



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS FÍSICO MATEMÁTICAS



**CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPUESTOS ANTIOXIDANTES
EN VARIETADES DE ISAÑO (TROPAEOLUM TUBEROSUM) A
PARTIR DE LA ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS**

TESIS

PRESENTADA POR:

BORIS RENATO LUQUE PALOMINO

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

**LICENCIADO EN CIENCIAS FÍSICO MATEMÁTICAS:
FÍSICA**

PUNO - PERÚ

2024



BORIS RENATO LUQUE PALOMINO

CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPUESTOS ANTIOXIDANTES EN VARIEDADES DE ISAÑO (TROPAEOLUM TUBEROSUM) A P...

My Files

My Files

Universidad Nacional del Altiplano

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::8254-412575238

73 Páginas

Fecha de entrega

4 dic 2024, 11:29 a.m. GMT-5

12,577 Palabras

Fecha de descarga

4 dic 2024, 11:51 a.m. GMT-5

67,265 Caracteres

Nombre de archivo

CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPUESTOS ANTIOXIDANTES EN VARIEDADES DE ISAÑO (TROPA...pdf

Tamaño de archivo

14.9 MB





11% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 12 palabras)

Exclusiones

- N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- 11% Fuentes de Internet
- 2% Publicaciones
- 6% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alerta de integridad para revisión

- Caracteres reemplazados**
19 caracteres sospechosos en N.º de páginas
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.

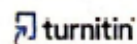
Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitan distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

MATÍAS HUILLCA ARBIETO
DIRECTOR DE TESIS
DNI : 061 57310



Matías Huilca Arbieto
DIRECTOR DE TESIS





DEDICATORIA

A mis amados padres, Herbert y Julia, por todo su apoyo y sacrificio que hacen por mí, este logro no es solo mío, sino también de ustedes, les dedico con gratitud y amor, como un pequeño reflejo de todo lo que me han dado.

Boris Renato Luque Palomino



AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a mi Señor Jesucristo, quien es la razón de mi existir, me ha rescatado de lugares donde me encontraba perdido y me ha dado una esperanza de vida. Agradezco a mis padres, Herbert y Julia, por el amor y apoyo incondicional que siempre me han brindado; a mi hermanito Marck, la razón por la que me esfuerzo para así servirle de ejemplo; y a mi novia Cynthia, por su compañía durante este proceso. Gracias por estar a mi lado y compartir este viaje conmigo. Agradezco de forma muy especial al Dr. José Luis Vega Ramírez, de la Universidad Nacional de San Agustín, quien me ha aceptado en su grupo de investigación y, desde entonces, me ha guiado y aconsejado para mi desenvolvimiento profesional. De igual manera, al Dr. Juan Pablo Portilla Llerena y a mis compañeros del grupo de física médica y biofísica, por haberme guiado y enseñado con paciencia en esta área. También deseo agradecer a mi alma mater, la Universidad Nacional del Altiplano, y a la Escuela Profesional de Ciencias Físico Matemáticas, a mis docentes y a mis compañeros, a quienes llevo mucho aprecio, sobre todo al profesor Matías Huillca Arbieto y a mi compañero Jyan Carlos, quienes fueron de ejemplo e inspiración.

Boris Renato Luque Palomino



ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTOS	
ÍNDICE GENERAL	
ÍNDICE DE TABLAS	
ÍNDICE DE FIGURAS	
ACRÓNIMOS	
RESUMEN.14
ABSTRACT15
CAPÍTULO I	
INTRODUCCIÓN	
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
1.1.1. Formulación del problema	18
1.1.2. Problemas específicos	18
1.2. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN	18
1.2.1. Hipótesis general	18
1.2.2. Hipótesis específicas	18
1.3. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	19
1.4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	20
1.4.1. Objetivo general	20
1.4.2. Objetivos específicos	20
CAPÍTULO II	
REVISIÓN DE LITERATURA	
2.1. ANTECEDENTES	21



2.1.1.	Internacionales	21
2.1.2.	Nacionales	22
2.2.	ISAÑO TROPAELUM TUBEROSUM	23
2.3.	RADICALES LIBRES	24
2.4.	CAPACIDAD Y COMPUESTOS ANTIOXIDANTES	25
2.5.	FUNDAMENTOS DE ESPECTROFOTOMETRÍA	26
2.5.1.	Espectro electromagnético	27
2.5.2.	Medición de la transmitancia y abosbancia	29
2.5.3.	Ley de Beer-Lambert	30
2.6.	ABSORCIÓN DE FOTONES	34
2.7.	TRANSICIONES ELECTRÓNICAS	36
2.7.1.	TRANSICIONES VIBRÓNICASs	36
2.7.2.	PRINCIPIO DE FRANCK CONDON CUÁNTICO	38
2.8.	PRINCIPIOS DE LIOFILIZACIÓN	41
2.8.1.	Ecuaciones representativas	42
2.8.1.1.	Ecuación de Clausius-Clapeyron	42
2.8.1.2.	Ecuación de Presión de Vapor	43
2.8.1.3.	Ecuación de transferencia de calor por conducción	43
2.8.1.4.	Vacío en Liofilización	43

