

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL GERMINADO DE LA SEMILLA DE CUATRO VARIETADES DE *Amaranthus caudatus* L. "KIWICHA"

Enrique J. Aguilar Felices, Marta Romero Viacava

Unidad de Investigación e Innovación de Ciencias de la Salud

E-mail: enrique.aguilar@unsch.edu.pe

RESUMEN

Objetivos: Determinar la actividad antioxidante del germinado de la semilla de las variedades Centenario, Cristalino, Oscar Blanco y Taray de *Amaranthus caudatus* L. "Kiwicha" comparadas con las semillas sin germinar. **Diseño:** Investigación experimental. **Lugar:** Laboratorios de Farmacognosia y Botánica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. **Material biológico:** Germinado de la semilla de las variedades Centenario, Cristalino, Oscar Blanco y Taray de *Amaranthus caudatus* L. "Kiwicha". **Intervenciones:** Obtención del germinado de las semillas, determinación de fenoles totales por el método de Folin – Ciocalteu, de flavonoides por el método del cloruro de aluminio y la actividad antioxidante por los métodos de DPPH, ABTS y FRAP. **Principales medidas de resultados:** altura y porcentaje de germinación, fenoles totales y flavonoides, actividad secuestradora de los radicales libres DPPH, ABTS y la capacidad reductora del ion férrico (FRAP). **Resultados:** La variedad Cristalino tuvo la mayor altura de germinación (3,0 cm) y todas las variedades tuvieron un 50% de porcentaje de germinación. El germinado de las variedades Cristalino y Taray tuvieron el mayor contenido de fenoles totales (32,92 y 35,00 mg GAE/g de muestra), la variedad Cristalino tuvo mayor contenido de flavonoides (580,95 mg QE/g) ($p < 0.05$); y las variedades Cristalino y Taray mostraron mayor actividad secuestradora de los radicales libres DPPH (151,85 y 151,38 mg TE/g de muestra) y ABTS (178,09 y 180,18 mg TE/g de muestra); y capacidad reductora del ion férrico (FRAP) (132,75 y 136,42 mg TE/g de muestra). **Conclusiones.** El germinado de las variedades Cristalino y Taray tuvieron mayor actividad antioxidante que las semillas sin germinar ($p < 0,05$) y se relacionan directamente por su mayor contenido de fenoles totales y de flavonoides ($p < 0,05$).

Palabras clave: *Amaranthus caudatus* L., germinado de las semillas, compuestos fenólicos, actividad antioxidante.

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE GERMINATE OF THE SEED OF FOUR VARIETIES OF *Amaranthus caudatus* L. "KIWICHA"

ABSTRACT

Objectives: To determine the antioxidant activity of the germinated seeds of the Centenario, Cristalino, Oscar Blanco and Taray varieties of *Amaranthus caudatus* L. "Kiwicha" compared with the non-germinated seeds. **Design:** Experimental research. **Setting:** Pharmacognosy and Botany Laboratories of the National University of San Cristóbal de Huamanga. **Biological material:** Sprouts of the seed from varieties Centenario, Cristalino, Oscar Blanco and Taray of *Amaranthus caudatus* L. "Kiwicha". **Interventions:** Obtaining germination of the seeds, determination of total phenols by the Folin - Ciocalteu method, flavonoids by the aluminum chloride method and antioxidant activity by DPPH, ABTS and FRAP methods. **Main outcome measures:** height and percentage of germination, total phenols and flavonoids, DPPH and ABTS radical scavenging activity and ferric ion reducing capacity (FRAP). **Results:** The Cristalino variety had the highest germination height (3.0 cm) and all varieties had a 50% germination percentage. Germination of the cristalino and Taray varieties had the highest content of total phenols (32.92 and 35.00 mg GAE/g sample), the Cristalino variety had a higher flavonoid content (580.95 mg QE/g) ($p < 0.05$); and the Cristalino and Taray varieties showed higher DPPH free radical scavenging activity (151.85 and 151.38 mg TE / g sample) and ABTS (178.09 and 180.18 mg TE / g sample); and reducing capacity of the ferric ion (FRAP) (132.75 and 136.42 mg TE / g sample). **Conclusions:** The sprouts of the Cristalino and Taray varieties had greater antioxidant activity than the non - germinated seeds ($p < 0.05$) and is directly related to their higher content of total phenols and flavonoids ($p < 0.05$).

Key words: *Amaranthus caudatus* L. sprouts of seeds, phenolics compounds, antioxidant activity.

