo que es de esperar el encontrar compuestos de defensa a las condiciones climáticas, como altos niveles de irradiación UV, frio y sequedad entre otras. Uno de los cultivos de mayor importancia del agro es la quinua que cuenta con innumerables estudios de sus propiedades antioxidantes y su adaptación a diferentes climas y altitudes.

La quinua real es la variedad de exportación tradicional y la que cuenta con muchos estudios, cuyo centro de producción se encuentra en el altiplano sur, principalmente la parte que corresponde al departamento de Oruro y Potosí. No se debe desestimar el hecho de que Bolivia cuenta con muchas variedades de quinua, propias del altiplano sur, central y norte. El altiplano de La Paz, cuenta con innumerables variedades, el manejo de estas quinuas ha sido coadyuvada por la estación experimental Patacamaya de la facultad de agronomía de la Universidad Mayor de San Andrés.

Algunas de estas quinuas son llamadas dulces por el bajo contenido de saponinas, y en los últimos años algunas variedades han aumentado también su producción para el consumo local y para exportación como la quinua en su variedad Jacha grano. Las variedades propias de la provincia Aroma que son de mayor consumo son la Kurmi y la Jacha grano, la variedad Ajara por ser grano pequeño y amargo no se la consume habitualmente, estos granos cuentan con pocos estudios en cuanto sus propiedades funcionales.

Estos antecedentes nos permiten estudiar la composición y las propiedades en extractos de quinua, provenientes del altiplano paceño, revalorizando y aprovechando las cualidades nutritivas y el potencial medicinal que posee.

II. OBJETIVOS

2.1.Objetivo General

- Evaluar las cualidades fotoprotectoras de cuatro variedades de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) de la provincia Aroma del Departamento de La Paz a través de métodos biológicos *in vitro* y espectrofotométricos

2.2.Objetivos Específicos

- Realizar el análisis proximal de cuatro variedades de quinua a través de métodos de la Asociación Oficial De Químicos Agrícolas –AOAC- aplicadas por la Norma Boliviana para Cereales-Quinua en grano.
- Evaluar la capacidad de absorción de UV de extractos fenólicos de las cuatro variedades de quinua a través de barridos espectrales.
- Cuantificar el contenido de flavonoides totales de extractos fenólicos de las cuatro variedades de quinua por el método de tricloruro de aluminio.
- Determinar la actividad antitirosinasa *in vitro* de extractos fenólicos de las cuatro variedades de quinua.

III. REVISION BIBLIOGRAFICA

3.1.Quinua

La quinua es un pseudocereal reconocido por la FAO (2001) como un cultivo importante en la soberanía alimentaria para la humanidad por sus propiedades nutricionales y a su facilidad de adaptación a diferentes climas y altitudes. Son cultivos resistentes que necesitan poco riego y productos químicos para su mantenimiento.

También contiene ácidos grasos esenciales como los ácidos grasos insaturados, destacando su alto contenido de ácido linoleico (50,2-56,1%) y oleico (22,0-24,5%), y moderado de linolénico (5,4-7%) (Walhi, 1990; Ruales y Nair, 1992). Asimismo, la quinua posee un alto contenido de vitaminas del complejo B, C y E, además de minerales tales como: hierro, fósforo, potasio y calcio. Este último se encuentra en la misma concentración que en la leche descremada, mientras que el fósforo es cuatro veces más concentrado que el de ésta (Albarrán, 1993).

El contenido de proteína de la quinua varía entre 13,81 y 21,9% dependiendo de la variedad. Al respecto Risi (1991) acota que el balance de los aminoácidos esenciales de la proteína de la quinua es superior al trigo, cebada y soya, comparándose favorablemente con la proteína de la leche. Su composición del valor nutritivo de la quinua se presenta en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Composición de aminoácidos de la quinua (*Chenopodium quinoa*)

AMINOACIDO	QUINUA	AMINOACIDO	QUINUA
Ácido aspártico	7,8	Leucina	6,1
Treonina	3,4	Tirosina	2,5
Serina	3,9	Fenilalanina	3,7
Ácido glutámico	13,2	Lisina	5,6
Prolina	3,4	Histidina	2,7
Glicina	5	Arginina	8,1
Alanina	4,1	Metionina	3,1
Valina	4,2	Cistina	1,7
Isoleucina	3,4	Triptófano	1,1
% de N del grano			**2,05**
% de proteína			**12,8**

Fuente: Repo.Carrasco, 1992

3.1.1. Características de la quinua de las variedades de estudio Kurmi, Phisanqalla, Ajara y Punaya.

Bonifacio et al (2012) indica que las características morfológicas de la planta de la quinua presentan una gran diversidad encontrándose colores rojo, purpura, verde, y bicolor. De la misma forma, el tipo de inflorecencia o panoja y el color del grano entero presentan colores rojo, anaranjado, rosado, amarillo, crema, negro y blanco con un rango de tonalidades dentro de cada grupo de color.

Cuadro 2. Características morfológicas y comerciales de las variedades de quinua: Kurmi, Phisanqalla, Ajara, Punaya

Variedad	Rendimiento (kg/ha)	Color	Tamaño	Diámetro (mm)	Presencia de saponina	Usos
KURMI (variedad Blanca)	1200 - 1550	Blanco	Grande	2,5	Ausente (dulce)	Apto para consumo
PHISANQALLA (variedad Roja)	670 – 1236	Café rojizo	Mediano	2,26	Ausente (dulce)	Apto para consumo
AJARA (Variedad Negra)	No determinado	Negro	Pequeño	No determinado	Presente	No determinado
PUNAYA (variedad Blanca)	1037	Blanco rosado	Grande	2,4	Ausente (dulce)	No determinado

Fuente: en base Bonifacio (2012), PROINPA (2005) y Quispe (2017).

3.1.2. Análisis proximal en la quinua de las variedades Kurmi, Phisanqalla, Ajara y Punaya

Los análisis proximales Weende, se aplican a los insumos como la quinua que se usan para formular una dieta como fuente de proteína o de energía y a los alimentos terminados, como un control para verificar que cumplan con las especificaciones (Osborne y Voogt, 1978), (MAFF 1982) y (AOAC, 1984).

Cuadro 3. Composición químico proximal de cuatro variedades de quinua Kurmi, Pisanqalla, Ajara y Punaya.

Variedad	Humedad	Proteína	Lípidos	Fibra	Ceniza	Carbohidratos	Energía Kcal/100g
KURMI (variedad Blanca) a	11,34±0,01	12,11±0,00	6,32±0,00	4,28±0,00	3,86±0,09	66,37±0,11	370,71
PHISANQALLA (variedad Roja) a	11,66±0,04	11,21±0,00	5,21±0,00	3,52±0,00	3,12±0,47	68,79±0,45	366,84
AJARA (Variedad Negra) b	8,92	12,21	5,61	7,08	2,69	62,77	347,69
PUNAYA (Variedad Blanca)	No determinado	No determinado	No determinado	No determinado	No determinado	No determinado	No determinado

Fuente: a; Arzanpalo et al., 2015
b:Reynaga et al.,2011

3.1.3. Metabolitos secundarios en la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd)

La quinua posee una serie de antinutrientes como las saponinas, ácido oxálico, taninos, inhibidores de tripsina y ácido fítico. Las saponinas y el ácido fítico (Gamel et al, 2006), el ácido fitico es un compuesto con actividad antinutricional, debido a su capacidad de formar complejos insolubles con minerales y proteínas (Zhou JR, 1995; Sugiura S. H. et al., 1999) convirtiéndolos en no asimilables por el organismo bajo condiciones fisiológicas (Bindu S. et al., 1998; Tabekhia M.M. et al., 1980), de igual manera actúa el ácido oxálico. Paradójicamente, el ácido fitico, a bajas dósis, presenta también efectos positivos sobre la salud como son su acción protectora frente al cáncer, reducción de la formación de cálculos renales y prevención de enfermedades cardiovasculares (Szkudelski T. 1997). En el organismo, las saponinas ocasionan dolor estomacal, nauseas, ligera diarrea y problemas en la digestión, Parte de estos tóxicos también puede ser asimilada por el organismo, teniendo que pasar por el hígado para ser biotransformados en formas menos tóxicas (Forturbel, 2003).

Además del aporte de nutrientes tales como almidón, proteínas, lípidos, vitaminas y minerales, la quinua es una fuente abundante de flavonoides, principalmente glicósidos de los flavonoles quercetina y canferol (Hirose et al., 2010; Dini et al., 2004), aunque también

se ha detectado epicatequina y glicósidos de miricetina e isorhamnetina en algunas variedades. (Repo-Carrasco et al., 2010).

3.2. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos constituyen uno de los grupos de micronutrientes presentes en el reino vegetal, que forman parte importante de la dieta humana.

Son un amplio grupo de metabolitos secundarios sintetizados por las plantas durante su desarrollo normal y en respuesta a condiciones de estrés causada por agentes bióticos (patógenos, herbívoros, etc.) y abióticos (radiación ultravioleta, sequía, etc.) (Naczk y Shahidi, 2006). Químicamente son estructuras formadas por un anillo aromático unido a uno o más grupos hidroxilo, siendo frecuente encontrarlos naturalmente conjugados con uno o más residuos de azúcar, aunque en ocasiones pueden encontrarse unidos a otros ácidos, aminas, lípidos y a otros compuestos fenólicos (Bravo y Saura-Calixto, 1998).

La mayoría de los compuestos fenólicos no son pigmentos; sin embargo, son de igual importantes pues son responsables de la pérdida de color, principalmente el oscurecimiento, que se desarrolla durante el almacenamiento y procesamiento de frutas y verduras, formando parte de las reacciones de oscurecimiento enzimático y no enzimático (Lee, 1992).

3.2.1. Estructura de compuestos fenólicos

Se han llegado a identificar más de 8.000 compuestos fenólicos con estructura muy variada, por lo que su clasificación es una tarea compleja. Una de las más utilizadas es la propuesta por Harborne, (1989) que clasifica estos compuestos en grupos basados en el número de carbonos en la molécula (Tabla 1.1.). De esta manera, los compuestos fenólicos comprenden desde moléculas simples, como los ácidos benzoicos hasta polímeros complejos como los taninos condensados. Cada una de las familias agrupa un número de compuestos más o menos variado, siendo el grupo de los flavonoides uno de los más estudiados. A continuación se describen brevemente los grupos de compuestos fenólicos de mayor importancia en alimentos.

Cuadro 4. Clasificación de los compuestos fenólicos

Estructura	Clase
C6	Fenoles simples
C6-C1	Ácidos fenólicos
C6-C2	Acetofenonas, ácidos fenilacéticos
C6-C3	Acidos cinámicos, cumarinas, isocumarinas
C6-C4	Naftoquinonas
C6-C1-C6	Xantonas
C6-C2-C6	Estilbenos, antraquinonas
C6-C3-C6	Flavonoides, isoflavonoides
(C6-C3)2	Lignanos
(C6-C3-C6)2	Biflavonoides
(C6-C3)n	Ligninas
(C6-C3-C6)n	Taninos condensados

Fuente: Adaptado de Harborne, (1989).

3.2.2. Actividad biológica de compuestos fenólicos en la quinua

Pasko et al. (2009) y el grupo de Repo-Carrasco-Valencia et al. (2011) analizaron el contenido de compuestos fenólicos en la quinua encontrándose que la quinua presentó mayor actividad antioxidante que el amaranthus debido a la mayor presencia de compuestos fenólicos en la quinua. Se ha descrito también que extractos fenólicos obtenidos de la quinua presento una fuerte actividad anticancerígena (Gawlik-Dziki U. et al. 2013)

Carrillo et al. (2015) menciona que se han descrito diferentes actividades biológicas de componentes aislados de quinua como actividad antibacteriana, antitumoral, antioxidante, antiinflamatoria y antihipertensiva, demostrando que la quinua puede ser una buena fuente de compuestos bioactivos.

Los mecanismos de **acción antioxidante** de los compuestos fenólicos son diversos. Cada compuesto fenólico actuará por uno o más mecanismos, según sus propiedades características. De manera general, los compuestos fenólicos pueden actuar como antioxidantes mediante dos mecanismos principales: la neutralización de radicales libres y la quelación de metales (Rice-Evans et al., 1996).

Mecanismo 1:

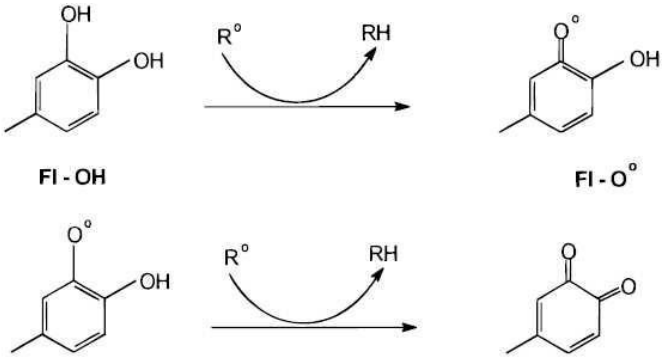


Figura 1. Actividad neutralizante de radicales libres mediante donación de protones y posterior estabilización de la molécula de flavonoide.

Mecanismo 2:

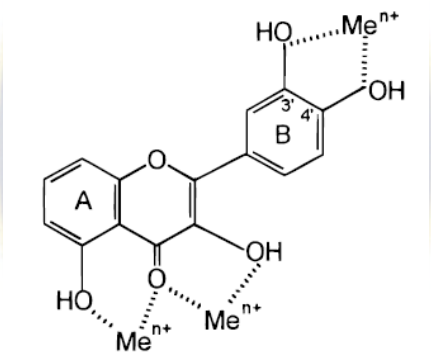


Figura 2. Sitios de unión de iones metálicos (Me^{n+}) en la molécula de polifenol (Pietta, 2000).

Un aspecto importante a tener en cuenta es la dependencia de la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos con su solubilidad relativa en fase acuosa o lipídica. Los flavonoides y los ácidos cinámicos poseen coeficientes de partición intermedios, que dependen en gran medida de su estructura química y de los sustituyentes presentes (grupos hidróxilo, metóxilo, azúcares y otros.).

Generalmente, los compuestos hidrofóbicos entran en las células más rápido que los hidrofílicos por procesos de difusión simple. Una vez en el organismo, los compuestos fenólicos más hidrofóbicos tendrán su destino en ambientes lipídicos y los más hidrofílicos permanecerán en medios prevalentemente acuosos (Parr y Bolwell, 2000). Así, la unión de azúcares hace a los compuestos fenólicos más hidrosolubles pero disminuye su actividad antioxidante (Rice-Evans et al., 1997). Por ello, los compuestos fenólicos con más afinidad

por los ambientes lipídicos del organismo podrían tener una mayor relevancia en la prevención de enfermedades.