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.	EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS	45
3.1.1.	Equipos de laboratorio	45
3.1.2.	Reactivos	46
3.1.3.	Materiales de vidrio y otros	46
3.2.	MÉTODOS	47



3.2.1. Recolección y preparación de la muestra	47
3.2.2. Obtención de las muestras alcohólicas	48
3.2.3. Obtención de las muestras acuosas	48
3.2.4. Determinación de la capacidad	49
3.3. CÁLCULO DE LOS PARÁMETROS DEL CONSUMO	
ESPECÍFICO DE DPPH	49
CAPÍTULO IV	
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
4.1. CURVA DE CALIBRACIÓN	52
4.2. EJEMPLO DE CÁLCULO DEL CONSUMO ESPECÍFICO DE	
DPPH PARA LA PRIMERA MUESTRA	54
4.3. EXTRACTO ALCOHÓLICO	55
4.4. EXTRACTO ACUOSO	59
4.5. DISCUSIÓN	63
V. CONCLUSIONES	66
VI. RECOMENDACIONES	68
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
ANEXOS	71

ÁREA: Física aplicada

TEMA: Biofísica

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 5 de Diciembre de 2024



ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1 Acciones enumeradas por código.	45
Tabla 2 Acciones enumeradas por código.	53
Tabla 3 Datos de DPPH con estándares y absorbancia.	53
Tabla 4 Resultados de absorbancia y concentración de antioxidantes de la muestra 03-20-25.	56
Tabla 5 Resultados de absorbancia y concentración de antioxidantes 03-20-22.	56
Tabla 6 Resultados de absorbancia y concentración de antioxidantes 03-20-07.	57
Tabla 7 Resultados de absorbancia y concentración de antioxidantes 03-20-28.	57
Tabla 8 Resultados de absorbancia y concentración de antioxidantes 03-20-21.	58
Tabla 9 Resultados de extracto acuoso de Isaño: 03-20-25.	60
Tabla 10 Resultados de extracto acuoso de Isaño: 03-20-22.	61
Tabla 11 Resultados de extracto acuoso de Isaño: 03-20-07.	61
Tabla 12 Resultados de extracto acuoso de Isaño: 03-20-28.	62
Tabla 13 Resultados de extracto acuoso de Isaño: 03-20-21.	62



ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Variedades de Isaño (<i>Tropaelum tuberosum</i>)	24
Figura 2 Radicales libres.	25
Figura 3 Antioxidante donando electrones al radical libre.	26
Figura 4 Componentes del espectrofotómetro.	26
Figura 5 Espectrofotómetro UV-Vis. UV2500 Techcomp.	28
Figura 6 Espectro electromagnético	29
Figura 7 Las pérdidas por reflexión y dispersión.	30
Figura 8 La radiación de la potencia radiante inicial P_0	34
Figura 9 Diagrama simplificado de energía mostrando absorción y emisión de fotones.	36
Figura 10 Transición vertical entre estados electrónicos.	37
Figura 11 Transición vertical entre estados electrónicos en un sistema cuántico.	39
Figura 12 Punto triple del agua.	42
Figura 13 Curva de calibración	54
Figura 14 Gráfico de barras del resumen del extracto alcohólico.	59
Figura 15 Gráfico de barras del resumen del extracto acuoso.	63



ACRÓNIMOS

ABTS:	2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico).
DPPH:	2,2-Difenil-1-picrilhidracilo.
DRX:	Difracción de Rayos X.
EtOH:	Etanol.
FTIR:	Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier.
GC-MS:	Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas.
HPLC-MS/MS:	Cromatografía Líquida de Alta Resolución acoplada a Espectrometría de Masas/Masas.
H ₂ O ₂ :	Peróxido de Hidrógeno.
MeOH:	Metanol.
PCA:	Análisis de Componentes Principales.
RPM:	Revoluciones por Minuto.
RSM:	Metodología de Superficie de Respuesta.
SD:	Desviación Estándar.
SPSS:	*Statistical Package for the Social Sciences*.
T. tuberosum:	Tropaeolum tuberosum.
UV-VIS:	Espectrofotometría Ultravioleta-Visible.