INTRODUCCIÓN

El género *Amaranthus* es altamente diverso, incluye aproximadamente 70 especies de las cuales las más importantes son *Amaranthus cruentus*, *Amaranthus caudatus* y *Amaranthus hypochondriacus*. Son valiosos por su alto contenido de proteínas y por sus múltiples propiedades nutracéuticas. Varios análisis químicos han evidenciado que acumulan diversos tipos de metabolitos secundarios, de particular interés están los ácidos fenólicos,

flavonoides y otros polifenoles, producidos por su alta actividad antioxidante. Esta actividad ha sido asociada epidemiológicamente con la disminución del riesgo de enfermedades asociadas con el estrés oxidativo, tales como el cáncer y los problemas cardiovasculares. Particularmente en *Amaranthus caudatus* L. se ha reportado la presencia de flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, esteroides y triterpenoides, saponinas, amarantolidosidos, carotenoides y fitatos. Mientras que, los fenilpropanoides presentes en las semillas son: ácidos fenólicos totales, ácido p – cumárico,

ácido ferúlico, ácido protocatéuico, ácido p – hidroxibenzoico, ácido cafeico, ácido salicílico, los flavonoides rutina y quercetina: y en el germinado el ácido protocatéuico. (Castrillón - Arbelaez P, Delano P., 2016)

Amaranthus caudatus L. es una especie anual, herbácea, ligeramente arbustiva, cuyos colores de panoja varían de verde, amarillo y rojo hasta morado. Las inflorescencias pueden ser amarantiforme o glomerulada, son muy atractivas y pueden variar de erectas a caídas o postradas con colores muy variados. La semilla es muy pequeña, lisa y brillante, de color generalmente blanco, aunque existen de color amarillo, rojo y los amarantos silvestres son negros (Hernández JE, León J., 1992), asimismo, las semillas son casi globosas, lisas y brillantes, color marfil pálido, rojizo o marrón oscuro (Achigan - Dako EG, Sogbohossou O, Maundu P., 2014). Las variedades seleccionadas son principalmente logradas en el Cusco, en base a material genético procedente de Tarija (Bolivia), como son las variedades Noel Vietmayer y Oscar Blanco que son las más difundidas. La variedad Consuelo es de reciente selección. La Variedad Ayacuchoana seleccionada en Ayacucho, ha mostrado rendimientos muy buenos sobre los 3000 kg/ha. En Cajamarca se han obtenido las variedades San Luis, Otusco y la Roja de Cajamarca. En Bolivia se ha seleccionado la variedad Cahuayuma de excelente rendimiento, así como, las variedades Pairumani 1 y Pairumani 2 en Cochabamba (Hernández JE, León J., 1992). Se ha reportado la presencia de compuestos fenólicos en las semillas de dos variedades de *Amaranthus cruentus* L. y de su actividad antioxidante (Pasko P, Sajewicz M, Gorinstein S, Zachwieja Z., 2008) (Pasko P, Barton H, Zagrotsky P, Gorinstein S, Folta M, Zachwieja Z., 2009). Asimismo, se ha determinado el contenido de fenoles totales, ácidos fenólicos y la actividad antioxidante de las semillas de *Amaranthus caudatus* L. y de *Amaranthus paniculatus* por el método de decoloración del β – caroteno en semillas (Klimczack I, Malecka M, Pacholek B., 2002). También se ha reportado el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de las semillas de *Amaranthus caudatus* L., cuando es afectado por la cocción y el germinado (Alvarez - Jubete L. Wijngaard H, Arendt EK, Gallagher E., 2010).

Los métodos utilizados en la determinación de la actividad antioxidante de los compuestos químicos presentes en los vegetales, han venido evolucionando conforme se disponen de mejores técnicas, los cuales son más selectivos para detectar la capacidad antioxidante de compuestos hidrosolubles y liposolubles. Varios autores han revisado dichos métodos (Kuskoski M, Asuero A, Troncoso A, Mancini - Filho J, Feti R., 2005) (Prior R, Wu X, Schaich K, 2005), analizando cuales son los mejores para determinar la capacidad antioxidante en alimentos y suplementos dietarios.

En el proceso de obtención del germinado, se determina el porcentaje de germinación como un indicador del rendimiento, para el cual se tiene como referencia la obtención del germinado de la semilla de *Chenopodium quinoa* Willd. “quinua” (Aguilar E, Romero M, Velazco C, Ore K., 2016). La presente investigación se desarrolló planteándose como objetivo general determinar el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante del germinado de cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L. “kiwicha” colectadas en la Estación Experimental del Instituto Nacional de Investigación Agraria - Ayacucho - Ayacucho en el año 2017 y como objetivos específicos determinar la altura del germinado y el porcentaje de

germinación, determinar el contenido de fenoles totales y flavonoides; y determinar la actividad antioxidante del germinado de las cuatro variedades y comparar el contenido de fenoles totales, flavonoides totales y la actividad antioxidante del germinado y de las semillas sin germinar.