Los flavonoides pueden actuar como moduladores de la actividad enzimática, agentes alelopáticos, protectores solares que absorben los rayos UV, atractores de insectos o repelentes, guías de néctar, estimulantes de sondeo, protectores virales, fúngicos y bacterianos y atrayentes para la germinación del polen (Crozier et al., 2006). Como consecuencia del agotamiento de la capa de ozono estratosférico, más radiación solar UV-B alcanza el suelo, lo que desencadena la acumulación de flavonoides en una variedad de plantas. Los flavonoides pueden detener la dañina radiación UV-B y especialmente las especies reactivas de oxígeno que se forman en condiciones estresantes, evitando así la oxidación de biomoléculas vitales (Agati et al., 2012; Kotilainen et al., 2010; Agati y Tattini, 2010). En las últimas tres décadas, un gran número de estudios han demostrado cómo el metabolismo de los flavonoides se ve afectado por el aumento o la exclusión de UV-B, así como las interacciones con otros factores estresantes ambientales (Zhang y Bjo¨n 2009, Schreiner et al., 2012).

3.3. Radiación Ultravioleta

La energía proveniente del sol que incide sobre la superficie de la tierra consta principalmente de radiación infrarroja, visible y ultravioleta (UV). La porción del espectro solar correspondiente al UV (cerca del 7%) afecta en gran manera la vida sobre la tierra. Pequeñas cantidades de UV son necesarias en los seres humanos para asimilar la vitamina D; en las plantas bajo condiciones normales ayudas en el proceso de fotosíntesis pero cuando la exposición a este tipo de radiación es exagerada, los sistemas biológicos pueden verse afectados. La radiación UV rompe ciertas moléculas biológicas, como el ADN, siendo la principal causa del cáncer de piel. A nivel ocular, una gran exposición a radiación UV puede causar cataratas (Bohórquez-Ballén y Pérez Mogollón, 2007).

La banda de radiación ultravioleta suele dividirse en tres bandas, conforme a los efectos que tienen sobre la vida:

• UV-A, que es la cercana a la radiación visible (320-400 nm): es responsable del bronceado de la piel.

• UV-B, llamada también biológica, varía entre 280 y 320 nm. A pesar de ser una banda muy estrecha, tiene una importancia fundamental para la vida. Dosis excesivas de UV-B pueden provocar daños a la piel, la vista y el sistema inmunológico, como se analizará en la Parte B de este libro. La mayor parte de esta radiación es atenuada por la capa de ozono.

• UV-C representa la banda más peligrosa para la vida y se extiende entre 100 hasta 280 nm. En efecto la vida evolucionó sin conocerla, ya que la UV-C es absorbida totalmente por la atmósfera. La UV-C se produce artificialmente en la industria de los germicidas y naturalmente en las estrellas. Por eso es necesario salir de la atmósfera terrestre y colocar telescopios en órbita para poder observar la radiación UV-C proveniente del cosmos (Zaratti, F et al., 2003).

3.3.1. Radiación Ultravioleta en la Altura

El altiplano andino presenta especiales condiciones de irradiación solar que lo califican como una de las regiones más soleadas del planeta (Palenque E. et al.,1998) con valores medios de 850-890 W/m2 y temperaturas medias menores a 15°C. Estas condiciones de irradiación contribuyen a un deterioro estructural y funcional de las células.

Nos centraremos en la radiación UV-B ya que es la más perjudicial, la dependencia de la UV-B con la altura se debe a dos efectos: reducción de la atmósfera (menos dispersores de la radiación) y reducción del contenido de ozono. Sin embargo intervienen críticamente otros factores, como el cambio en el albedo (porcentaje de energía reflejada por la superficie terrestre), la altura efectiva a la cual se mide la UV-B, la disminución del contenido de aerosoles y el ángulo cenital, factores que afectan diversamente las diferentes longitudes de onda. Se entiende entonces que no exista un valor único para el incremento porcentual de la UV-B con la altura, habiéndose obtenido valores que varían entre 5% y 50 % por km para el incremento de la UV-B eritémica (o sea la UV-B medida con referencia al daño que produce en la piel). Medidas realizadas en Bolivia, entre La Paz (3420 m snm) y Chacaltaya (5300 m snm) muestran un incremento de 7% por km para UV-B eritémica (Zaratti, 2003).

3.4. Fotoprotección

Si bien el primer paso que se debe tomar para evitar daños causados por la radiación solar es evitar exposiciones innecesarias y, principalmente, evitar exponerse al sol entre las 10

am y las 3 pm, existen diferentes mecanismos de protección que permiten cuidar nuestra salud en relación a la radiación solar.

Se puede clasificar a los mecanismos de fotoprotección solar en dos grupos:

Primer Grupo, comprende todos los mecanismos naturales mediante los cuales el cuerpo humano se protege de la radiación solar. Dentro de esta categoría se encuentran la melanina, el sudor y el aumento de grosor de la capa córnea. Los mecanismos naturales de fotoprotección no son controlados de un modo directo por las personas ya que son respuestas fotobiológicas del organismo.

Segundo grupo, comprende a los **fotoprotectores artificiales**, son productos que absorben, reflejan o dispersan la radiación ultravioleta solar con el fin de proteger la piel o los ojos de las personas. De acuerdo al mecanismo general mediante el cual cumplen su función protectora, se los suele dividir en tres grupos: fotoprotectores tópicos, sistémicos y externos.

i. **Fotoprotectores tópicos,** los fotoprotectores tópicos son drogas que protegen la estructura y función de la piel contra los daños causados por la radiación solar, denominados filtros o bloqueadores solares cuyo uso es tópico (no se los ingiere).

Es común clasificar a los fotoprotectores tópicos en dos grupos:

Filtros o bloqueadores solares de barrera o físicos, una de las principales características de este tipo de bloqueadores es que no absorben selectivamente la radiación ultravioleta. Son aplicados en forma de una delgada capa sobre la piel y reflejan o dispersan la RUV y la radiación visible en función del tamaño de las partículas (tipo de compuesto) y del espesor de la película aplicada. Las sustancias más comunes empleadas para hacer bloqueadores de barrera son el óxido de zinc, el dióxido de titanio, el trisilicato de magnesio (talco), el Kaolin, el petrolato rojo y los óxidos de acero.

Filtros o bloqueadores solares Químicos, actúan absorbiendo la radiación ultravioleta en determinadas longitudes de onda (bandas espectrales). Las características específicas de la absorción de un determinado bloqueador dependen, en primera instancia, de los compuestos químicos empleados en el producto (el agente). Es importante destacar que ninguna de las sustancias empleadas en los bloqueadores químicos absorben un 100% de la

radiación, más aún, cuánto absorben y cómo absorben depende de varios factores, entre los cuales vale la pena mencionar: la sustancia empleada como agente, la concentración de la sustancia y el tiempo de exposición de la sustancia al sol.

ii. **Fotoprotectores sistémicos**, los fotoprotectores sistémicos se emplean cuando hay alteraciones en la fotosensibilidad de un individuo, por lo tanto, su empleo requiere el análisis de un especialista.

A continuación se describirá brevemente el efecto de algunos compuestos empleados como fotoprotectores sistémicos:

- ~ β-carotenos: Estos compuestos, contenidos en verduras y frutas, absorben parcialmente la luz visible entre 360 y 500 nm. Su administración es vía oral y, en combinación con bloqueadores solares, puede aumentar la tolerancia al sol.
- ~ Antipalúdicos: Algunos compuestos antipalúdicos, por ejemplo la cloroquina, pueden fortalecer el mecanismo de producción de melanina (nuestro protector solar natural). Sin embargo, su empleo es delicado por los posibles efectos oftalmológicos secundarios.
- ~ Melagenina: Este compuesto tiene lipoproteínas que estimulan la síntesis y proliferación de melanocitos.

iii. **Fotoprotectores externos**, el uso de fotoprotectores externos como sombreros, ropa adecuada y eventualmente, si la actividad del individuo lo requiere, lentes de sol es muy recomendable. En términos generales, los fotoprotectores externos son más importantes que los fotoprotectores tópicos y sistémicos (Forno R., 1997; Rubin, J., 1988; Sanna G., 1999; World Health Organization, 1994).

3.5. Actividad antitirosinasa

Según estudios realizados por Kim et al. (2002), la tirosinasa es la enzima limitante de la velocidad de la biosíntesis de pigmentos de melanina responsables de la coloración del pelo, piel y ojos. También es conocida como la polifenol oxidasa, es una enzima multifuncional que contiene cobre y que cataliza la oxidación de los monofenoles y los catecoles a o-quinonas. Está ampliamente distribuida en la naturaleza, y se ha encontrado en bacterias, hongos, plantas y animales.

La búsqueda de los agentes químicos naturales capaces de modular el metabolismo de la pigmentación es de gran interés. Por lo tanto, varios han sido probados como cosméticos y productos farmacéuticos para evitar el exceso de melanina en las capas epidérmicas o como agentes blanqueadores (Baurin S. et al., 2002).

Los inhibidores de la tirosinasa se han utilizado en productos cosméticos que se promueven para aclarar la piel (Chiari M., 2010).

Los tratamientos tópicos estándar para los trastornos de hiperpigmentación incluyen inhibidores de la tirosinasa, algunos compuestos con actividad inhibitoria se utilizan en medicina, pero la mayoría de ellos no reúnen todos los requisitos de eficacia clínica, o se observan efectos adversos (Casañola et al., 2007).

Mecanismo de la melanogénesis

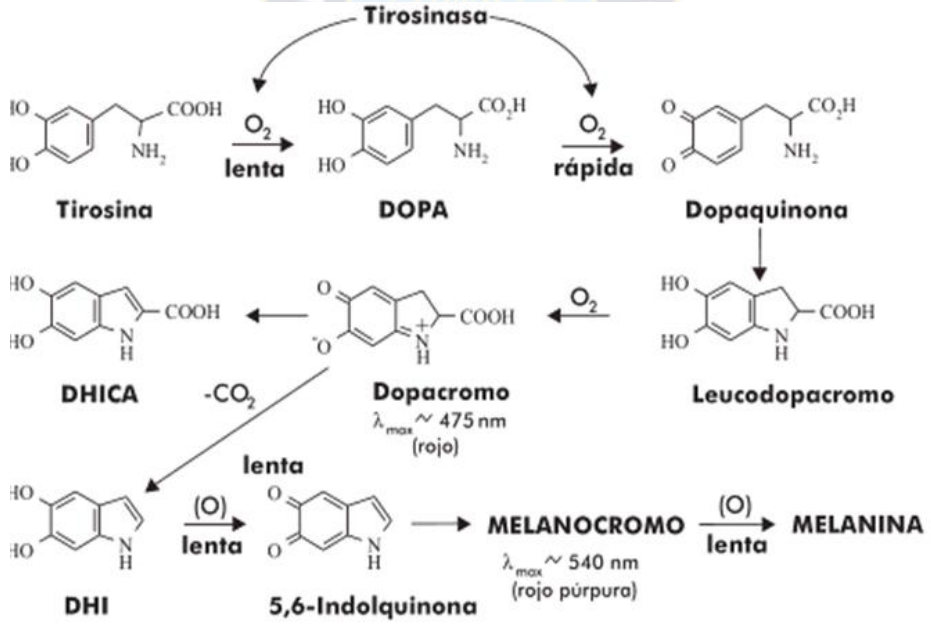


Figura 3. Mecanismo de la melanogénesis (Fang et al, 2002)

3.6.Nutricosméticos

En el siglo V a.C. Hipócrates dijo: “Que tu alimento sea tu medicina y que tu medicina sea tu alimento”. En esta cita el famoso médico griego y filósofo reflexionó sobre la importancia de la nutrición y los efectos que tiene en nuestro organismo. “Eres lo que

comes” afirmó. Así, es cierto que el estado nutricional de una persona se refleja en el aspecto físico. Un aporte deficitario en vitaminas, minerales, ácidos grasos esenciales, aminoácidos y/o otras sustancias repercuten negativamente en el cuerpo. (Barceló, 2017).

Cabe recalcar y aclarar que los nutricosméticos “No son medicamentos, por lo tanto ni previenen ni tratan ninguna enfermedad”. Los nutricosméticos ejercen un efecto directo sobre el aspecto externo, que podemos resumir en el concepto de “belleza interior”. Así, es posible encontrar productos destinados a cuidar la piel, mantener su firmeza, retrasar el envejecimiento, evitar la caída de cabello o mejorar su volumen, y otros. Generalmente, estos compuestos son minerales, vitaminas, ácidos grasos, antioxidantes, polifenoles y extractos de plantas. (Barceló, 2017).

Los “nutricosméticos” son sustancias comestibles que prometen beneficios para que la piel luzca sana y radiante y retrasar el envejecimiento de las células. Además, la mayoría de los principios activos presentes en estos complementos se encuentran en frutas, verduras o cereales, de manera que es discutible el beneficio de agregarlos a la dieta cuando ésta es completa, variada y suficiente, y está acompañada de una ingesta adecuada de líquidos (Raimondi, 2016).

Los nutricosméticos contienen antioxidantes como carotenoides (betacaroteno, licopeno, luteína, xantinas) y polifenoles. Los carotenoides son una clase de pigmentos liposolubles que se encuentran en frutas y hortalizas. También intervienen a favor de la síntesis de melanina y actúan como filtro natural de la radiación ultravioleta. El extracto de té verde es rico en catequinas que modulan los caminos bioquímicos involucrados en la respuesta inflamatoria y la proliferación celular. Es efectivo para evitar el daño celular producido en la piel humana por los rayos ultravioletas. Sin embargo, no se ha determinado la dosis necesaria para observar mejoras en el fotorejuvenecimiento clínicamente cuantificables. Ingerido por vía oral, mejora la elasticidad de los tejidos en mujeres con fotoenvejecimiento moderado (Raimondi, 2016).

IV. MATERIALES Y REACTIVOS

4.1.Materiales

Material biológico

1,5 kg de quinua en su variedad Kurmi (blanca); 1,5 kg de quinua en su variedad Punaya (blanca); 1,5 kg de quinua en su variedad Phisanqalla (roja); 1,5 kg de quinua en su variedad Ajara (negra); 100 g de Té verde en hojas (Chapare, Industria Boliviana).

Material de laboratorio

Vasos de precipitado de 500mL, varilla de vidrio, balón de vidrio de 500mL, cajas Petri, tubos de ensayo, crisoles, magneto, refrigerantes, embudo buchner, matraces Erlenmeyer de 250mL.

Equipos

Equipo soxleth, moledora (BOSCH), equipo de rota evaporador (BUCHI); agitador magnético (MR HEI-TEC HEIDOLPH), estufa, centrifugadora 0-4000rpm (POWERSPIN UNICO); Espectrofotómetro UV-visible (10S Thermo Scientific), balanza analítica de capacidad de 1mg-200 g (Ohaus Pioneer), pH-metro digital (HI 8424 HANNA), balanza electrónica 1 mg – 200 g (OHAUS Pioneer), estufa (MEMERT); mufla (WISETHERM, WISD Laboratory Instruments); Espectrofotómetro UV-visible (SPA-960 SUNDOSTIK)

4.2.Reactivos

Etanol 96%, n-butanol, ácido acético, agua destilada, éter de petróleo fracción 60-80, ácido kójico, acetato de potasio, tricloruro de aluminio hexahidratado, ácido sulfúrico, ácido clorhídrico; hidróxido de sodio; patrón quercetina; fosfato de potasio; L-tirosina (sustrato); enzima L-tirosinasa; dimetilsulfoxido.