RESUMEN

En el Perú, los tubérculos andinos, como el isaño (*Tropaeolum tuberosum*), han demostrado tener un gran potencial como fuente de compuestos antioxidantes, aunque hasta ahora no han sido estudiados exhaustivamente, y menos desde una perspectiva de las ciencias físicas. El objetivo de esta tesis fue evaluar la capacidad antioxidante de cinco variedades de isaño utilizando la técnica de espectrofotometría ultravioleta-visible (UV-Vis), basada en principios físicos de termodinámica y mecánica cuántica. Para medir la actividad antioxidante, se empleó el ensayo de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), que es un compuesto químico formado por moléculas estables de radicales libres. Se realizaron extracciones tanto alcohólicas como acuosas de las diferentes accesiones de isaño, determinando así su capacidad antioxidante. Los resultados mostraron que los extractos acuosos de las diferentes variedades exhibieron hasta tres veces más capacidad antioxidante en comparación a los alcohólicos, lo que sugiere que los compuestos bioactivos en el isaño tienen una mayor afinidad por solventes polares. Asimismo, el isaño de color púrpura presentó un consumo específico de DPPH de $0.2843 \mu\text{Mol/mg}$ en el extracto alcohólico y de $0.900 \mu\text{Mol/mg}$ en el extracto acuoso, lo que evidencia su destacada capacidad antioxidante en comparación con los demás. (**aguirre**).

Palabras clave: Isaño, antioxidantes, espectrofotometría, extracto alcohólico, extracto acuoso.



ABSTRACT

In Peru, Andean tubers such as isaño (*Tropaeolum tuberosum*) have shown great potential as a source of antioxidant compounds, although they have not been studied exhaustively until now, much less from a physical science perspective. The objective of this thesis was to evaluate the antioxidant capacity of five varieties of isaño using the ultraviolet-visible (UV-Vis) spectrophotometry technique, based on physical principles of thermodynamics and quantum mechanics. To measure antioxidant activity, the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay was used, which is a chemical compound formed by stable free radical molecules. Both alcoholic and aqueous extractions of the different isaño accessions were performed, thus determining their antioxidant capacity. The results showed that the aqueous extracts of the different varieties exhibited up to three times more antioxidant capacity compared to the alcoholic ones, suggesting that the bioactive compounds in isaño have a greater affinity for polar solvents. Likewise, the purple isaño presented a specific consumption of DPPH of 0.2843 $\mu\text{Mol/mg}$ in the alcoholic extract and 0.900 $\mu\text{Mol/mg}$ in the aqueous extract, which shows its outstanding antioxidant capacity compared to the others.

Keywords: Isaño, antioxidants, spectrophotometry, alcoholic extract, aqueous extract.



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El isaño (*Tropaeolum tuberosum*) es un tubérculo andino presente en Perú, Bolivia, Colombia y Ecuador, reconocido por su riqueza en proteínas, carbohidratos y vitamina C, así como por sus cualidades medicinales y alta productividad (Arteaga-Cano et al., 2022). En Perú, se distinguen dos variedades: la domesticada ssp. *tuberosum* y la silvestre ssp. *Sparre* (Mamani et al., 2020). Investigaciones han demostrado que el isaño contiene compuestos fenólicos, antociánicos y carotenoides comparables a los del arándano en términos de antioxidantes (Celis, 2020). Se han identificado más de 100 cepas en Ecuador y Perú, con una diversidad cromática en los tubérculos, desde crema hasta púrpura (Yapias et al., 2022). Los tubérculos, ricos en carotenos y fibra, tienen propiedades inmunológicas y anticancerígenas debido a los isotiocianatos, aunque su sabor picante se reduce al cocinarlos (Palacios, 2019). *T. tuberosum* crece entre 1500-4200 msnm, es un cultivo anual que tolera bien el frío y pertenece a la familia Tropaeoláceae, destacándose por su diversidad cromática y formas cónicas (Rosmery et al., 2017). En la zona altoandina peruana, el isaño es el cuarto tubérculo más importante, aunque su demanda es limitada comparada con otros cultivos (Yapias et al., 2022). La conservación in vitro del isaño negro es crucial debido a sus propiedades nutricionales (López-Medina et al., 2020). El isaño púrpura tiene un mayor contenido de polifenoles y flavonoides con significativa actividad antioxidante (H. et al., 2021). La reducción en la diversidad genética se debe a cambios en patrones de alimentación y falta de apoyo técnico, por lo que es crucial desarrollar estrategias de conservación (Parra, 2017). En regiones frías, el isaño se usa tradicionalmente para tratar la inflamación de la próstata, siendo practicado en varias provincias de Puno, Perú (Mamani et al., 2020). Para evaluar su capacidad antioxidante, utilizamos la espectrofotometría UV-Vis, basada en la Ley de Beer-Lambert, además,



el estudio se apoya en el Principio de Franck-Condon para explicar las transiciones electrónicas que ocurren al absorber fotones, fundamentales para interpretar los resultados de los espectros de absorción. Finalmente, el proceso de liofilización es empleado para preservar los compuestos antioxidantes del isaño, evitando su degradación térmica y asegurando la precisión del análisis.