MATERIAL Y MÉTODOS

Lugar de Ejecución.

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Farmacognosia del Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias de la Salud y en el Laboratorio de Botánica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga durante los meses de enero a diciembre de 2017.

Muestra

164 g de semillas de la variedad “Taray”, 197 g de semillas de la variedad “Oscar Blanco”, 228 g de semillas de la variedad “Cristalino”, 151 g de semillas de la variedad “Centenario”, proporcionados por el Instituto Nacional de Investigación y Experimentación Agraria de Ayacucho (INIEA – Ayacucho). Las semillas se encontraban en buen estado de conservación.

Obtención del germinado de las semillas de *Amaranthus caudatus* L.

10 g de semillas de cada variedad fueron enjuagadas con hipoclorito 0,02% (p/v) por 20 minutos, enjuagadas varias veces con agua destilada y colocadas sobre papel absorbente humedecido con agua destilada en recipientes de vidrio. Las semillas fueron incubadas a 37°C entre 4 a 6 días hasta obtener el germinado. Se cosechó el germinado, seguidamente se desecó a 40 °C por 24 horas, luego se trituro utilizando un mortero de porcelana y se almacenó a menos de 0 °C hasta su uso (Aphalo P, Martínez EN, Añón MC., 2015).

Se determinó la longitud del germinado utilizando una regla, registrándose la longitud en cm. Asimismo, se determinó el porcentaje de germinación (Xue Z, Wang C, Zhai L, Yu W, Chang H, Kou X, Zhou E., 2016), utilizándose la siguiente formula:

$$\text{Porcentaje de germinación (\%)} = \frac{\text{número de semillas germinadas}}{\text{número total de semillas al inicio}} \times 100$$

Las semillas sin germinar, fueron desecadas a 40°C en una estufa y luego fueron trituradas utilizando un mortero de porcelana hasta obtener un polvo fino, que fueron almacenados en frascos ámbar hasta su posterior análisis.

Obtención de los extractos

Cinco gramos del germinado de la semilla y de la semilla sin germinar fueron extraídos con 50 mL de metanol (1:10), utilizando un agitador magnético por 4 horas. Se centrifugó a 3000 rpm por 30 minutos, el sobrenadante fue recuperado y vertido en una fiola de 50 mL y llevado a volumen con metanol. Cada uno de los extractos fue conservado en refrigeración hasta su posterior uso (Palombini SV, Claus T, Maruyama SA, Gohara AK, Souza AHP, de Souza NE, Visentainer JV, Gomes STM, Matsuhita M., 2013).

Determinación del contenido de fenoles totales

El contenido de fenoles totales fue determinado utilizando el reactivo Folin – Ciocalteu, siguiendo el método descrito por Makkar (2003) (Thangaraj, 2016). 50 μ L de los extractos

obtenidos del germinado y de la semilla sin germinar fueron diluidos y mezclados con 0,5 mL del reactivo de Folin – Ciocalteu 1N y 2,5 mL de solución de carbonato de sodio al 5%. La mezcla fue incubada en la oscuridad por 40 minutos a temperatura ambiente (20 °C). Después de la incubación, la absorbancia fue medida a 725 nm utilizando un espectrofotómetro UV – Vis GENESYS 6. Se preparó una curva de calibración con ácido gálico (0,0; 0,05; 0,10; 0,15; 0,20; 0,25; 0,30 µg/mL). Los resultados fueron expresados en mg equivalentes a ácido gálico por g de muestra (mg GAE/g de muestra).

Determinación del contenido de flavonoides

El contenido de flavonoides fue determinado utilizando el método descrito por Zhishen y col. (1999) (Thangaraj, 2016). 0,50 mL del extracto fue mezclado con 0,50 mL de agua destilada y 0,15 mL de solución de nitrito de sodio al 5% en un tubo de ensayo y mezclar con un Vortex. Después de 5 minutos, 0,15 mL de solución de cloruro de aluminio al 10% fue adicionado y mezclar con un Vortex. A los 6 minutos, 2,0 mL de hidróxido de sodio al 4% fue adicionado a la mezcla. Inmediatamente, la solución fue completada hasta 5,0 mL con agua destilada y mezclada con un Vortex. La absorbancia de la mezcla final fue determinada a 510 nm contra un blanco de la reacción con espectrofotómetro UV – Vis GENESYS 6. Se preparó una curva de calibración con quercetina (8,0; 16,0; 24,0; 32,0; 40,0 µg/mL). El contenido de flavonoides de los extractos fue expresado como mg equivalentes a quercetina/g de muestra (mg QE/g).