V. PARTE EXPERIMENTAL

5.1. Localización

La estación experimental se encuentra en el Municipio Patacamaya se encuentra a 101 km. de la ciudad de La Paz, se constituye en la capital de la Quinta Sección de la Provincia Aroma del departamento de La Paz y está ubicado al Sudeste del departamento en el corazón el altiplano boliviano (PDM Patacamaya, 2010).

Se encuentra entre las coordenadas 17º05’ a 17º20’ de Latitud Sur y 67º45’ a 68º07’ de Longitud Oeste del meridiano de Greenwich, en tanto que la ciudad intermedia está a 17º17’ de Latitud Sur, y 67º55’de Longitud Oeste (Cartas Geográficas IGM 2005).

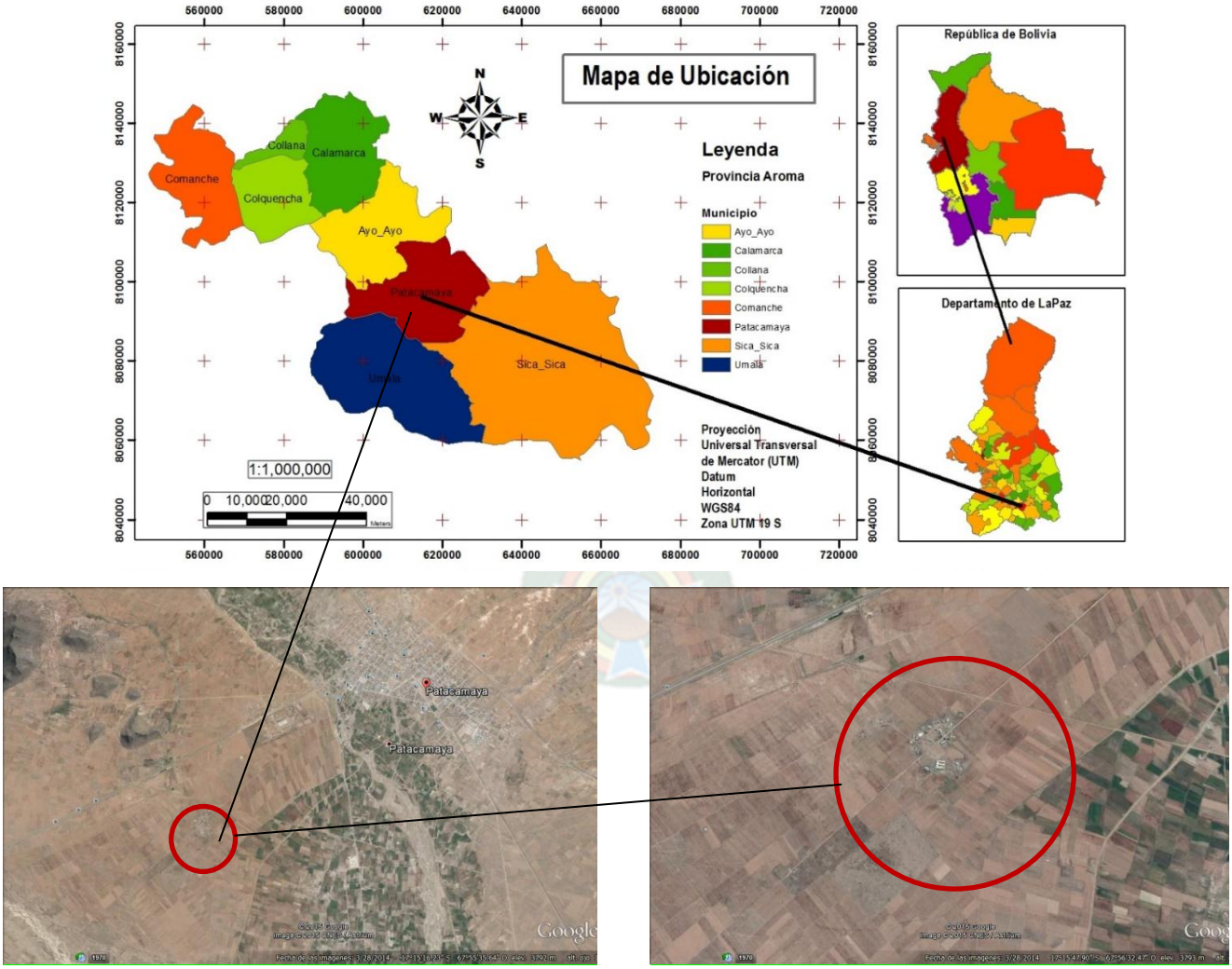


Figura 4. Mapa de ubicación del municipio de Patacamaya

5.2.Procedencia de muestras.

La muestras de las cuatro variedades de Quinua (*Chenopodium quinoa* Willd), Punaya (QPu), Kurmi (QK), Phisanqalla (QPi) y silvestre Ajara (QA) provienen de la región altiplánica central (provincia Aroma del departamento de la paz). Para la obtención de las muestras se realizó siguiendo el método de muestreo al azar, en colaboración de un profesional agrónomo de la Estación Experimental de Patacamaya dependiente de la Facultad de Agronomía de la Universidad Mayor de San Andrés.

Cuadro 5. Precedencia y color de la muestra

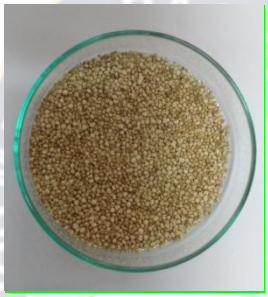
Variedad de quinua	Lugar de recolección	Color
Punaya	Estación experimental Patacamaya 17º15'45'' S y 67 º56' 38'' O	Blanco
Kurmi	Estación experimental Patacamaya 17º15'45'' S y 67 º56' 38'' O	Blanco
Phisanqalla	Municipio de Umala 17º14'52'' S y 67 º59' 52'' O	Rojo
Ajara	Municipio de Umala 17º14'52'' S y 67 º59' 52'' O	Negro

5.3. Procesamiento de las muestras

El procesamiento de las muestras antes de ser analizadas se realizó en colaboración del Ing. Carlos Mena de la Estación Experimental Patacamaya.

Cuadro 6. Etapas de procesamiento de muestras

Los granos de quinua recolectados fueron seleccionados taxonómicamente y almacenados en bolsas ziploc a temperatura ambiente y en lugar seco.				
	VARIEDAD KURMI	VARIEDAD PUNAYA	VARIEDAD PHISANQALLA	VARIEDAD AJARA

De forma manual se lavó los granos de quinua para retirar las saponinas presentes, el lavado se hizo con agua fría hasta no observar espuma.	PROCESO DE LAVADO
El secado se realizó en una estufa a 20°C.	 MUESTRAS SECADAS

5.4. Análisis proximal

Se realizó un análisis proximal según las normas bolivianas (Anexo 2.) con la finalidad de conocer la composición de las muestras de quinua en sus cuatro variedades, además de sus características físicas. La determinación del contenido de proteínas fue realizada por el Laboratorio de Calidad Ambiental (LCA), Calle 27 de Cota Cota, Campus Universitario.

5.5. Evaluación de la capacidad de absorción de UV de extractos fenólicos

5.5.1. Obtención de los extractos ricos en compuestos fenólicos

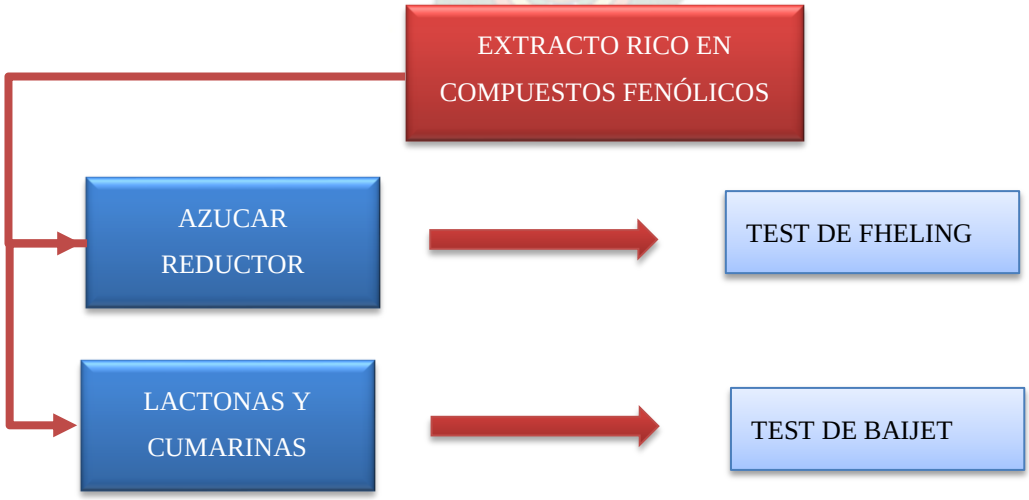
Se procedió con lo descrito por Carciochi R. (2014) con una ligera modificación. Se pesó 100 gramos de grano para luego ser molido en una moledora por 10 min. Luego se procedió con el desengrasado (Anexo 2.). La muestra seca se maceró por 6 hrs con etanol/agua (80:20) en agitación continua, el extracto obtenido se secó en un rotaevaporador.

El extracto de té verde se obtuvo con el mismo procedimiento con la característica que no se hizo el desengrasado previo y se utilizó 50g de muestra seca.

Figura 5. Flujograma de obtención de extractos ricos en compuestos fenólicos

5.5.2. Análisis fitoquímico

Para el análisis fotoquímico se realizó los extractos ricos en compuestos fenólicos con diferentes ensayos para identificar los metabolitos secundarios, se siguió el procedimiento descrito por Santizo I. (2004).



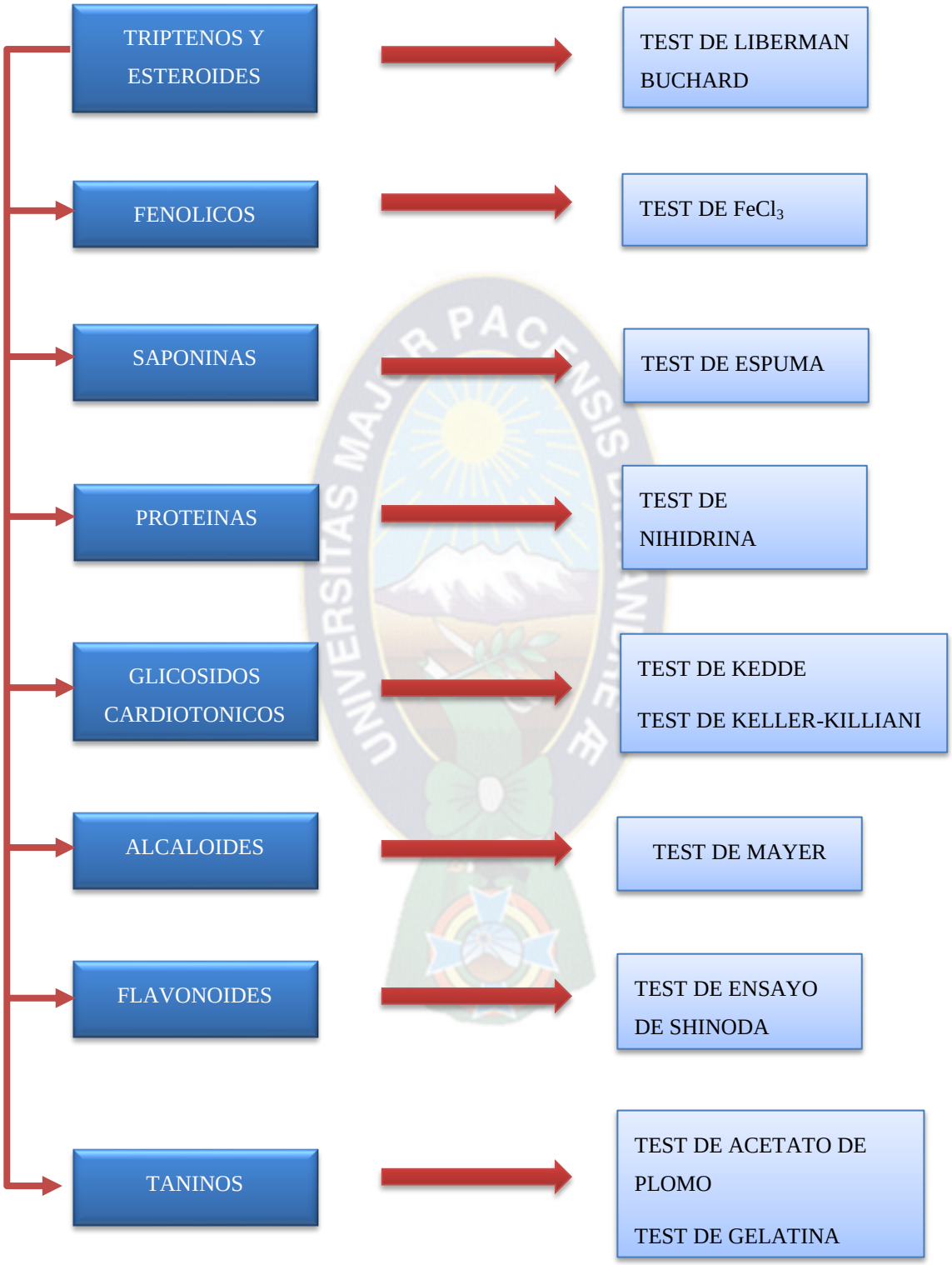


Figura 6. Flujograma del screening de extractos ricos fenólicos

5.5.3. Barridos espectrales

Por otra parte, se determinó el grado de absorbancia UV de los extractos hidroalcohólicos de las cuatro variedades de quinua, extracto hidroalcohólicos de té verde y quercetina, para esto inicialmente se prepararon soluciones, determinándose así que la concentración óptima para realizar los espectros de barrido en UV es de 200 ppm, del extracto de té verde la concentración fue de 25 ppm y de quercetina de 4 ppm. De los espectros UV obtenidos, se analizó la región correspondiente a las radiaciones UVB y UVA (280-400 nm), por el posible potencial efecto fotoprotector. Se siguió el procedimiento descrito por San Martin et al. (2012).

5.6. Cuantificación de flavonoides totales por el método de $AlCl_3$

El contenido de flavonoides se determinó con el método de tricloruro de aluminio, utilizando como estándar la Quercetina, los resultados son expresados como mg equivalentes a Quercetina por gramo de muestra. Se siguió el procedimiento descrito por Chang et al. (2002).