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El isaño (*Tropaeolum tuberosum*) es una planta con un enorme potencial medicinal aún por explorar. Sin embargo, existe un incipiente conocimiento en la identificación de las distintas variedades de esta planta (Arteaga-Cano et al., 2022). Esta falta de conocimiento ha resultado en un menor uso terapéutico por parte de los pobladores (Yapias et al., 2022) y una ausencia de información sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas de sus compuestos bioactivos. Además, se han registrado pocos trabajos que describen la capacidad antioxidante de las variedades de isaño, la identificación y cuantificación de sus compuestos bioactivos mediante técnicas físicas, como la espectrofotometría UV-Vis, necesarias para determinar la capacidad antioxidante y la concentración de flavonoides, antocianinas. Sin embargo, las escasas investigaciones realizadas fueron principalmente desde perspectivas de otras disciplinas científicas, como la biología, la química y las ingenierías relacionadas con las industrias alimentarias y agronómicas, no se han abordado suficientemente desde el campo de la física, a pesar de la gran importancia que tiene que ver con la espectrofotometría UV-Vis el cual será necesario su aplicación como herramienta principal para identificar y cuantificar los compuestos antioxidantes presentes en las distintas variedades de isaño.



1.1.1. Formulación del problema

¿Cómo puede la espectrofotometría UV-Vis ser utilizada para identificar y cuantificar los compuestos antioxidantes presentes en las variedades de isaño (*Tropaeolum tuberosum*)?

1.1.2. Problemas específicos

- ¿Cómo puede establecerse una curva de calibración del DPPH que permita la cuantificación precisa de la capacidad antioxidante en las variedades de isaño?
- ¿Cuál es la capacidad antioxidante de las diferentes variedades de isaño y cómo se puede caracterizar mediante espectroscopía UV-Vis?
- ¿Qué impacto tienen los métodos de extracción alcohólica y acuosa en la eficiencia de obtención de compuestos antioxidantes y cómo afectan a la solubilidad y concentración de los mismos?

1.2. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

1.2.1. Hipótesis general

La espectrofotometría UV-Vis puede ser utilizada eficazmente para identificar y cuantificar los compuestos antioxidantes presentes en las variedades de isaño (*Tropaeolum tuberosum*).

1.2.2. Hipótesis específicas

- La curva de calibración de DPPH permitirá cuantificar de la capacidad antioxidante en las muestras de isaño, facilitando la comparación entre las diferentes variedades.
- La capacidad antioxidante de las variedades de isaño puede caracterizarse eficazmente mediante espectroscopía UV-Vis, permitiendo identificar diferencias



en la actividad antioxidante entre las muestras.

- La eficiencia de los métodos de extracción depende de la polaridad del solvente utilizado, siendo el método acuoso más eficaz para extraer compuestos antioxidantes polares en comparación con el método alcohólico.

1.3. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Actualmente, existe un creciente interés en el uso de antioxidantes de origen natural para el tratamiento de diversas enfermedades, ya que se desea contrarrestar los compuestos sintetizados químicamente como fármacos entre otros; en este contexto, los tubérculos andinos podrían desempeñar un papel importante (Bayas-Chacha et al., 2022). El *Tropaeolum tuberosum*, conocido como Isaño en Perú y Bolivia, es valorado tanto por su utilidad alimentaria en diversas preparaciones culinarias como por sus aplicaciones en la medicina tradicional (Castañeta et al., 2024). ya que cuenta con un gran potencial terapéutico asociado a la prevención de enfermedades crónico-degenerativas (Jacobo-Velázquez et al., 2022), se ha demostrado la presencia de antioxidantes, su consumo promueve la síntesis de colágeno, protege el tejido conectivo, reduce la inflamación y fortalece la microcirculación ocular y capilar (Arteaga-Cano et al., 2022). Así mismo, los extractos de isaño han demostrado suprimir la proliferación de células de carcinoma de próstata humana DU145 y células de melanoma murino B16F10 de manera dependiente de la concentración (Gonzales & Torres, 2017). Se ha demostrado que el isaño es rica en carotenos (vitamina A), fortalece el sistema inmunológico, su sabor picante en crudo se debe a los isotiocianatos, con propiedades bactericidas y anticancerígenas (Palacios, 2019). Pese a este gran potencial, la investigación científica sobre el isaño sigue siendo limitada, especialmente en lo referente a la identificación precisa de sus compuestos antioxidantes. Esta investigación resulta fundamental no solo para aumentar el conocimiento sobre este tubérculo, sino también para revalorizar sus genotipos y sus



aplicaciones tanto en el campo de la salud como desde una perspectiva científica. En este trabajo, aplicaremos tanto la teoría como la experimentación espectrofotométrica para determinar la capacidad antioxidante, los flavonoides y antocianinas del isaño. Además, la comparación entre sus diferentes variedades nos permitirá identificar cuál de ellas tiene un mayor contenido de compuestos bioactivos. Este enfoque no se limitará al análisis bioquímico, sino que también se abordará desde un punto de vista físico, explorando conceptos como la absorción de fotones, la transición de electrones, los espectros electromagnéticos, los estados cuánticos de la materia, y las reglas de selección, basadas en principios como el de Franck-Condon. Estos estudios contribuirán no solo al ámbito de la bioquímica, sino también al de la física.

1.4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.4.1. Objetivo general

Caracterizar los compuestos antioxidantes en Variedades de Isaño (*Tropaeolum tuberosum*) a partir de la espectrofotometría UV-vis.