Determinación de la actividad antioxidante por el método de secuestro del radical libre 1,1 – difenil – picril – hidrazilo (DPPH)

Se utilizó el método descrito por Brand – Williams y col. (Carciochi RA, Manrique G, Dinitrov K., 2014) En resumen, a una alícuota del extracto (50 µL) de extracto fue adicionado a 1950 µL de una solución metanólica (100 µM) del radical libre DPPH. Después de la agitación, la mezcla fue incubada en la oscuridad por 30 minutos y la absorbancia fue medida a 517 nm en un espectrofotómetro UV – Vis GENESYS 6. El porcentaje de la actividad secuestradora del radical libre fue calculada de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de secuestro del DPPH} = \left[\frac{A_{\text{DPPH}} - A_{\text{MP}}}{A_{\text{DPPH}}} \right] \times 100$$

Se preparó una curva estándar con Trolox (25 – 800 µM). Los resultados fueron expresados como mg equivalentes a Trolox/g de muestra (mg TE/g de muestra).

RESULTADOS

Tabla 1. Altura del germinado y porcentaje de germinación en las semillas de cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha".

| Variedad | Altura del germinado (cm) | Germinación (%) |
|--------------|---------------------------|-----------------|
| Oscar Blanco | 1,5 | 50 |
| Cristalino | 3,0 | 50 |
| Centenario | 2,0 | 50 |
| Taray | 1,0 | 50 |

Determinación de la actividad antioxidante por el método de secuestro del catión radical del ácido 2,2'-azinobis-(3- etilbenzotiazolina)-6- sulfónico (ABTS⁺)

Se utilizó el procedimiento descrito por Arnao y col. (Arnao M, Cano A, Acosta M., 2001), modificado por Thaipong y col. (Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros - Zevallos L, Hawkins D., 2016). Para el cual se preparó una solución patrón (SP) constituida por 7, 4 mM de ABTS y 2,6 mM de persulfato de potasio a los cuales se dejó que reaccionen por 12 horas. La solución de trabajo (ST) fue preparada a partir de 1 mL de SP disuelto en metanol y se ajustó la absorbancia a $1,1 \pm 0,02$ mL, diluyendo con metanol a una longitud de onda de 734 nm. La muestra (150 µL) fue mezclado con 2850 µL de solución de ABTS y se dejó que reaccionen en la oscuridad por 2 horas y se leyó la absorbancia a 734 nm en un espectrofotómetro GENESYS 6. Se preparó una curva estándar con Trolox (25 – 600 mg). Los resultados fueron expresados como mg equivalentes a Trolox/g de muestra (mg TE/g de muestra).

Determinación de la actividad antioxidante por el método de reducción de hierro (FRAP)

Se realizó según el procedimiento descrito por Benzie y Strain (Benzie IFF, Strain JJ., 1996) con modificaciones hechas por Thaipong y col. (Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros - Zevallos L, Hawkins D., 2016). La solución patrón incluye 300 mM de buffer acetato pH 3,6; 10 mM TPTZ (2, 4, 6 – tripiridil – triazina) disueltos en una solución de HCl 40 mM y 20 mM de solución de FeCl₃.6H₂O. La solución de trabajo (ST) se obtuvo mezclando y calentando a 37 °C, 25 mL de buffer acetato con 2,5 mL de solución de TPTZ y 2,5 mL de la solución de FeCl₃. Se mezcló 150 µL de muestra con 2850 µL de solución ST, dejándose reaccionar por 30 minutos y se leyó la absorbancia a 593 nm en un espectrofotómetro GENESYS 6. Se preparó una curva estándar con Trolox (25 – 800 mg). Los resultados fueron expresados como mg equivalentes a Trolox/g de muestra (mg TE/g de muestra).

Análisis de datos

Los datos obtenidos son presentados como medias ± D.E. Las diferencias entre las medias de cada especie se analizaron mediante el análisis de varianza de un factor y la prueba de comparaciones múltiples de Tukey; y las diferencias entre el germinado y las semillas sin germinar, mediante un análisis de varianza de dos factores; todos con un nivel de confianza al 95% ($\alpha = 0.05$) utilizando el paquete estadístico SPSS versión 20.