5.6.1. Preparación de reactivos y soluciones

Se prepararon las soluciones y reactivos necesarios para la determinación de flavonoides totales:

- **Preparación de la curva de calibración. -** Un patrón de Quercetina fue usado para realizar la curva de calibración, 5 mg del reactivo fueron disueltos en etanol al 96% y posteriormente, diluidos a 5, 10, 15 y 20 µ/mL.
- **Preparación de Cloruro de Aluminio al 10% p/v**.- se pesó 1,8289g de $AlCl_3 x\ 6H_2O$ y se lo afora a 10mL con agua destilada.
- **Preparación de Acetato de Potasio 1M.-** se pesó 0,9913g de y se aforo a 10mL con agua destilada.

5.6.2. Determinación de flavonoides totales

Las disoluciones de los estándares se tomaron 0,5 mL, fueron mezclados con 1,5 mL de etanol del 96%, 0,1 mL de cloruro de aluminio del 10%, 0,1 mL de acetato de potasio 1 M y 2,8 mL de agua destilada.

Después fueron incubados a temperatura ambiente por 30 minutos, la absorbancia de la mezcla de reacción fue medida a 427 nm.

Para el blanco se utilizó solo agua destilada.

Análogamente, 0,5 mL del extracto en 1000 ppm, se hicieron reaccionar con cloruro de aluminio para la determinación del contenido de flavonas y flavonoles.

5.7. Evaluación in vitro de la actividad antitirosinasa

La Actividad Anti Tirosinasa se realizó por ensayo espectrofotométrico, que es la prueba colorimétrica, enzimática, homogénea, donde la actividad anti Tirosinasa es inversamente proporcional a la concentración de dopaquinona (Momtaz, et al. 2008). La actividad es medida por un espectrofotómetro a una longitud de onda de 492 nm. La fenilalanina es hidroxilada por medio de la enzima fenilalanina hidroxilasa o tirosinasa para la formación de tirosina. Esta se oxida con Cu2+ produciendo catecolaminas, especialmente la L-DOPA siendo ésta la precursora de la melanina y la que puede ser medida a la longitud de onda mencionada por su coloración amarilla.

5.7.1. Preparación de reactivos y soluciones

Se prepararon las soluciones y reactivos necesarios para la determinación de la actividad anti tirosinasa y las enzimas empleadas:

- **Tampón fosfato de potasio 50 mM pH 6.5, con adición de 0,1 M de NaOH.** Se pesó 6.085 g de KH2PO4 (0.002 M) con agua destilada y se afora a 1000 mL. Se toman 142.5 mL de la solución y se agrega 11.6 mL de NaOH al 0.1 M y se afora a 250 mL con agua destilada, se adecua el pH a 6.5.
- **Enzima (L – Tirosinasa 333 U/mL)** Se disolvió 0.20 mg. de L- Tirosinasa en 1 mL. de tampón fosfato (pH 6.5, 50 mM), por cada 1 mL. se pesa 0.20 mg de L-Tirosinasa Sigma-Aldrich.
- **Sustrato L-Tirosina** Se disuelve 3.6 mg de L-Tirosina en 10 mL de fosfato concentración 2 mM.
- **Ácido Kójico** Es usado como control positivo se pesa 20 mg. de este en 1 mL de tampón fosfato, el pH debe ser de 6.5 la concentración es 20 mg/mL.
- **Muestras**. Se pesaron 20 mg de hidrolizados y extractos fenólicos en 1 mL de tampón fosfato el pH debe ser 6.5, si estas no solubilizaran se puede emplear acetona o DMSO.

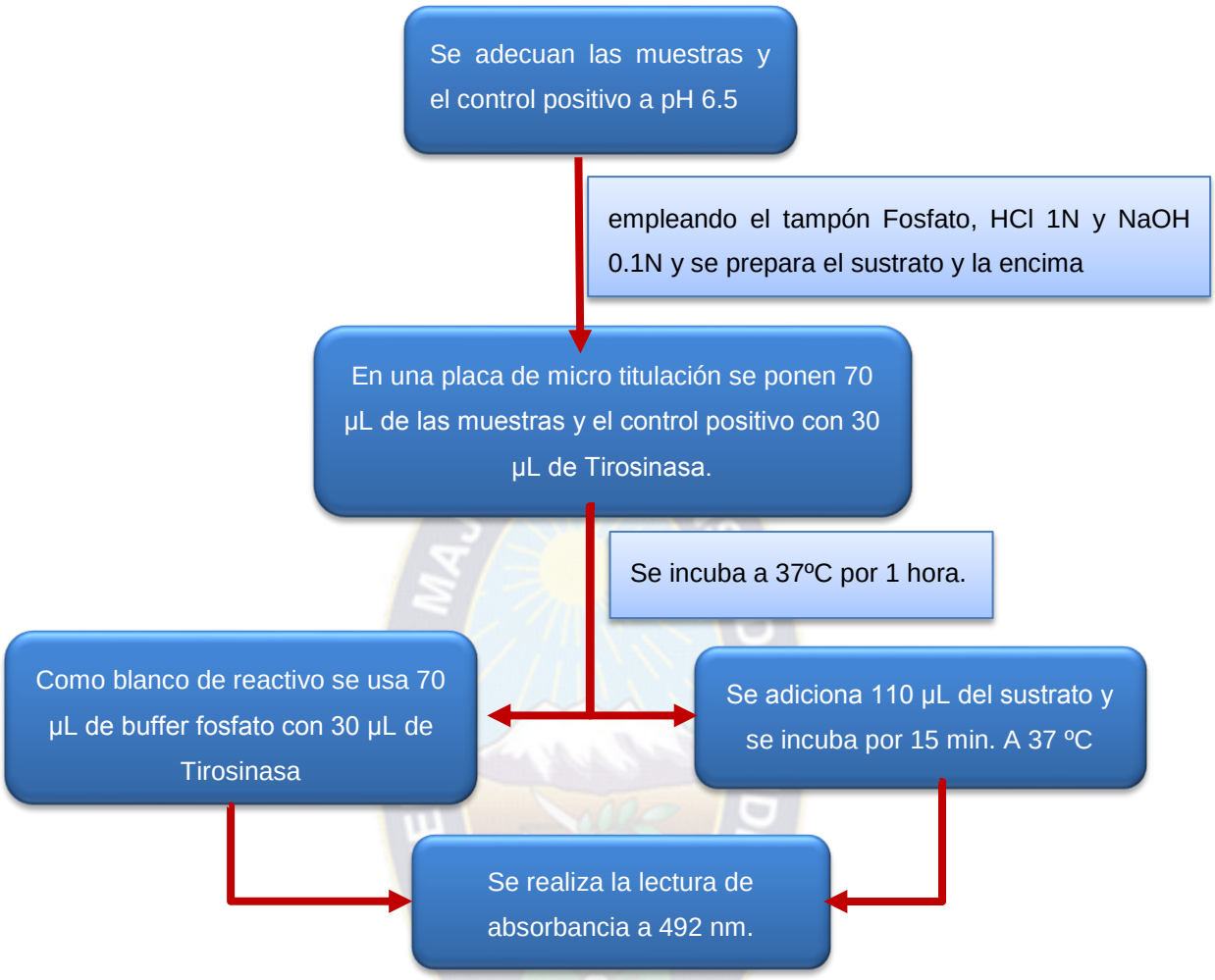


Figura 7. Flujograma para determinar actividad anti tirosinasa

5.7.2. Determinación del porcentaje de inhibición de la Tirosinasa

$$\%\ de\ Inhibicion\ de\ la\ Tirosinasa = \frac{\mathrm{B} - \mathrm{S}}{\mathrm{B}} * 100$$

Dónde:

B: es la absorbancia del blanco
S: es la absorbancia de las muestras

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Análisis proximal

Los resultados del análisis proximal de las cuatro variedades de quinua se muestran en el cuadro 7

Cuadro 7. Resumen del análisis proximal de las cuatro variedades de quinua según las normas de la AOAC aplicadas por la Norma Boliviana para Cereales-Quinua en grano

Componente	Variedad			
	Phisanqalla	Kurmi	Punaya	Ajara
Humedad	$10{,}65 \pm 0{,}04$	$7{,}43 \pm 0{,}03$	$8{,}87 \pm 0{,}02$	$9{,}12 \pm 0{,}02$
Proteína*	11,250	13,125	16,875	14,375
Grasa	$6{,}29 \pm 0{,}04$	$6{,}32 \pm 0{,}01$	$2{,}80 \pm 0{,}07$	$5{,}79 \pm 0{,}13$
Cenizas	$3{,}48 \pm 0{,}15$	$2{,}51 \pm 0{,}03$	$1{,}98 \pm 0{,}06$	$2{,}53 \pm 0{,}10$
Fibra	$2{,}42 \pm 0{,}03$	$6{,}22 \pm 0{,}03$	$4{,}02 \pm 0{,}03$	$6{,}17 \pm 0{,}03$
Carbohidratos	$66{,}91 \pm 0{,}23$	$65{,}63 \pm 1{,}05$	$69{,}19 \pm 3{,}20$	$64{,}06 \pm 1{,}91$

*Determinado por el LCA.

En el cuadro anterior se muestra los datos obtenidos en el análisis proximal, se determinó el contenido de humedad, proteína, grasa, cenizas, fibra y carbohidratos de las cuatro variedades de quinua.

Los porcentajes de humedad varían desde 7,433 a 10,654 siendo la variedad QPi con mayor porcentaje y la variedad QK con el menor porcentaje. En el caso de proteínas varía desde 11,250 a 16,875 siendo la variedad QPu con mayor porcentaje y la variedad QPi con menor porcentaje. En Cenizas los porcentajes van desde 3,483 a 1,981 el que presento mayor porcentaje fue la variedad QPi y la de menor fue la variedad QPu. En lípidos los porcentajes varían de 6,322 a 2,804 el que presento mayor porcentaje fue la variedad QK y la de menor fue la variedad QPu. En el caso de la fibra el mayor porcentaje lo presento la variedad QK y el de menor porcentaje la variedad QPi, los valores oscilan entre 2,421 a 6,225. En el caso de carbohidratos hay una variación que va desde 64,060 a 69,193 la variedad QPu presenta mayor porcentaje y la variedad QA el d menor porcentaje.

La variación en porcentaje de lípidos, ceniza se encuentra dentro de los rangos dados por Arzampalo et al (2015) y Quispe (2008), el contenido de proteína, humedad, fibra y carbohidratos varían y difieren de los datos dados por Arzampalo (2015), probablemente se

deba al lugar de procedencia de las muestras (suelos, precipitación, temperatura, altitud, resistencia a heladas, sequía, salinidad o acidez).

Otro estudio lanzo datos de contenido de proteínas que osciló entre 13,4 a 17,32 % señalo un estudio en Argentina (Cervilla N, 2013), los datos obtenidos de las quinuas de estudio se encuentran dentro de este rango.

6.1.1. Análisis del contenido de humedad

Se presenta el contenido de humedad de las 4 variedades de quinua

Cuadro 8. Análisis de varianza del contenido de humedad de las variedades de estudio

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	15,66	3	5,22	5674,93	<0,0001**
Columna1	15,66	3	5,22	5674,93	<0,0001
Error	0,01	8	9,20E-04		
Total	15,67	11			

CV: 0.34% **= altamente significativo

Cuadro 9. Test de Duncan para la variable humedad

Columna1	Medias	n	E.E.	Agrupación Duncan
KURMI	7,43	3	0,02	A
PUNAYA	8,87	3	0,02	B
AJARA	9,12	3	0,02	C
PHISANQALLA	10,65	3	0,02	D

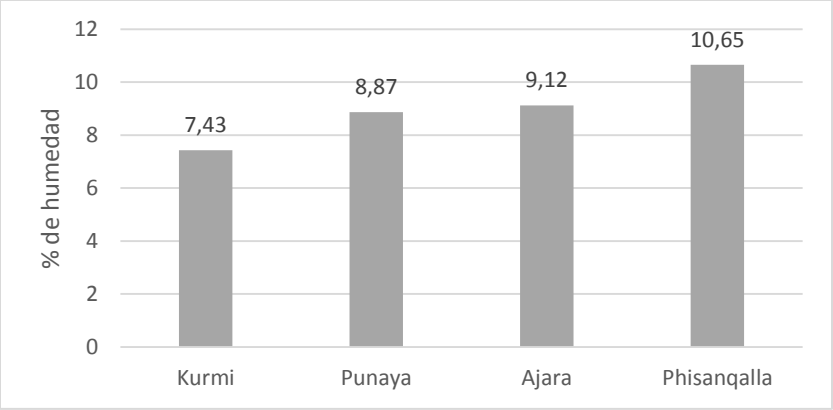


Figura 8. Contenido de humedad en las variedades de estudio

En el cuadro 8, el análisis de varianza muestra que existe alta diferencia significativa en el contenido de humedad entre las variedades de quinua. En la prueba de Duncan (cuadro 9) muestra cuatro grupos, cada una asignada a cada variedad. En este sentido, la figura 8 registra el contenido de humedad de cada variedad de estudio.

El contenido de humedad registrado es menor en todas las variedades al encontrado por Arzampalo et al. (2015), esta diferencia sugiere que las variedades de estudio adaptan condiciones ambientales característicos del altiplano central boliviano reflejando valores diferentes en el contenido de humedad.

6.1.2. Análisis del contenido de materia grasa

Se presenta el contenido de materia grasa de las 4 variedades de quinua

Cuadro 10. Análisis de varianza del contenido de materia grasa de las cuatro variedades

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	25,46	3	8,49	1400,35	<0,0001**
Columna1	25,46	3	8,49	1400,35	<0,0001
Error	0,05	8	0,01		
Total	25,51	11			

CV: 1.47% **= altamente significativo

Cuadro 11. Test de Duncan para la variable materia grasa

Columna1	Medias	n	E.E.	Agrupación Duncan
PUNAYA	2,8	3	0,02	A
AJARA	5,79	3	0,02	B
PHISANQALLA	6,29	3	0,02	C
KURMI	6,32	3	0,02	C

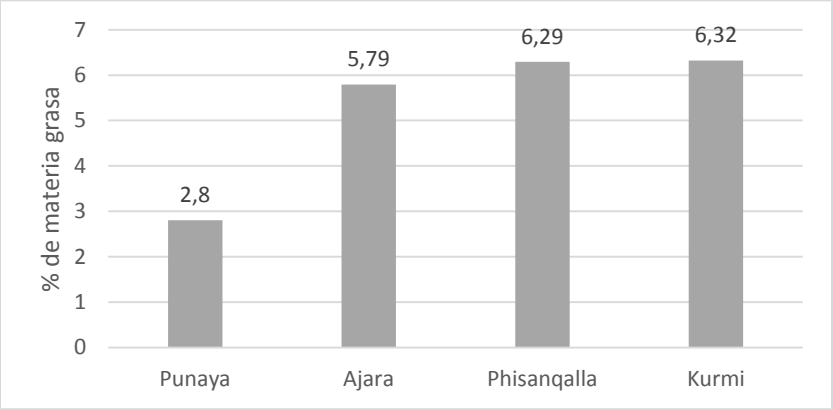


Figura 9. Contenido de materia grasa en las variedades de estudio

En el cuadro 10, se presenta el análisis de varianza y señala alta diferencia significativa en el contenido de materia grasa en las cuatro variedades de quinua. La prueba Duncan (cuadro 11) agrupa las variedades en 3 grupos; la variedad QPu presenta los valores de materia grasa más bajos, le sigue la variedad Qa con un contenido promedio de materia grasa de 5.79% y finalmente el test de Duncan agrupa a la variedad QK y QPi con los valores de materia grasa más altos.