1.4.2. Objetivos específicos

- Realizar una curva de calibración de DPPH como referencia, para la cuantificación de la capacidad antioxidante de los compuestos presentes en las variedades de isaño.
- Caracterizar los compuestos antioxidantes presentes en las variedades de isaño utilizando espectroscopía UV-Vis, para determinar la capacidad antioxidante de cada muestra.
- Evaluar la eficiencia de los métodos de extracción alcohólica y acuosa en la obtención de compuestos antioxidantes, analizando su impacto en la solubilidad y concentración de los mismos.



CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES

2.1.1. Internacionales

La mashua (*Tropaeolum tuberosum*) muestra un alto potencial como antioxidante y antimicrobiano natural según (Bayas-Chacha et al., 2022). En el estudio, analizaron extractos de mashua blanca y amarilla obtenidos por Soxhlet y fluidos supercríticos (FSC). El extracto de mashua blanca por FSC destacó con la mayor actividad antioxidante (6596.10 $\mu\text{mol Trolox/g}$) y una fuerte inhibición antimicrobiana contra *Salmonella* (hasta 20 mm de halo). Se identificaron compuestos clave, como campesterol, β -sitosterol y α -tocoferol. Estos resultados respaldan su uso como aditivo natural en alimentos.

El isaño, tubérculo originario de los Andes y conocido por sus múltiples usos en Bolivia, es empleado tanto en la gastronomía como en la medicina tradicional. En el trabajo de (Castañeta et al., 2024) se analizó tres cultivares consumidos en Bolivia, determinando su composición proximal, capacidad antioxidante, contenido de fenoles y flavonoides totales, y cuantificando polifenoles principales. Los resultados destacan su valor nutricional, especialmente en proteínas, y su alto contenido de antioxidantes, flavonoides y antocianinas, con mayor concentración en el cultivar morado.

Los conocimientos ancestrales en medicina tradicional fueron fundamentales para combatir enfermedades en la ausencia de servicios médicos modernos. Sin embargo, hoy en día, estos saberes están siendo subestimados. En las comunidades altoandinas, la inflamación de la próstata se trataba con isaño, un tubérculo local. (Mamani et al., 2020). estudia, el enfoque cualitativo y método etnográfico, también sistematizó los saberes sobre



el uso del isaño cultivado y el silvestre (pajarillu) en el tratamiento de la prostatitis en provincias de Puno, Perú.

2.1.2. Nacionales

(Celis, 2020) En su trabajo, examinó cómo la temperatura y la velocidad de secado afectan la actividad antioxidante de la mashua (*T. tuberosum*) durante el proceso de secado en bandejas. Utilizaron isaño amarillo de la provincia de Luya, a 2311 msnm. Se diseñó un experimento factorial 3Ax3B con tres repeticiones, probando diferentes combinaciones de temperatura y velocidad del aire. Los resultados mostraron que tanto la temperatura como la velocidad de aire, así como su interacción, no tuvieron un impacto significativo en la captura de radicales libres, ya que los valores de F fueron superiores a 0.05. No obstante, se logró una captura de radicales libres superior al 50 %, lo que demuestra el alto potencial antioxidante de la mashua.

En el artículo de (Arteaga-Cano et al., 2022) menciona que la mashua (*Tropaeolum tuberosum*), es resistente, requiere pocos fertilizantes y es resistente a plagas y nemátodos. A pesar de su alto valor nutricional, su consumo ha disminuido, siendo principalmente consumido por personas mayores. El objetivo del estudio fue recopilar información sobre las características fisicoquímicas, la composición nutricional y los compuestos bioactivos en tres variedades de mashua: negro, morado y amarillo, los resultados muestran que la mashua negra es rica en proteínas, la amarilla en carbohidratos y la morada en fósforo. Además, la mashua morada y negra presentan características fisicoquímicas destacadas, actividad antioxidante y compuestos bioactivos, los cuales juegan un papel crucial en la prevención de enfermedades cancerígenas y otras enfermedades.

El isaño, tubérculo altoandino similar a la papa y la oca, destaca por su valor nutricional (carbohidratos, proteínas, vitaminas, fósforo, hierro y calcio). En

(Arteaga-Cano et al., 2022) investiga su capacidad antioxidante, especialmente en la variedad morada, describe que es rica en antocianinas. Es beneficiosa para la salud cardiovascular, mejora la visión, combate la anemia, previene cálculos renales y tiene propiedades anticancerígenas.