Tabla 2. Contenido de fenoles totales y flavonoides de las semillas sin germinar y germinadas de cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L. “kiwicha”. Ayacucho – 2017.

| Variedad | Fenoles Totales | | Flavonoides | |
|--------------|------------------------|--------------------|------------------------|---------------------|
| | (mg GAE/g de muestra)* | | (mg QE/g de muestra)** | |
| | Sin Germinar | Germinado | Sin Germinar | Germinado |
| Centenario | 5,64 | 20,83 ^a | 156,71 | 228,57 ^a |
| Cristalino | 6,78 | 32,92 ^a | 212,55 | 580,95 ^c |
| Oscar Blanco | 7,20 | 19,94 ^a | 196,54 | 467,10 ^b |
| Taray | 6,36 | 35,00 ^a | 295,57 | 230,74 ^a |

* p < 0,05

** p < 0,05

Tabla 3. Capacidad secuestradora del DPPH, ABTS y reductora del hierro (FRAP) de los compuestos fenólicos presentes en las semillas sin germinar y germinadas de cuatro variedades de *Amaranthus caudatus* L. “kiwicha”.

| Variedad | Capacidad secuestradora del DPPH | | Capacidad secuestradora del ABTS | | Capacidad reductora del hierro (FRAP) | |
|--------------|----------------------------------|----------------------|----------------------------------|---------------------|---------------------------------------|---------------------|
| | (mg TE/g de muestra)* | | (mg TE/g de muestra)** | | (mg TE/g de muestra)*** | |
| | Sin Germinar | Germinado | Sin Germinar | Germinado | Sin Germinar | Germinado |
| Centenario | 98,73 | 149,62 ^a | 72,45 | 155,94 ^a | 51,05 | 102,38 ^a |
| Cristalino | 107,85 | 151,85 ^c | 75,99 | 178,09 ^b | 67,63 | 132,75 ^b |
| Oscar Blanco | 108,91 | 150,09 ^{ab} | 84,90 | 164,06 ^a | 65,11 | 110,47 ^a |
| Taray | 99,61 | 151,38 ^{bc} | 69,05 | 180,18 ^b | 54,28 | 136,42 ^b |

* p < 0,05

** p < 0,05

*** p < 0,05

DISCUSIÓN

La variedad Cristalino de *Amaranthus caudatus* L. fue la que alcanzó mayor altura y la variedad Taray la que alcanzó menor altura durante el proceso de germinación (Tabla 1). Las condiciones de germinación fueron 100 semillas, temperatura promedio de 37°C y el período de germinación fue 6 días. Existen un reporte de la germinación de la semilla de *Amaranthus caudatus* L. en 6 días, para el cual se utilizó la variedad INIAP Alegría del Ecuador (Rubio N, Guerrero G., 2016); mientras que en nuestra investigación se evaluó el germinado de cuatro variedades y todas mostraron el mismo período de germinación. El período de germinación de otro grano andino *Chenopodium quinoa* Willd, fue de tres días (Aguilar E, Romero M, Velazco C, Ore K., 2016), esto puede explicarse por las características morfológicas del grano, aparentemente la cubierta de la semilla de *Amaranthus caudatus* L. es más gruesa y toma más tiempo suavizar la cubierta protectora haciendo posible la interacción del agua con la fécula nutritiva (Rubio N, Guerrero G., 2016).

En la Tabla 2 se observa que el germinado de la semilla de las variedades Centenario, Cristalino, Oscar Blanco y Taray tienen mayor contenido de fenoles totales y de flavonoides respecto a las semillas sin germinar. Respecto a los fenoles totales, estos se incrementaron 2,9 veces en la variedad Oscar Blanco hasta 5,5 veces en la variedad Taray. También, la variedad Taray tiene mayor contenido de compuestos fenólicos y la variedad Oscar Blanco menor contenido. Se observaron diferencias en el contenido de fenoles totales (p<0.05), pero estas diferencias no permitieron la formación

de subgrupos representativos entre ellos. El contenido de fenoles totales en un extracto etanólico de las semillas de *Amaranthus caudatus* L, determinado por el método de Folin – Ciocalteu fue de 39,17 mg/100 g de muestra, sin reportar la variedad utilizada, asimismo, se cuantificó el contenido de ácidos fenólicos libres por cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (RP – HPLC), para el ácido protocatequico (4,65 µg/g), ácido p – hidroxibenzoico (20,89 µg/g), ácido cafeico (55,79 µg/g), ácido p – cumarico (5,20 µg/g), ácido ferúlico (18,41 µg/g) y ácido salicílico (1,92 µg/g) respectivamente, sumando un total de 106,86 µg/g de semilla de ácidos fenólicos (Klimczack I, Malecka M, Pacholek B., 2002). En otro estudio, se reportó el contenido de polifenoles en semillas y germinado de las semillas de *Amaranthus caudatus* L. utilizando el método de Folin – Ciocalteu, hallándose en las semillas 21,2 ± 2,3 mg EAG/100 g muestra seca y en el germinado de las semillas 82,2 ± 4,6 mg EAG/100 g muestra seca respectivamente, en este caso tampoco se reportó la variedad empleada que dificulta la comparación de los resultados (Alvarez - Jubete L. Wijngaard H, Arendt EK, Gallagher E., 2010). No obstante, reportan que, en el germinado de las semillas, se incrementó hasta cuatro veces el contenido de compuestos fenólicos, respecto a las semillas sin germinar. En nuestro caso, los promedios de incremento de las cuatro variedades fueron 4,2 veces. Asimismo, nosotros tuvimos mayor promedio de recuperación, puesto que nuestros resultados están expresados por g de muestra y el de ellos por 100 g de muestra. Esto podría ser explicado debido a que utilizaron solamente 1,25 g de muestra en 25 mL de metanol, mientras que en nuestro caso se utilizó 5,0 g de muestra en 50 mL de