Los valores encontrados en materia grasa concuerdan con los resultados de Arzampalo et al. (2015). Sin embargo, en el estudio la variedad QPu registra los valores más bajos, muy diferentes a las otras variedades.

6.1.3. Análisis del contenido de cenizas

Se presenta el contenido de cenizas en las cuatro variedades de estudio.

Cuadro 12. Análisis de varianza del contenido de cenizas de las variedades de estudio

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3,5	3	1,17	123,42	<0,0001**
Columna1	3,5	3	1,17	123,42	<0,0001
Error	0,08	8	0,01		
Total	3,57	11			

CV: 3.69% **= altamente significativo

Cuadro 13. Test de Duncan para la variable cenizas

Columna1	Medias	n	E.E.	Agrupación Duncan
Punaya	1,98	3	0,06	A
Kurmi	2,51	3	0,06	B
Ajara	2,56	3	0,06	B
Phisanqalla	3,48	3	0,06	C

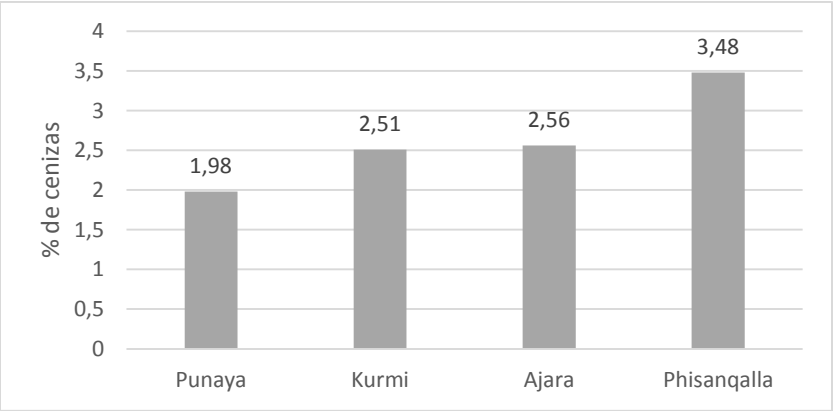


Figura 10. Contenido de cenizas en las cuatro variedades de quinua

El cuadro 12 muestra que existe alta diferencia significativa en el contenido de cenizas entre las variedades de estudio. En el test de Duncan (cuadro 13) señala tres grupos: QPu la variedad de con menor contenido de cenizas seguido de la variedad de QK y QA en un mismo grupo y la variedad QPi con el mayor contenido de cenizas.

Los valores encontrados en cenizas en las variedades de estudio son similares a los datos encontrados por Arzapalo et al. (2015); sin embargo, en el estudio se encuentra a la variedad QPi con menor contenido de cenizas, probablemente se deba a una característica fenotípica de la variedad para adaptarse a las condiciones del altiplano central boliviano.

6.1.4. Análisis del contenido de fibra de las cuatro variedades de estudio

Se presenta el contenido de fibra en las cuatro variedades de estudio.

Cuadro 14. Contenido de fibra de las cuatro variedades de quinua

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	30,42	3	10,14	12169,44	<0,0001**
Columna1	30,42	3	10,14	12169,44	<0,0001
Error	0,01	8	8,30E-04		
Total	30,43	11			

CV: 0.61% **= altamente significativo

Cuadro 15. Test de Duncan para la variable fibra de las cuatro variedades

Columna1	Medias	n	E.E.	Duncan Agrupación
Phisanqalla	2,42	3	0,02	A
Punaya	4,02	3	0,02	B
Ajara	6,17	3	0,02	C
Kurmi	6,23	3	0,02	C

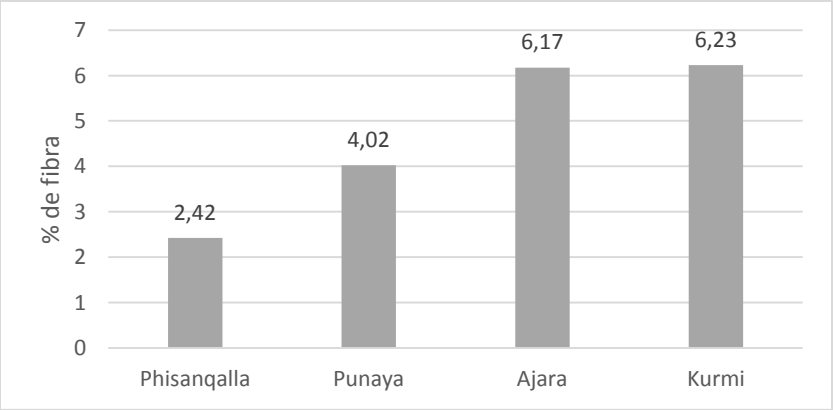


Figura 11. Contenido de fibra en las cuatro variedades de estudio

En el cuadro 14 muestra el análisis de varianza aplicado a las cuatro variedades de quinua para la variable fibra y señala que existe diferencia altamente significativa entre variedades.

El cuadro 15 agrupa las variedades según el test de Duncan, indica que la fibra en la variedad QPi es diferente y el de menor contenido al resto de las variedades. La variedad QPu también difiere de las otras variedades y tiene el segundo menor contenido de fibra. Las variedades de QA y QK tienen los valores más altos y el test de Duncan agrupa estas dos variedades en un mismo grupo indicando que no existe diferencia significativa entre estas variedades.

Respecto a la fibra Arzampalo et al (2015) y el laboratorio de química industrial (2008) sostienen resultados diferentes, Probablemente la diferencia sea consecuencia de las condiciones climatológicas, ecosistema y tipo de suelo y nutrientes de éste.

6.1.5. Análisis del contenido de carbohidratos de las cuatro variedades de estudio

Se presenta el contenido de carbohidratos de las 4 variedades de quinua

Cuadro 16. Análisis de varianza del contenido de carbohidratos de las variedades de estudio

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	41,86	3	13,95	3,71	0,0613 NS
Columna1	41,86	3	13,95	3,71	0,0613
Error	30,09	8	3,76E+00		
Total	**71,95**	**11**			

CV: 2.93% NS= No significativo

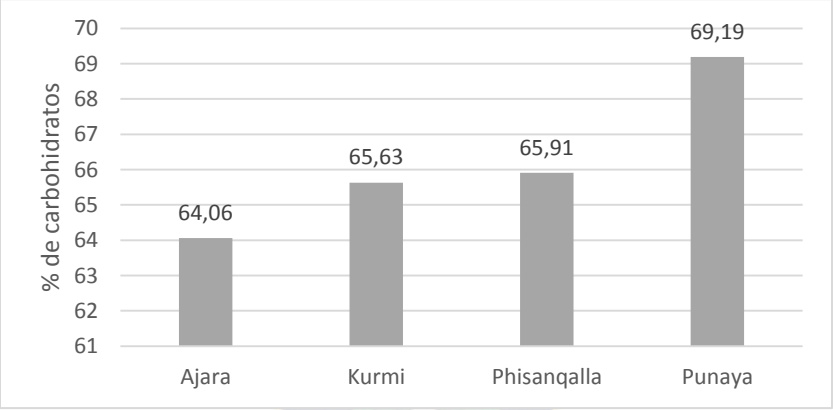


Figura 12. Contenido de carbohidratos en las cuatro variedades de estudio

Se muestra el análisis de varianza para la variable carbohidratos, indica que no existe diferencia significativa bajo un α de 0.01 entre las variedades de estudio en la variable contenido de carbohidrato.

Sin embargo, en la figura 12 se puede observar que aun cuando no existe diferencia significativa, la variedad QPu (69.19%) es la que alcanzo el mayor contenido de carbohidratos y la variedad QA la quinua que menor contenido de carbohidratos lanzó (64.06%).

6.2.Extractos ricos en compuestos fenólicos

Para obtener los extractos ricos en compuestos fenólicos de las cuatro variedades de Quinua se realizaron pruebas obteniendo los siguientes resultados:

Cuadro 17. Numero de extracciones y rendimiento por cada 100g de muestra

Muestra	Extracto Fenólico (g)				Total (g)	% Rendimiento total
	1° Extrac.	2° Extrac.	3° Extrac.	4° Extrac.		
Phisanqalla	3,4414	2,4126	1,3362	0,5305	7,7207	7,72
Kurmi	2,8160	2,6270	1,4261	1,2557	8,1248	8,12
Punaya	6,5513	5,5360	2,5953	1,0975	15,7801	15,78
Ajara	2,3117	2,0643	1,3572	0,4757	6,2089	6,21

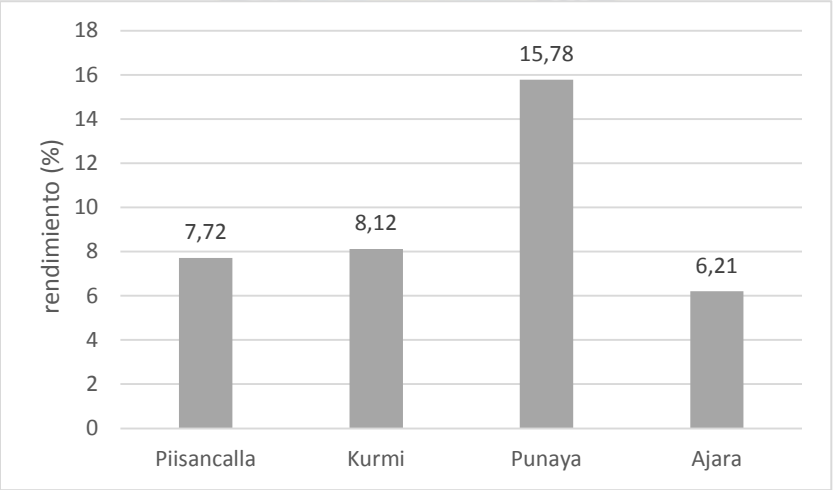


Figura 13. Rendimiento total para la obtención de extractos ricos en compuestos fenólicos

En el cuadro 17 muestra el número de extracciones y la cantidad de extracto obtenido y su rendimiento total. La figura 13 muestra el rendimiento total para la obtención de los extractos de las cuatro variedades.

Se puede ver la variedad que tiene más rendimiento es QPu con 15,78%, le sigue la variedad QK con 8,12%, después la variedad QPi con 7,72% y el de menor porcentaje es la variedad QA con 6,21%.

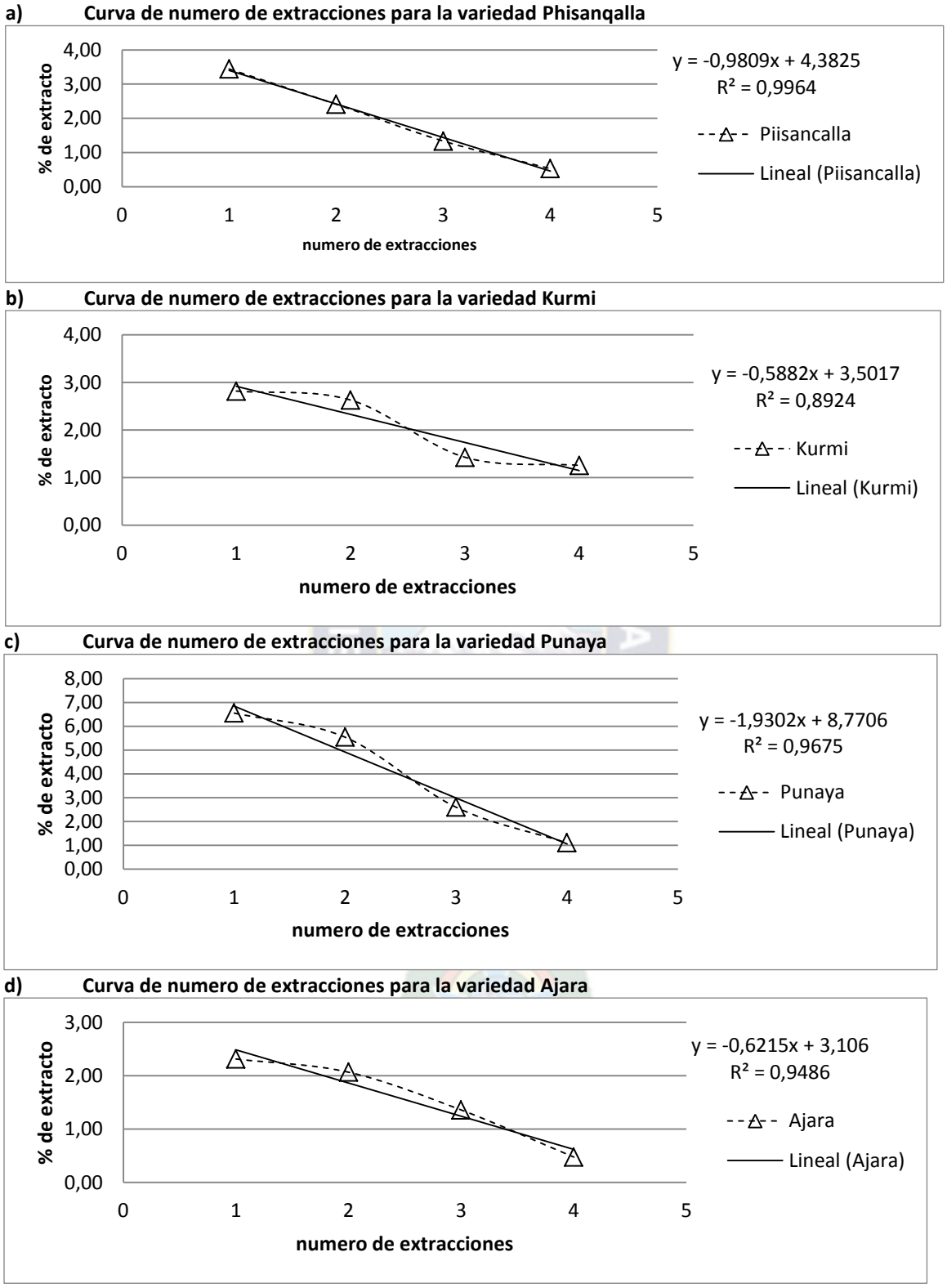


Figura 14. Curvas de extractos ricos en compuestos fenólicos de las cuatro variedades y sus respectivas ecuaciones lineales

La figura 14 muestra el comportamiento de las extracciones ricos en compuestos fenólicos de las cuatro variedades de estudio al ser sometidas a varias extracciones.