2.2. ISAÑO TROPAELUM TUBEROSUM

El isaño (*Tropaeolum tuberosum*) Fig. 1 es un tubérculo andino cultivado en tierras de América del Sur, requiere escasos fertilizantes y es resistente a nematodos y diversas plagas, constituye un alimento muy valorado en la dieta autóctona debido a su rica composición nutricional y su resistencia natural (Yapias et al., 2022). El isaño es un tubérculo andino cultivado en tierras elevadas de América del Sur, entre 3700 y 4000 metros sobre el nivel del mar. Es rica en proteínas, carbohidratos y vitamina C, y contiene glucosinolatos responsables de sus propiedades medicinales y antioxidantes. Se cultiva en pequeñas parcelas intercaladas y es resistente a plagas y nematodos, lo que la convierte en un alimento valioso en las dietas locales (Arteaga-Cano et al., 2022). En áreas altoandinas y frías, muchos pobladores rurales y urbanos sufren de inflamación de la próstata, afectando su calidad de vida diaria. En algunas comunidades campesinas del departamento de Puno en Perú, se utiliza el isaño cultivada y silvestre para tratar la prostatitis, atribuyéndole efectividad en la sanación. Las cinco accesiones de isaño con las que se trabajaron, están mostradas en el anexo 1.

Figura 1

Variedades de Isaño (Tropaelum tuberosum).



Nota: Fotografía propia.

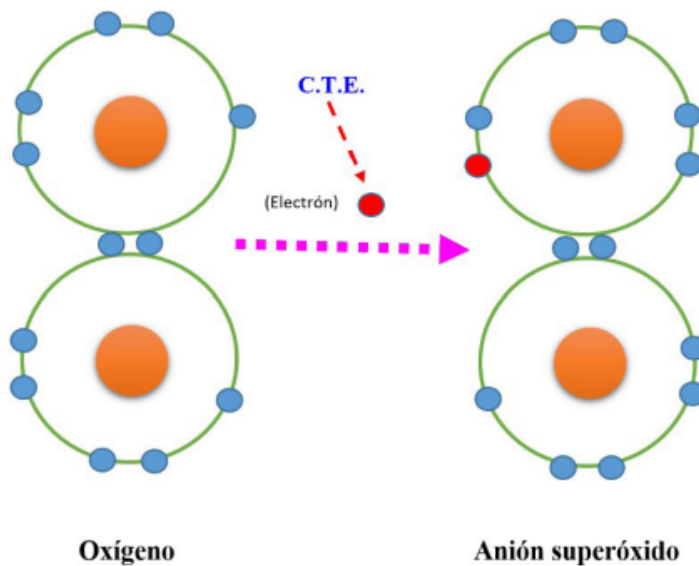
2.3. RADICALES LIBRES

Los radicales libres son especies químicas con electrones no apareados, lo que les confiere una alta reactividad que desencadena reacciones en cadena, afectando millones de moléculas y causando daño celular significativo (**Coronado**). Estas especies reactivas del oxígeno (ERO o ROS), generadas en la cadena transportadora de electrones mitocondrial por la cesión de electrones al oxígeno, transformándolo en anión superóxido, son promovidas por factores externos como contaminantes, radiaciones, consumo de tóxicos y estrés, y están asociadas a enfermedades crónicas y el envejecimiento (**Guija**).

Fig. 2.

Figura 2

Radicales libres



Nota: La molécula que vendría a quitar electrones, vendría a ser los radicales libres (**Guija**).

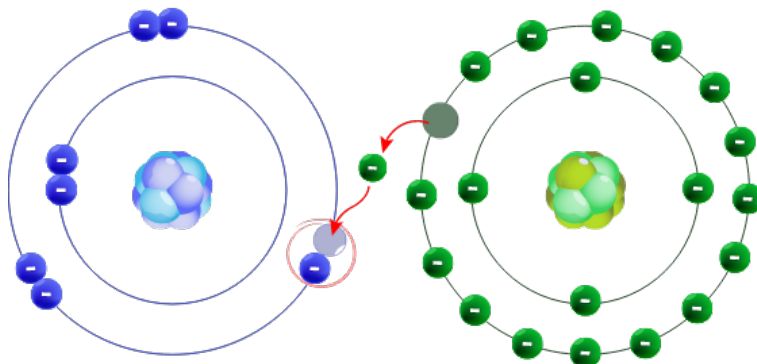
2.4. CAPACIDAD Y COMPUESTOS ANTIOXIDANTES

El cuerpo posee mecanismos de defensa contra los radicales libres, conocidos como antioxidantes, los cuales son capaces de neutralizarlos, las enzimas antioxidantes se producen en forma natural en el cuerpo humano (**Inja**). Los antioxidantes son moléculas que neutralizan los radicales libres, que son compuestos altamente reactivos con electrones no apareados, como ya mencionamos, los radicales libres pueden causar daño celular, afectando estructuras como membranas y ADN, los antioxidantes interrumpen esta reacción en cadena, previniendo el daño oxidativo en las células y reduciendo el riesgo de enfermedades relacionadas con el envejecimiento y el estrés oxidativo (**Coronado**).

Fig. 3.