metanol. La influencia del cultivar sobre el contenido de fenoles totales en las semillas de *Amaranthus caudatus* L., utilizando el método de Folin – Ciocalteu fue determinado para las variedades Golden Giant, Rawa, Annapurna, Oscar Blanco y Konitz cultivadas en el Centro de Investigación para la Producción de Plantas de la República de Eslovaquia, expresados como mg EAG/kg de materia seca fueron para Golden Giant ($2548,75 \pm 114,75$), Rawa ($1381,05 \pm 77,68$), Annapurna ($2869,90 \pm 74,29$), Oscar Blanco ($1634,10 \pm 61,51$) y Konitz ($1807 \pm 128,68$) respectivamente (Vollmannová A, Margitanová E, Toth T, Timoracka M, Urminska D, Bojňanska T, Cicová I., 2013). Ellos utilizaron en la preparación de la muestra metanol al 80% para 1 gramo de muestra molida. Nosotros reportamos para la variedad Oscar Blanco 7,20 mg/g de muestra seca y ellos reportan un equivalente de 1,634 mg/g de muestra seca, el cual representa aproximadamente 4,4 veces más en nuestro estudio. La razón podría ser que esta especie es nativa de los andes y puede influenciar en su genética y bioquímica, propiciando una mayor producción de compuestos fenólicos.

Respecto al contenido de flavonoides, se observa que el germinado de la semilla de las variedades Centenario, Cristalino, Oscar Blanco y Taray tienen mayor contenido de flavonoides totales respecto a las semillas sin germinar. También, la variedad Cristalino tiene mayor contenido de flavonoides y la variedad Taray el de menor contenido. El incremento del contenido fue de 0,8 veces para la variedad Taray y de 2,7 veces para la variedad Cristalino, siendo en promedio de 1,8 veces. Las diferencias fueron significativas en el contenido de flavonoides del germinado de las semillas de las cuatro variedades. Las variedades Centenario y Taray tuvieron menor contenido de flavonoides, seguido de la variedad Oscar Blanco y la variedad Cristalino tuvo el mayor contenido. La influencia del germinado en el contenido de los flavonoides fue significativa ($p < 0,05$). No se han hallado reportes en la literatura del contenido de flavonoides en las semillas y el germinado de las semillas en variedades de *Amaranthus caudatus* L., por tanto, la presente investigación constituye el primer reporte al respecto.

En la Tabla 3 se observa que el germinado de la semilla de las variedades Centenario, Cristalino, Oscar Blanco y Taray tuvieron mayor actividad secuestradora del radical libre DPPH, del radical libre ABTS y poder reductor del hierro (FRAP), respecto a las semillas sin germinar. En el caso de la actividad secuestradora del radical DPPH, la variedad Oscar Blanco tuvo la mayor actividad secuestradora y la variedad Centenario la de menor actividad. La diferencia entre las variedades fue significativa ($p < 0,05$). Asimismo, se observó que las variedades Centenario y Oscar blanco tuvieron la menor capacidad secuestradora; y las variedades Taray y Cristalino tuvieron la mayor actividad secuestradora. Por otro lado, cuando se realizó la comparación de la actividad secuestradora entre las semillas sin germinar y el germinado de las semillas, se encontró una diferencia altamente significativa ($p < 0,05$). En un reporte en la cual no se precisa la variedad, se determinó la capacidad secuestradora del radical libre DPPH en semillas ($28,4 \pm 1,3$ mg ET/100 g de muestra seca) y en el germinado de las semillas ($27,1 \pm 2,7$ mg ET/100 g de muestra seca) de *Amaranthus caudatus* L. respectivamente (Alvarez - Jubete L. Wijngaard H, Arendt EK, Gallagher E., 2010). Como observamos, no hallaron diferencias entre las semillas y el germinado de las semillas; en nuestro estudio, podemos observar que en general, el germinado incrementó la capacidad secuestradora del radical DPPH hasta en 1,5 veces. Cuando se evaluó la capacidad