Esta figura sugiere que el comportamiento de cada variedad difiere cada una de la otra. En todas las variedades se muestra una pendiente negativa, lo que indica que mientras más extracciones se realiza menor contenido de extracto fenólico se obtiene.

Las variedades quinua presentan éstas pendientes: variedad QPi: -0.9809; QK: -0.5882; QPu: -1.9302 y QA: -0.6215.

La primera extracción más alta y el rendimiento más alto se presenta en la variedad QPu (figura 14.C); sin embargo, también presenta la mayor pendiente negativa (-1.9302), lo que indica que por cada extracción se puede esperar que 1.9302% menos a la siguiente extracción

La figura14 también indica que los resultados obtenidos en la tercera y cuarta extracción, muestran una disminución significativa en los porcentajes de extracto obtenido, permite concluir que basta con una tercera extracción para obtener un extracto con buen rendimiento.

6.2. Análisis fitoquímico

Para el análisis fitoquímico se realizaron varias pruebas, de las cuales los resultados se describen en el cuadro inferior.

Cuadro 18. Grupos fitoquímicos relevantes de los granos de quinua

Muestra	Alcaloides	Azúcares Reductores	Saponinas	Triterpenos
	Test de Mayer	Test de Fehling	Test de la Espuma	Test de Liberman-Buchard
Phisanqalla	−	+ +	−	−
Kurmi	−	+ +	−	−
Punaya	−	+ + +	−	−
Ajara	−	+ + +	+ + +	−

(+++) Prueba positiva; (++) Prueba intermedia; (+) Prueba no concluyente; (-) Prueba negativa

Muestra	Glicósidos Cardotonicos		Lactonas y Coumarinas	Fenólicos
	Test de Kedde	Test de Keller-Killini	Test de Baljet	Test de $FeCl_3$
Phisanqalla	−	+	+ +	+ +
Kurmi	−	+	+	+ +
Punaya	−	−	+ +	+
Ajara	−	−	+ +	+

(+++) Prueba positiva; (++) Prueba intermedia; (+) Prueba no concluyente; (-) Prueba negativa

Muestra	Taninos		Flavonoides	Proteínas
	Test de Ac.Pb	Test de Gelatina	Test de Shinoda	Test con Ninhidrina
Phisanqalla	+	−	+ +	+ +
Kurmi	+ + +	−	+ +	+ +
Punaya	+ + +	−	+	−
Ajara	+ + +	−	+	−

(+++) Prueba positiva; (++) Prueba intermedia; (+) Prueba no concluyente; (-) Prueba negativa

En el cuadro anterior se muestran los resultados cualitativos obtenidos al realizar varias pruebas para determinar metabolitos secundarios que se encuentran en las diferentes variedades de quinua.

En el estudio fitoquímico preliminar se pudo determinar que las variedades de quinua tienen principalmente compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, coumarinas y azúcares reductores, resultados que hacen suponer que las quinuas de estudio presentan actividad biológica con propiedades farmacológicas y protectoras para la salud, siendo que este tipo de metabolitos tienen referencias farmacológicas. Adicionalmente, la variedad QA presenta mayor contenido de saponinas en relación a las otras variedades.

Un estudio hecho por Villacres et.al. indica la presencia moderada de taninos y una fuente abundante de flavonoides en los granos de quinua en los extractos alcohólicos y acuosos. En nuestro estudio ocurre de forma inversa hay una presencia abundante de taninos y presencia moderada de flavonoides, probablemente este resultado se deba a que las quinuas en estudio son de variedad menos estudiadas, que se caracterizan por tener este tipo de compuestos en mayor cantidad que la Quinua Real que es la variedad más estudiada. En otro estudio en extractos alcohólicos de los granos de quinua la presencia de coumarinas es escasa, en nuestro caso la presencia de coumarinas es moderada, lo que indica que la composición de estos metabolitos varía según la variedad, época y medio ambiente.

6.3.Barridos espectrales

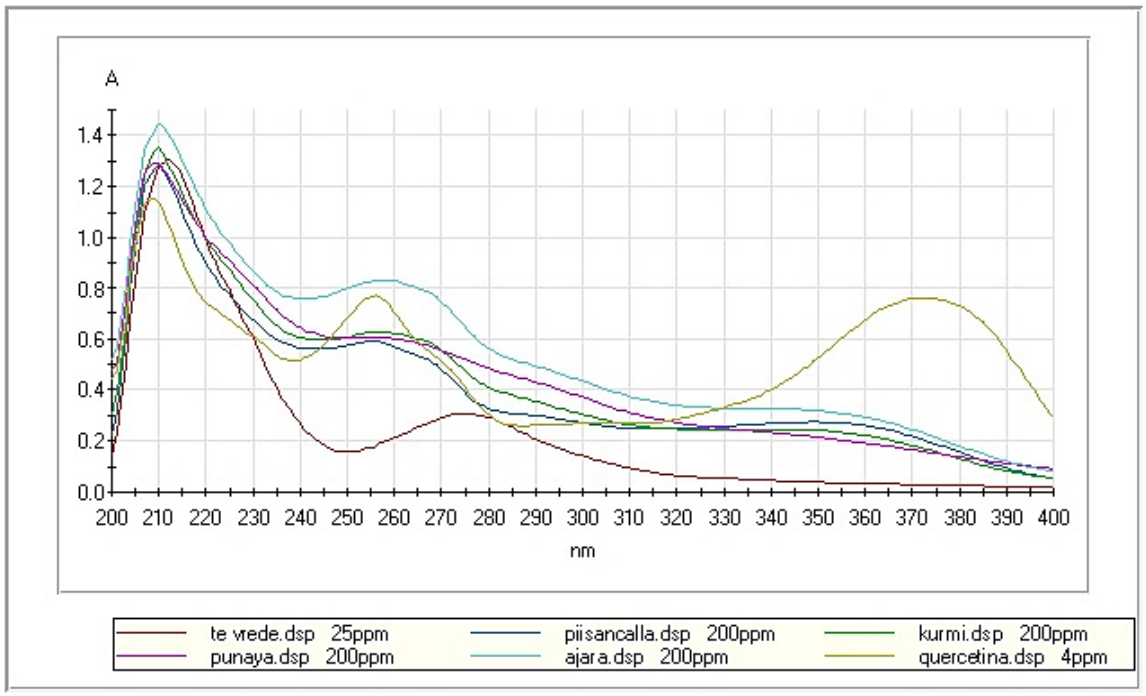


Figura 15. Barrido espectral de extractos ricos en compuestos fenólicos de las variedades de estudio

En la figura anterior se muestran los barridos espectrales a una longitud de onda de 200 a 400 nm de la quercetina (4ppm), los extractos ricos en compuestos fenólicos de las cuatro variedades de quinua (200ppm) y el extracto de té verde (25ppm).

Como se observa en el grafico 16. en el espectro de absorción, todos los extractos evaluados presentan cierta absorbancia: en la región UVB y UVA. Pero ésta no es comparable a la de compuestos fotoprotectores conocidos como el té verde, que absorbe considerablemente en la región del UVB, pero, no en la región UVA.

Entre los extractos estudiados el que presenta mayor absorbancia, en las regiónes UVA y UVB, es la variedad QA, luego y muy cercanos se encuentran las variedades QPu, QK y QPi por lo que resulta de cierta importancia desde el punto de vista fotoprotector.

Que las variedades absorban radiación UV en esta región se debe a que estas subsisten en un piso ecológico que presenta especiales condiciones de irradiación solar, que lo califican

como una de las regiones más soleadas del planeta (Zaratti, 2003). Así, esto contribuye a que generen compuestos que absorban la radiación UV como mecanismo de protección.

6.4. Cuantificación de flavonoides totales por el método de $AlCl_3$

Curva de calibración

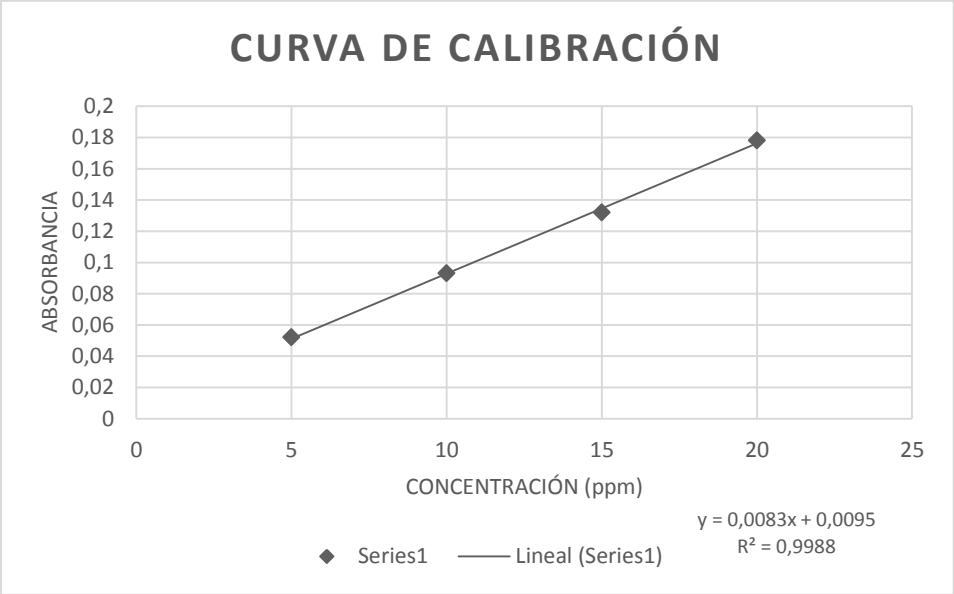


Figura 16. Curva de calibración de Quercetina

La curva de calibración obtenida se presenta en la fig. 16. Esta curva de se ajusta a la siguiente ecuación lineal: $y = 0{,}0083x + 0{,}095$ y un coeficiente de determinación ($R^2 = 0{,}9988$), esto indica que los datos son confiables.

Cuadro 19. Flavonoides totales expresados como mgQue/100g de muestra seca

Variedad	mgQue/100g
Phisanqalla	$92{,}865 \pm 0{,}003$
Kurmi	$77{,}822 \pm 0{,}008$
Punaya	$88{,}407 \pm 0{,}004$
Ajara	$63{,}959 \pm 0{,}006$

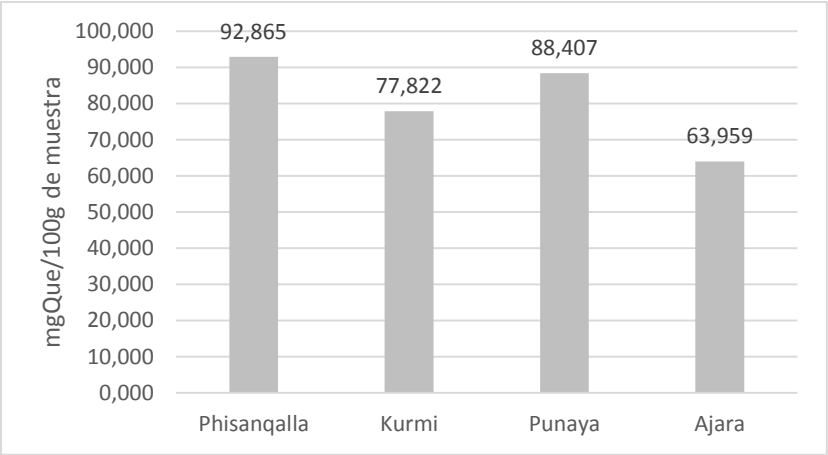


Figura 17. Contenido de Flavonoides totales

El cuadro 19 y la figura 17 muestran los resultados obtenidos en la cuantificación de flavonoides totales de las cuatro variedades de quinua.

El extracto que tuvo mayor contenido de flavonoides fue la variedad QPi. Las variedades QPu y QK y la variedad QA presento menor contenido de flavonoides.

El contenido de flavonoides en las cuatro variedades de estudio superan a la cantidad de flavonoides registrados por Villacres et.al (2013) en granos quinua ecuatorianos (1,72 a 44,12 mgQ/100g) y a la cantidad de flavonoides registrados por Ruiz et al. (s.f.) en (granos de procedencia argentina (Tucumán) (17,88 mg EQ/g extracto seco). Pero el contenido de flavonoides de la quinua descrito por Repo-Carrasco-Valencia et al. (2010), varia de 36.2 a 72,6 mg / 100 g. Así, los valores obtenidos de las variedades QA y QK se encuentran dentro del rango obtenido por esta autora. Sin embargo, las variedades QPi y QPu tienen mayor contenido de flavonoides que los datos descritos por Repo-Carrasco, la radiación UV en el altiplano boliviano conlleva a que estas plantas generen mayor resistencia a la radiación y por lo tanto presentar mayor cantidad de flavonoides.

6.4.1. Análisis estadístico de la cuantificación de flavonoides totales

Para el análisis estadístico se realizó el análisis de varianza junto con el test de Duncan.

Cuadro 20. Análisis de varianza para la variable flavonoides totales

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,11	4	0,03	974,77	<0,0001**
Columna1	0,11	4	0,03	974,77	<0,0001
Error	2,40E-04	10	2,80E-05		
Total	0,11	14			

CV= 3.61%; **= altamente significativo

Cuadro 21. Test de Duncan para la variable flavonoides totales

Columna1	Medias	n	E.E.	Duncan Agrupación
Punaya	0,06	3	3,2E-03	A
Kurmi	0,09	3	3,2E-03	B
Ajara	0,10	3	3,2E-03	B C
Phisanqalla	0,11	3	3,2E-03	C

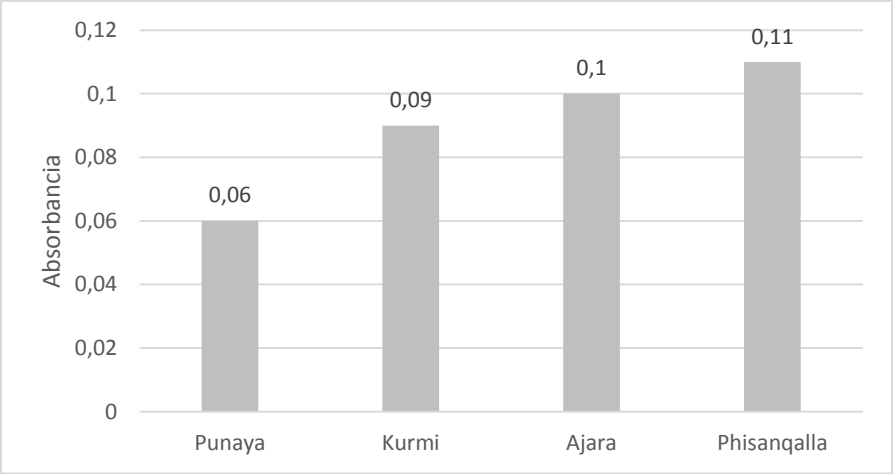


Figura 18. Promedio de Absorbancias en la cuantificación de flavonoides totales

En el cuadro 20, el análisis de varianza muestra que existe alta diferencia significativa en flavonoides entre las variedades de quinua. En la prueba de Duncan (cuadro 21) muestra tres grupos.