Figura 3

Antioxidante (derecha) donando electrones al radical libre (izquierda)



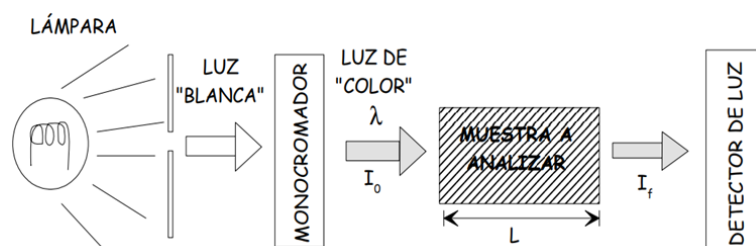
Nota: Representación de un antioxidante cediendo electrones al radical libre para estabilizarlo, basado en (Melaleuca2015).

2.5. FUNDAMENTOS DE ESPECTROFOTOMETRÍA

Los espectros de absorción se estudian utilizando un instrumento llamado espectrómetro (Fig 5). Este dispositivo consta de una fuente de luz "blanca" que emite luz en un amplio rango de longitudes de onda (en este caso, de 325 nm a 900 nm) y un monocromador que funciona como filtro óptico, permitiendo pasar un haz de luz de una longitud de onda específica λ con una intensidad I_0 constante. Este haz de luz pasa a través de una cubeta que contiene la muestra a analizar. Un detector sensible a la luz mide la intensidad del haz de salida, representada como I_f . Fig. 4.

Figura 4

Componentes del espectrofotómetro.



Nota: Representación de los componentes básicos de un espectrofotómetro, tomada de (Téllez).



2.5.1. Espectro electromagnético

El espectro electromagnético (EEM) parte del electromagnetismo que viene a ser fundamental para entender la espectrofotometría, está compuesto por un conjunto de ondas electromagnéticas que varían en longitud de onda, frecuencia y energía. Estas ondas, como la luz visible, los rayos X, las microondas y las ondas de radio, Fig. 6. Están presentes tanto en fuentes naturales como artificiales. Las ondas electromagnéticas están formadas por un campo eléctrico y uno magnético, los cuales oscilan perpendicularmente entre sí y a la dirección de propagación. Según su energía y frecuencia, las ondas electromagnéticas se clasifican en radiaciones ionizantes y no ionizantes, lo que determina su potencial para interactuar con la materia y generar efectos biológicos (**Maximo**).

Figura 5

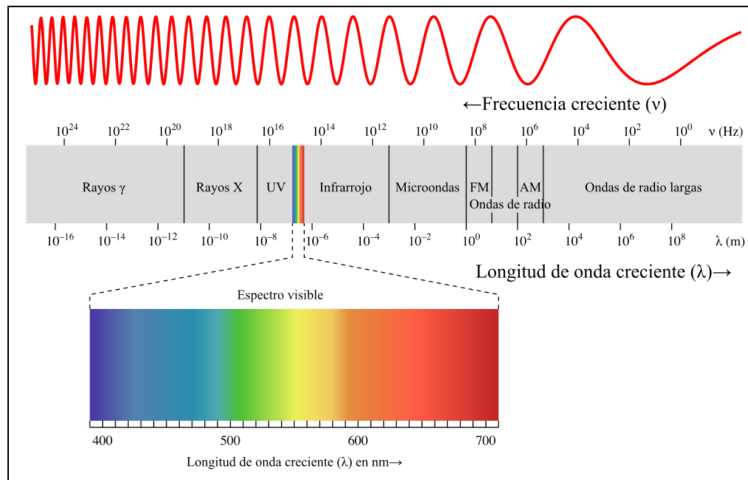
Espectrofotómetro UV-Vis. UV2500 Techcomp.



Nota: Espectrofotómetro utilizado en los análisis realizados en el laboratorio.

Figura 6

Espectro electromagnético. Imagen tomada de la ChemWiki de UC Davis (Universidad de California en Davis), CC-BY-NC-SA 3.0.



Nota: Representación del espectro electromagnético tomada de una fuente con licencia CC-BY-NC-SA 3.0.

2.5.2. Medición de la transmitancia y abosbancia

En espectrofotometría, medir la transmitancia y absorbancia directamente en el laboratorio es complicado debido a la reflexión de la luz en las interfases aire/pared del recipiente y pared/solución, lo que puede causar pérdidas significativas de luz, aproximadamente el 8.5% de un haz de luz amarilla puede perderse al pasar por un recipiente de vidrio lleno de agua, además, la atenuación del haz puede ocurrir por dispersión de moléculas grandes y absorción por las paredes del recipiente, para obtener medidas precisas, se compara la potencia del haz transmitido por la solución del analito con la de una celda idéntica que contiene solo solvente. Esto permite calcular la transmitancia y absorbancia experimentales que se aproximan a las verdaderas, corrigiendo los efectos distorsionadores (Skoog2008). (Fig. 7). Entonces, la transmitancia y absorbancia experimentales que se aproximan de manera notable a la transmitancia y absorbancia verdaderas se obtienen mediante las siguientes ecuaciones.

$$T = \frac{P_{\text{solución}}}{P_{\text{solvente}}} \approx \frac{P}{P_0} \quad (2.1)$$