secuestradora del radical libre DPPH en cinco variedades expresadas en mmol ET/kg de materia seca, los resultados fueron para Golden Giant ($2,32 \pm 0,49$), Rawa ($3,00 \pm 0,40$), Annapurna ($3,90 \pm 1,46$), Oscar Blanco ($4,64 \pm 0,57$) y Konitz ($2,46 \pm 0,51$) respectivamente (Vollmannová A, Margitanová E, Toth T, Timoracka M, Urminska D, Bojňanska T, Cicová I., 2013). En este caso, a pesar de tener un bajo contenido de compuestos fenólicos, tuvo una mayor capacidad secuestradora del radical DPPH. En nuestra investigación, la variedad Oscar Blanco también tuvo una buena actividad secuestradora del radical DPPH, pero inferior a las variedades Taray y Centenario. Por otro lado, respecto a la actividad secuestradora del radical libre ABTS, el germinado de la semilla de las variedades Centenario, Cristalino, Oscar Blanco y Taray tuvieron mayor actividad secuestradora que las semillas sin germinar ($p < 0,05$). Asimismo, la variedad Taray tuvo la mayor actividad, seguida de la variedad Cristalino y la variedad Oscar Blanco tuvo la menor actividad. La capacidad secuestradora se incrementó entre 1,9 veces para la variedad Oscar Blanco hasta 2,6 veces para la variedad Taray, siendo el promedio de incremento de 2,3 veces. Se encontraron diferencias en el secuestro del radical ABTS por los compuestos fenólicos del germinado de las cuatro variedades ($p < 0,05$). Las variedades Centenario y Oscar Blanco tuvieron la menor capacidad secuestradora y las variedades Cristalino y Oscar Blanco tuvieron la mayor capacidad secuestradora. La influencia del germinado en el contenido de compuestos fenólicos sobre la capacidad secuestradora del radical ABTS fue significativa. Finalmente, el germinado de la semilla de las variedades Centenario, Cristalino, Oscar Blanco y Taray tuvieron mayor actividad reductora del hierro respecto a las semillas sin germinar. Asimismo, la variedad Taray tuvo la mayor actividad, seguida de la variedad Cristalino y la variedad Oscar Blanco tuvo la menor actividad. La diferencia entre las variedades fue significativa ($p < 0,05$). Asimismo, se observó que las variedades Centenario y Oscar blanco tuvieron la menor capacidad reductora; y las variedades Taray y Cristalino tuvieron la mayor actividad reductora. Al realizar la comparación de la actividad secuestradora entre las semillas sin germinar y el germinado de las semillas, se encontró una diferencia altamente significativa ($p < 0,05$). Se ha reportado la capacidad reductora del hierro en semillas ($55,3 \pm 1,6$ mg ET/100 g de muestra seca) y el germinado de las semillas ($122 \pm 11,1$ mg ET/100 g de muestra seca respectivamente) de *Amaranthus caudatus* L., pero sin precisar la variedad; en el cual, se observó diferencias en la capacidad reductora del hierro entre las semillas y el germinado de las semillas, incrementándose hasta 2,2 veces (Alvarez - Jubete L. Wijngaard H, Arendt EK, Gallagher E., 2010). En nuestro reporte, podemos observar que en general, el germinado incrementó la capacidad reductora del hierro entre 1,7 veces para la variedad Oscar Blanco y hasta 2,5 veces para la variedad Taray.

Utilizando una metodología diferente, se ha determinado el efecto antioxidante *in vitro* por el ensayo de peroxidación lipídica de liposomas del extracto metanólico de las semillas de las variedades Oscar Blanco y Rojo Víctor, con muestras obtenidas en Bolivia, no hallando diferencias significativas entre ambas variedades, no realizando la cuantificación de los compuestos fenólicos presentes (Conforti F, Satti G, Loizzo MR, Sacchetti G, Poli F, Menichini F., 2005).

En consecuencia, como resultado de la presente investigación se demostró que el germinado de las semillas de *Amaranthus caudatus* L. "kiwicha", incrementan el

contenido de compuestos fenólicos, produciendo a su vez un incremento en su actividad antioxidante.

AGRADECIMIENTOS

A Kriss La Rosa Mendoza, Jessica Ore Ludeña, Levi Sánchez Anaya. Al Instituto Nacional de Investigación y Experimentación Agraria – Ayacucho (INIEA – Ayacucho), por facilitarnos las muestras de *Amaranthus caudatus* L.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Achigan - Dako EG, Sogbohossou O, Maundu P., 2014. Current knowledge on *Amaranthus* spp.: research avenues for improve nutritional value and yield in leafy amaranthus in sub - Saharian Africa. *Euphytica Springer*, 197(3), pp. 303 - 317.