Duncan dice que la variedad QA puede agruparse tanto con la variedad QPi como con la variedad QK por que tienen similares absorbancias, seguido esta la variedad QPu en otro grupo.

6.5.Determinación *in vitro* de la actividad anti-tirosinasa

Cuadro 22. Porcentaje de Inhibición de la enzima Tirosinasa en los extractos ricos en compuestos fenólicos.

Variedad	% de Inhibición
Ac. Kójico	87,55±0,01
Phisanqalla	19,00±0,11
Kurmi	34,03±0,01
Punaya	8,89±0,03
Ajara	3,31±0,01

En el cuadro 22 se muestran los porcentajes de inhibición de la enzima tirosinasa de los extractos ricos en compuestos fenólicos de las cuatro variedades de quinua en comparación con el ácido Kójico que es uno de los principales agentes inhibidores de la enzima Tirosinasa.

Como se puede observar la variedad que presenta mayor porcentaje de inhibición es la QK, la variedad QPi presenta 19% de inhibición, luego le sigue la variedad QPu con 8,89 % de inhibición y el que presenta menor porcentaje de inhibición es la variedad QA con 3,31%.

La variedad QK presenta inhibición moderada a pesar de ser la que tiene mayor porcentaje de inhibición, comparado con el control (Ac. Kójico)

VII. CONCLUSIONES

- En el análisis proximal, la QK tiene mayor contenido de proteínas, lípidos y fibra. La QPi tiene la mayor cantidad de humedad y cenizas. Comparando con datos bibliográficos se encuentran dentro de los rangos en el caso de proteínas.
- En la extracción para obtener los extractos ricos en compuestos fenólicos permitió determinar el rendimiento de las diferentes variedades de quinua, siendo la QPu el de máximo rendimiento de las variedades de estudio.
- El estudio fitoquímico de las cuatro variedades de estudio, revelaron la presencia moderada (++) de lactonas y coumarinas con el ensayo de Baljet, los taninos predominaron en los extractos de QK, QPu y QA (+++) menos en QPi (+) y hubo presencia abundante de saponinas solo en QA (+++).
- En la cuantificación de flavonoides totales el extracto que tuvo mayor contenido fue la variedad QPi con un contenido de 92,865$\pm$0,003mg Que/ 100g, cabe recalcar que las cuatro variedades presenta una fuente abundante de flavonoides.
- La variedad que presenta mayor porcentaje de inhibición es la QK con 34,03%, la variedad QPi presenta 19% de inhibición, luego le sigue la variedad QPu con 8,89 % de inhibición y el que presenta menor porcentaje de inhibición es la variedad QA con 3,31%.
- La variedad QK presenta inhibición moderada a pesar de ser la que tiene mayor porcentaje de inhibición.

VIII. RECOMENDACIONES

Los alimentos considerados nutricosméticos necesitan de mayor estudio, ya que es una línea en auge que permite cuidar nuestra salud y además, ayuda a darle un valor agregado a productos endémicos de cada piso ecológico de nuestro país.

Se sugiere continuar el estudio presente, con otras variedades de quinua, para poder evaluar el potencial en compuestos bioactivos.

Se recomienda profundizar el estudio de las variedades de estudio, ya que presentan un gran interés desde el punto de vista fotoprotector.

Continuar con los estudios de actividad anti-Tirosinasa con extractos de otras variedades de quinuas, en especial con variedades silvestres.

VI. BIBLLIOGRAFIA

Agati G, Azzarello E, Pollastri S, Tattini M. (2012) Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. Plant Sci 196:67–76

Agati G,, Tattini M. (2010) Multiple functional roles of flavonoids in photoprotection. New Phytol 186(4):786–793

Albarran, Rubén (1993). Estudio de algunos componentes químicos, caracteres morfoanatómicos y patrones proteicos en semillas de dos ecotipos de quínoa (Chenopodium quínoa Willd). (Tesis de grado, Ingeniero Agrónomo). Chillan, Chile. Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Departamento de Producción Vegetal.

AOAC (1984) "Association of Official Analytical Chemists Inc. Official Methods of Analysis", 14ª ed. Arlington, VA. Editorial Williams, S.

Arzapalo Quintoa D., Huamán Cóndora K., Quispe Solano M., Espinoza Silva C. (2015). Extracción y caracterización del almidón de tres variedades de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) negra Collana, Pasankalla roja y blanca Junin. Revista Sociedad Química de Perú. 81(1).

Barceló M. (17 Mar 2017). Nutricionista / Dietista, Nutricosmética y antienvejecimiento. Recuperado de: https://antiagingsshop.com/es/blog/noticias/nutricosmetica-y-antienvejecimiento

Baurin, N., Arnoult, E., Scior, T., Do, Q. & Bernard, P. (2002). Preliminary screening of some tropical plants for anti-tyrosinase activity. Journal of Ethnopharmacology, 82(1), 155-158.

Bindu S, Somashekar D, Joseph R. (1998). A comparative-study on permeabilization treatments for in-situ determination of phytase of Rhodotorula gracilis. Letters in Applied Microbiology: 27: 336-40.

Bohórquez-Ballén, J., & Pérez Mogollón, J. (2007). Radiación ultravioleta. Ciencia & Tecnología Para La Salud Visual Y Ocular, 97-104. https://doi.org/10.19052/sv.1520

Bonifacio, A., Aroni, G. y Villca, M. (2012) Catálogo etnobotánico de la quinua real. Cochabamba, Bolivia: Fundación PROINPA. Recuperado de http://www.proinpa.org/tic/pdf/Quinua/Variedades%20de%20quinua/pdf33.pdf

Bravo, L., Saura-Calixto, F. (1998). Characterization of diertary fiber and the in vitro indigestible fraction of grape pomace. American Journal of Enology and Viticulture, 49, 135-141.

Carciochi R. (2014) Obtención de ingredientes alimenticios con capacidad antioxidante mejorada por aplicación de distintos procesos a semillas de quinoa (Chenopodium quinoa). (Tesis de doctorado, en el área Bromatología) Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.

Carrillo W I, Vilcacundo R, Carpio C. (2015). Compuestos bioactivos derivados de amaranto y quinua. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato. Vol 16.

Cartaya, O.; Reynaldo, Inés (2001) Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. Cultivos Tropicales, vol. 22, núm. 2, pp. 5-14 Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas La Habana, Cuba

Casanola M., Marrero Y., Huong L., Mahmud H., Torrens F., Rescigno A., y Abad C., (2012). La enzima tirosinasa: 2. Inhibidores de origen natural y sintético 1Centro de Informacion y Gestion Tecnologica, Ministerio de Ciencia Tecnologia y Medio Ambiente (CITMA), 65100, Ciego de Avila, Cuba.

Casañola, G., Marrero, Y., Hassan, M., Ather, A., Khan, K., Torrens, F. & Rotondo, R. (2007). Dragon method for finding novel tyrosinase inhibitors: Biosilico identification and experimental in vitro assays. European Journal of Medicinal Chemistry, 42(1), 1370-1381.

Cervilla N, Mufari J., Calandri E. y Guzmán C. (2013).Propiedades físicas de semillas y análisis proximal de harinas de chenopodium quinoa willd cosechadas en distintos años y provenientes de la provincia de Salta. Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTA, CONICET-UNC). Av. Vélez Sarsfield 1600, Córdoba 5016, Argentina.

Chang C. C., M. H. Yang,.H. M. Wen y J. C. Chern. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. J. Food Drug Anal., 10: 178-182.

Chiari, M., Joray, M., Ruiz, G., Palacios, S. & Carpinella, M. (2010). Tyrosinase inhibitory activity of native plants from central Argentina: isolation of an active principle from Lithrea molleoides. Food Chemistry, 120(1), 10-14.

Crozier A., Jaganath IB., Clifford M. (2006) Phenols, polyphenols and tannins: an overview. In: Crozier A, Clifford MN, Ashihara H (eds) Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, pp 1–24

Dini, I., Tenore, G. C., Dini, A. (2004). Phenolic constituents of Kancolla seeds. Food Chemistry, 84, 163-168.

Fang, D., Tsuji, Y. & Setaluri, V. (2002). Selective down-regulation of tyrosinase family gene TYRP1 by inhibition of the activity of melanocyte transcription factor, MITF. *Nucleic Acids Research*, *30* (15), 3096-3106.

FAO. 2001. Organización de las Naciones Unidades para la agricultura y la alimentación UNA Puno Perú CIP. 315 p.

Forno, R., Andrade, M. (1997). Memorias del seminario naturaleza y efectos de la radiación ultravioleta. La Paz: Instituto de Investigaciones Físicas, UMSA.

Forturbel, R. (2003). Problemática de la producción y comercialización de Chenopodium quinoa W.(Chenopodiaceae), debido a la presencia de saponinas. Ciencia Abierta, 21, 1-10.

Gamel T., Linssen J., Mesallam A., Damir A., Shekib L. (2006). Seed treatments affect functional and antinutritional properties of amaranth _ours. Journal of the Science of Food and Agriculture, 86, 1095e1102.

Gawlik-Dziki U, Swieca M, Sułkowski M, Dziki D, Baraniak B, Czyz J. (2013). Antioxidant and anticancer activities of Chenopodium quinoa leaves extracts - in vitro study. Food Chem. Toxicol 7, 2013, 154-60. doi: 10.1016/j.fct.2013.03.023. Epub Mar 26.

Guapi, J. (2013). Caracterización bromatológica y fitoquimica de los granos y hojas del chocho (Lupinus mutabilis Sweet), quinua (Chenopodium quinoa Willd), Amaranto (Amaranthus caudatus L.) y Sangorache (Amaranthus hybridus L.). Tesis previa a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial (en imprenta). Universidad Nacional de Chimborazo. Riobamba, Ecuador.

Harborne, J. B. (1989). Methods in Plant Biochemistry, Vol 1: Plants Phenolics, pp 552.

Hirose, Y., Fujita, T., Ishii, T., Ueno, N. (2010). Antioxidative properties and flavonoid composition of Chenopodium quinoa seeds cultivated in Japan. Food Chemistry, 119, 1300-1306.

Kim, Y. M, Yun, J., Lee, C., Lee, H., Min, K. & Kim, Y. (2002) Oxyresveratrol and hidroxystilbene compounds, inhibitory effect on tyrosinase and mechanism of action. The Journal of Biological Chemestry, 277(18), 16340-16344.

Kotilainen T., Tegelberg R., Julkunen-Tiitto R, Lindfors A, O'Hara R., Aphalo P. (2010) Seasonal fluctuations in leaf phenolic composition under UV manipulations reflect contrasting strategies of alder and birch trees. Physiol Plant 140:297–309

Lee, C.Y. (1992). Phenolic Compounds en Encyclopedia of food Science and Tecnology. Vol 3. Hui, Y. H. (Editor), pp. 2055-2061. Wiley & Sons Inc., New York, EUA.

Momtaz, S., Mapunya, B., Houghton, P., Edgerly, C., Hussein, A., Naidoo, S. & Lall, N. (2008). Tyrosinase inhibition by extracts and constituents of Sideroxylon inerme L. stem bark, used in South Africa for skin lightening. Journal of Ethnopharmacology, 119, 507–512.

Naczk, M., Shahidi, F.(2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 41, 1523-1542.

Palenque, E. R. et al. (1998). Efectos de la radiación ultravioleta (RUV) sobre materiales tecnológicos, resultados preliminares: informe de labores. La Paz: Instituto de Investigaciones Físicas, UMSA.

Parr, A.J., Bolwell, G.P. (2000). Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhacement of the diet by modifying the phenols content or profile. Journal of the Science of Food and Agriculture, 80, 985-1012.

Pasko P, Barton H, Zagrodzki P, Gorinstein S, Fołta M, Zachwieja S. (2009). Total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. Food Chemistry,

Proinpa (2005).Variedad de quinua Kurmi. Promoción e Investigación de Productos Andinos. Cochabamba, Bolivia.

Quispe G. (2017). Caracterización agromorfológica de 29 accesiones de quinua del altiplano central (chenopodium quinoa) en la estación experimental de Patacamaya-La Paz. (Tesis de Grado, Facultad de Agronomía, Universidad Mayor de San Andres).

Raimondi A. (27/06/2016 - 08:53). ¿Qué es la nutricosmética? Una alimentación completa y variada es fundamental para una piel saludable. Buena Vida, Salud. Clarin .com. Recuperado de: https://www.clarin.com/buena-vida/salud/nutricosmetica_0_rJJUnTqB.html

Rea, J. (2001). Prácticas Agronómicas en Quinua. In: Cultivos Andinos. Quinua y Kañiwa. CIID-IICA. Bogotá, Colombia. Serie de Libros y Materiales Educativos. No 40. 4 Abugoch-James, 2009; Pasko y col., 2009; Vega-Gálvez y col., 2010; Miranda y col., 2010; Tang y col., 2015).

Repo-Carrasco-Valencia R. (2011). Andean indigenous food crops: Nutritional value and bioactive compounds. Publicación de la Universidad de Turku, Turku, Finlandia.

Repo-Carrasco-Valencia R., Jarkko R, Hellström K., Pihlava JM, Mattila PH. (2010). Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: quinoa (Chenopodium quinoa), kañiwa (Chenopodium pallidicaule) and kiwicha (Amaranthus caudatus).Food Chemistry 120, 128-133.

Reynaga A., M. Quispe, A. Huarachi, I. Calderon, J.L. Soto y M. Torrez. (2011) Caracterización física – química de trece ecotipos de quinua real (*Chenopodium quinoa Willd)* del altiplano sur de Bolivia con fines agroindustriales. Convenio UMSA, Facultad Técnica, carrera Química Industrial – Cooperación Sueca ASDI/SAREC. La Paz-Bolivia.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radical Biology and Medicine, 20, 933-956.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends in Plant Science, 2, 152-159.

Risi, J. (1991). La Investigación de la quinua en Puno. In: L. Arguelles y R. Estrada (eds) Perspectivas de la investigación agropecuaria para el Altiplano. Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo. Proyecto de Investigación en Sistemas Agropecuarios Andinos. Convenio ACDI-CIID-INIAA. Lima, Perú. pp 209-258.

Ruales, J. y B. Nair. (1992). Quinoa (Chenopodium quinoa Willd) an important Andean food crop. Arch. Latinoamer. Nutr, 1992; 42:232 – 241.

Rubin, J.; Arroyo, G.; Iribarren, N. (s.f.) El factor de protección solar, estudio crítico. En: Cosmética. s.l.: s.e., 1988. 3: 8, 19.