Aguilar E, Romero M, Velazco C, Ore K., 2016. *Actividad antioxidante de los ácidos fenólicos aislados del germinado de cuatro variedades de Chenopodium quinoa Willd. "quinua"*, Ayacucho - Perú: s.n.

Alvarez - Jubete L, Wijngaard H, Arendt EK, Gallagher E., 2010. Polyphenol composition and *in vitro* antioxidant activity of amaranth, quinoa, buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chemistry*, 119(2), pp. 770 - 78.

Aphalo P, Martínez EN, Añón MC., 2015. Amaranthus sprouts: A potential health promoting and nutritive natural food. *International Journal of Food Properties*, 18(12), pp. 2688 - 698.

Arnao M, Cano A, Acosta M., 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity.. *Food Chemistry*, Volumen 73, pp. 239 - 244.

Benzie IFF, Strain JJ., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assays. *Analytical Biochemistry*, Volumen 239, pp. 70 - 76.

Carciochi RA, Manrique G, Dinitrov K., 2014. Changes in phenolic composition and antioxidant activity during germination of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd). *International Food Research Journal*, 21(2), pp. 767 - 73.

Castrillón - Arbeláez P, Delano P., 2016. Secondary Metabolism in *Amaranthus* spp. - A Genomic Approach to Understand Its Diversity and Responsiveness to Stress in Marginally Studied Crops with High Agronomic Potential. En: *Abiotic and Biotic Stress in Plants. Recent Advances and Future Perspectives*. India: In Tech, pp. 185 - 227.

Conforti F, Satti G, Loizzo MR, Sacchetti G, Poli F, Menichini F., 2005. *In vitro* Antioxidant Effect and Inhibition of α - amilase of two varieties of *Amaranthus caudatus* seeds.. *Biol. Pharm. Bull.*, 28(6), pp. 1098 - 102.

Hernández JE, León J., 1992. *Cultivos Marginados: Otra perspectiva de 1942*. Roma: Colección FAO Producción y Pretección Vegetal N° 026.

Klimczack I, Malecka M, Pacholek B., 2002. Antioxidant activity of ethanolic extrats of amaranth seeds. *Nahrung/Food*, 46(3), pp. 184 - 86.

Kuskoski M, Asuero A, Troncoso A, Mancini - Filho J, Feti R., 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar la actividad antioxidante en pulpa de fruto. *Cienc. Tecnol. Aliment. Campinas*, 25(4), pp. 26 - 32.

Palombini SV, Claus T, Maruyama SA, Gohara AK, Souza AHP, de Souza NE, Visentainer JV, Gomes STM, Matsuhita M., 2013. Evaluation of nutritional compounds in new amaranth and quinoa cultivars. *Food Sci. Technol, Campinas*, 33(2), pp. 339 - 44.

Pasko P, Barton H, Zagrodsky P, Gorinstein S, Folta M, Zachwieja Z., 2009. Anhtocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. *Food Chemistry*, 115(3), pp. 994 - 98.

Pasko P, Sajewicz M, Gorinstein S, Zachwieja Z., 2008. Analysis of selected phenolic acids and flavonoids in *Amaranthus cruentus* and *Chenopodium quinoa* Willd. seeds and sprouts by HPLC.. *Acta Chromatographica*, 20(4), pp. 661 - 72.

Prior R, Wu X, Schaich K, 2005. Standarized Methods for the determination of antioxidant capacity and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), pp. 4290 - 302.

Rubio N, Guerrero G., 2016. *Efecto del empaque y temperatura en la vida útil de brotes de amaranto (Amaranthus caudatus L.) para consumo humano*, Quito - Ecuador: Universidad de las Américas.

Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros - Zevallos L, Hawkins D., 2016. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for stimulating antioxidant activity from guava fruits extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, Volumen 19, pp. 669 - 75.

Thangaraj, P., 2016. *Pharmacological Assays of Plant - Based Natural Products*. First edition ed. Coimbatore, Tamil Nadu - India: Springer.

Vollmannová A, Margitanová E, Toth T, Timoracka M, Urminska D, Bojňanska T, Cicová I., 2013. Cultivar influence on total polyphenol and rutin contents and total antioxidant capacity in Buckwheat, Amaranth and Quinoa seeds.. *Czech. Journal Food Sciencie*, 31(6), pp. 589 - 95.

Xue Z, Wang C, Zhai L, Yu W, Chang H, Kou X, Zhou E., 2016. Bioactive compounds and antioxidant activity of mung bean (*Vigna radiata* L.), soybean (*Glycine max*, L.) and black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during the germination process.. *Czech J. Food Sci.*, 34(1), pp. 68-78.