Ruiz A,.Díaz M., Santana A., Michel A., Brizuela A., Muratore M., Heredia B., Urquiza N., Manca S., Moyano M. (s.f.) Cuantificación de metabolitos con capacidad

antioxidante en extractos de quinua Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia. Universidad Nacional de Tucumán.

San Martin Á. J., Villanueva E.,Tito A., Flores D., Gmez R., Almanza G, Flores Y.(2012) Estudio fitoquimico y espectroscopico preliminar de cinco plantas medicinales de Carmen Pampa (Coroico) Bolivia. Laboratorio de Bio-orgánica, Instituto de Investigaciones Químicas, Universidad Mayor de San Andrés, Edificio FCPN, campus universitario calle 27 Cota Cota. Revista Boliviana de Química Volumen 29, no.2

Santizo I. (2004). Identificación de familias de metabolitos secundarios en *Myrica cerífera* (Tesis de grado, Químico Biólogo). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.

Schreiner M, Mewis I, Huyskens-Keil S, Jansen MAK, Zrenner R, Winkler JB, O'Brien N, Krumbein A (2012). UV-Binduced secondary plant metabolites—potential benefits for plant and human health. Crit Rev Plant Sci 31(3):229–240.

Sugiura S H, Raboy V. Young KA, Dong FM, Hardy RW. (1999) Availability of phosphorus and trace-elements in low-phytate varieties of barley and corn for rainbow-trout (Oncorhynchus mykis.l). Aquaculture 1999; 170: 285-96

Szkudelski T. (1997). Phytic acid-its influence on organism. J Anim Feed Sci; 6: 427-438.

Tabekhia M., Luh B. (1980). Effect of germination, cooking and canned on phosphorus and phytate retention in dry beans. J Food Sci; 45: 406-08

Villacres E., Cuadrado L. y Falconi F. (2013). Los granos andinos: Chocho (Lupinus mutabilis Sweet), Quinua (Chenopodium quinoa Willd), Amaranto (Amaranthus caudatus L.) y Sangorache (Amaranthus hybridus L.) fuente de metabolitos secundarios y fibra dietética. Departamento de Nutrición y Calidad, Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, INIAP. Boletín técnico Nro. 165. Quito, diciembre.

Wahli, Christian (1990) "Quinua: hacia su cultivo comercial" Quito, Ecuador. Editorial Latinreco S.A.

World Health Organization. Ultraviolet radiation, Geneva: WHO, (1994). Environmental Health Criteria 160.

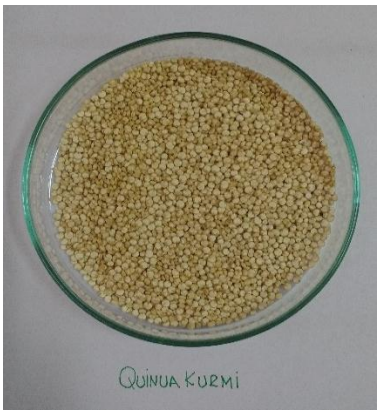
Zaratti, F; Forno, R.; Garcia, J.; Andrade, M. (2003). Erythemally weighted UV-B variations at two high altitude locations. s.l.: Journal Geophysical Research, Vol. 108, No. D9, 4263.

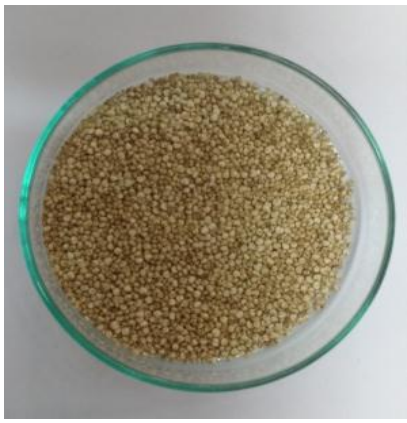
Zhang WJ, Bjo¨rn LO (2009) The effect of ultraviolet radiation on the accumulation of medicinal compounds in plants. Fitoterapia 80(4):207–218

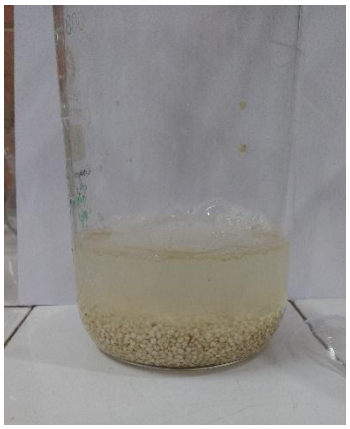
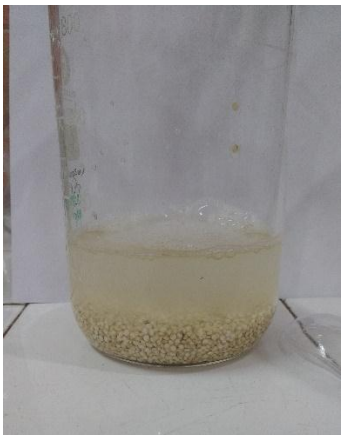
Zhou J., Erdman J.Jr. (1995). Phytic acid in health and disease. C.R.C. Crit Rev Food Sci Nutr; 35, 495-508.

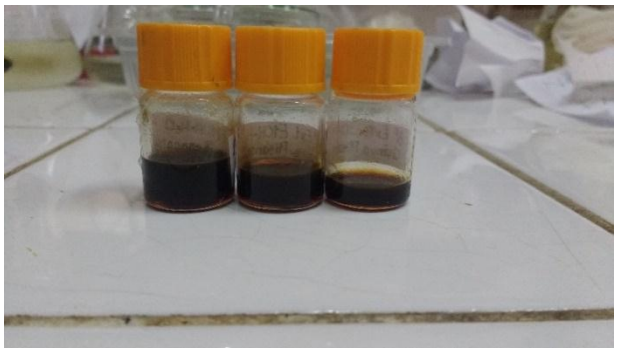
VII. ANEXOS

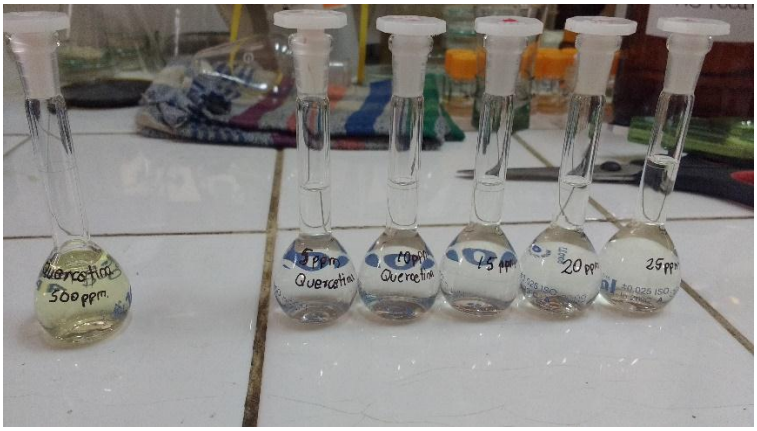
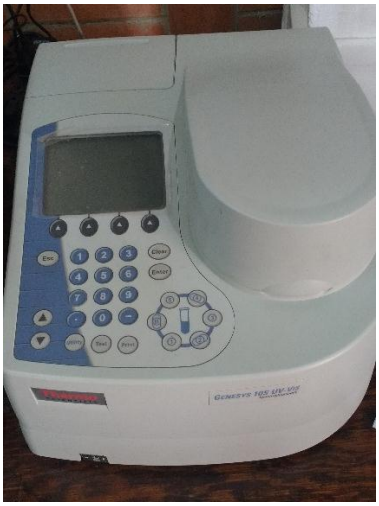
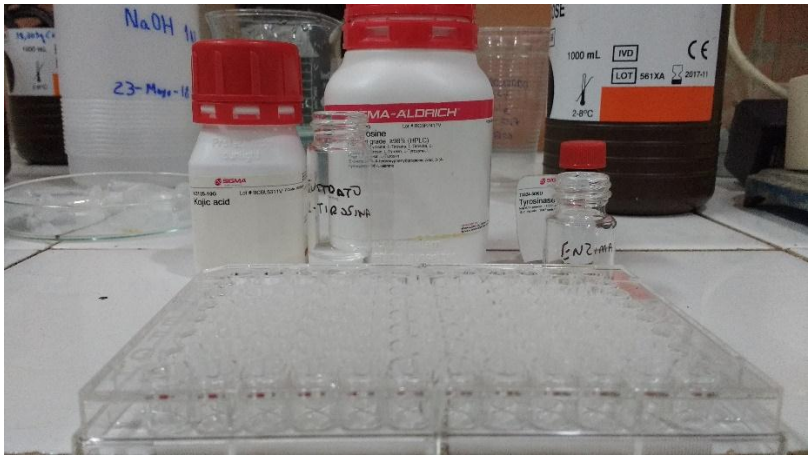
ANEXO 1. RESUMEN DE FOTOGRAFÍAS

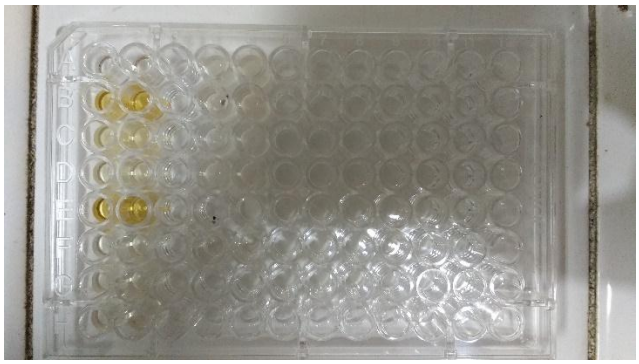
QUINUA EN SU VARIEDAD KURMI	QUINUA EN SU VARIEDAD PUNAYA	QUINUA EN SU VARIEDAD PHISANQALLA	QUINUA EN SU VARIEDAD AJARA
			
Granos de quinua en su variedad Kurmi		Granos de quinua en su variedad Ajara	

	
Granos de quinua en su variedad Phisanqalla	Granos de quinua en su variedad Punaya

		
1ER LAVADO PARA DESAPONIZACION	2DO LAVADO PARA DESAPONIZACION	3ER LAVADO PARA DESAPONIZACION

DESENGRASADO DE LAS HARINAS DE QUINUA	HARINAS DESPUES DEL DESENGRASADO
	
EXTRACCIONES HIDROALCOHOLICAS	EXTRACTOS HIDROALCOHOLICOS CONCENTRADOS

V	
TE VERDE EN HOJA, PRODUCTO BOLIVIANO	SOLUCIONES PREPARADAS PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN
	
EQUIPO DE ABSORCION ULTRAVIOLETA, MARCA TERMO SCIENTIFIC	SOLUCIONES PREPARADAS PARA MEDIR EL % DE INHIBICIÓN DE LA ENZIMA DE LA TIROSINASA

	
CUBETA PARA EL EQUIPO DE MULTIPLACA	EQUIPO MULTIPLACA, MARCA SUNOSTICK

ANEXO 2. METODOS –AOAC- APLICADOS POR LA NORMA BOLIVIANA

Técnicas analíticas empleadas para el análisis proximal de las muestras de quinua según la Norma Boliviana par Cereales – Quinua en grano

Norma	
NB 312026	Determinación de humedad, método gravimétrico.
NB 312027	Determinación del contenido de materia grasa, extracción con éter de petróleo 60-80, método gravimétrico.
NB 312028	Determinación de fibra cruda, método gravimétrico, después de una hidrolisis acida y posteriormente a una hidrolisis básica.
NB 312029	Determinación de proteínas totales, método kjeldahl (realizado por el Laboratorio de Calidad Ambiental).
NB 312030	Determinación de Cenizas, método gravimétrico.
NB 312031	Determinación de hidratos de carbono, calculado mediante la diferencia d 100menos la suma de: humedad, materia grasa, fibra, proteínas y cenizas

ANEXO 3. RESULTADO DE ANÁLISIS PROXIMAL

CENIZAS

	I	II	III	Promedio	desv esta
PHISANQALLA	3,450	3,350	3,650	3,483	0,153
KURMI	2,498	2,547	2,499	2,515	0,028
PUNAYA	1,949	1,950	2,046	1,982	0,056
AJARA	2,596	2,647	2,449	2,564	0,103

GRASA

	I	II	III	Promedio	desv esta
PHISANQALLA	6,296	6,246	6,316	6,286	0,036
KURMI	6,316	6,323	6,325	6,322	0,005
PUNAYA	2,769	2,889	2,754	2,804	0,074
AJARA	5,921	5,797	5,657	5,791	0,132

HUMEDAD

	I	II	III	Promedio	desv esta
PHISANQALLA	10,620	10,642	10,701	10,654	0,042
KURMI	7,440	7,460	7,400	7,433	0,031
PUNAYA	8,860	8,900	8,856	8,872	0,024
AJARA	9,100	9,140	9,120	9,120	0,020

FIBRA

	I	II	III	Promedio	Desv. Esta
PHISANQALLA	2,450	2,390	2,422	2,421	0,030
KURMI	6,200	6,250	6,225	6,225	0,025
PUNAYA	4,050	3,990	4,024	4,021	0,030
AJARA	6,140	6,200	6,168	6,169	0,030

CARBOHIDRATOS

	I	II	III	Promedio	desv esta
PHISANQALLA	65,934	66,123	65,659	65,905	0,233
KURMI	64,421	66,170	66,298	65,630	1,049
PUNAYA	65,497	71,021	71,063	69,193	3,202
AJARA	61,868	64,966	65,347	64,060	1,908

ANEXO 4. RESULTADOS DE LA CUANTIFICACION DE FLAVONOIDES

Curva de Calibración de Quercetina

Concentración (ppm)	Absorbancia
5	0,052
10	0,093
15	0,132
20	0,178

Medida de absorbancias de los extractos ricos en compuestos fenólicos de las cuatro variedades de quinua con una concentración de 1000ppm por triplicado

Variedad	I	II	II	Promedio de las Absorbancias	Concentración (ppm)	mgQue/0,005g	mgQue/100g
Phisanqalla	0,112	0,11	0,106	0,109	12,028	0,060	92,865
Kurmi	0,094	0,093	0,080	0,089	9,578	0,048	77,822
Punaya	0,053	0,061	0,054	0,056	5,602	0,028	88,407
Ajara	0,096	0,089	0,100	0,095	10,301	0,052	63,959

ANEXO 5. RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ANTI-TIROSINASA

Medida de absorbancias del blanco, del control (ácido Kójico) y los extractos ricos en compuestos fenólicos de las cuatro variedades de quinua por duplicado

	I	II	Promedio	% de inhibición
Blanco	0,628	0,609	0,619	
Ac. Kojico	0,073	0,081	0,077	87,55
Phisanqalla	0,581	0,421	0,501	19,00
Kurmi	0,406	0,41	0,408	34,03
Punaya	0,544	0,583	0,564	8,89
Ajara	0,599	0,597	0,598	3,31