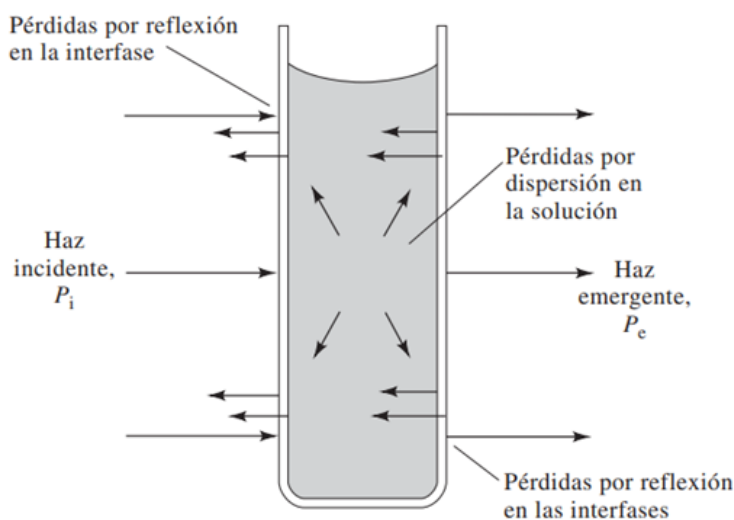
$$A = \log \left(\frac{P_{\text{solvente}}}{P_{\text{solución}}} \right) \approx \log \left(\frac{P_0}{P} \right) \quad (2.2)$$

Los términos P_0 y P , se refieren a la potencia de la radiación después de pasar a través de celdas o cubetas que contienen al solvente y a las soluciones del analito, respectivamente.

Representación de pérdidas por reflexión y dispersión en sistemas ópticos, basada en (Skoog2008)

Figura 7

Representación de pérdidas por reflexión y dispersión en sistemas ópticos, basada en (Skoog2008).



Nota: Las pérdidas por reflexión ocurren en cada interfase entre materiales distintos, mientras que las pérdidas por dispersión son causadas por moléculas grandes o imperfecciones en el vidrio.

2.5.3. Ley de Beer-Lambert

La ley de Beer describe cómo un material absorbente afecta un haz de radiación monocromática (luz de una sola longitud de onda), el cual, teniéndose un bloque de material absorbente, ya sea sólido, líquido o gas, sobre el cual incide perpendicularmente un haz de radiación monocromática con una potencia inicial P_0 . A medida que el haz



atraviesa una longitud b del material, su potencia disminuye a P debido a la absorción. Considera una pequeña sección transversal del bloque con un área S y un espesor infinitesimal dx , la cual contiene dn partículas absorbentes. Cada partícula tiene una "superficie de captura", asociada a la cual puede atrapar fotones, y la suma de estas superficies de captura dentro de la sección se denomina dS . La relación entre dS y el área total S es proporcional a la densidad de partículas absorbentes en esa sección. La potencia del haz que entra en la sección, P_x , disminuye debido a la absorción de los fotones, donde dP_x representa la potencia absorbida en la sección. La fracción de potencia absorbida, dP_x/P_x , es igual a la probabilidad media de captura, con un signo negativo indicando que la potencia P disminuye al atravesar el material Fig. 8. La ley de Beer se expresa mediante una ecuación diferencial:

$$-\frac{dP}{P_x} = \frac{dS}{S} \quad (2.3)$$

Recuerde ahora que dS es el área de captura de las partículas que están dentro de la sección; por tanto, tiene que ser proporcional al número de partículas, es decir:

$$dS = a dn \quad (2.4)$$

Donde dn es el número de partículas y a es una constante de proporcionalidad que puede llamarse sección transversal de captura. Al combinar las ecuaciones 2.3 y 2.4 e integrando en un intervalo comprendido entre 0 y n se obtiene:

$$-\int_{P_0}^P \frac{dP_x}{P_x} = \int_0^n \frac{a dn}{S} \quad (2.5)$$



De aquí:

$$-\ln \frac{P}{P_0} = \frac{an}{S}$$

Queremos eliminar el signo, y por propiedades de logartimos se tiene.

$$\ln(x) = 2.303 \log(x) \quad (2.6)$$

Aplicamos esta propiedad, y luego nos queda.

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{an}{2.303S} \quad (2.7)$$

Donde n es el número total de partículas que hay en el bloque. El área de la sección transversal S puede expresarse como el cociente del volumen del bloque V en centímetros cúbicos entre su longitud b en centímetros. Entonces:

$$S = \frac{V}{b} \text{cm}^2$$

Al sustituir esta cantidad en la ecuación 2.6 se tiene:

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{an}{2.303V} \quad (2.8)$$

Observe que como n/V es el número de partículas por centímetro cúbico, que es una unidad de concentración. Entonces es posible convertir n/V en moles por litro porque la cantidad de moles es:



$$N_{\text{merodemoles}} = \frac{n_{\text{partculas}}}{(6.02 \times 10^{23} \text{partculas/mol})}$$

y c en moles por litro está definido por

$$c = \frac{n}{6.02 \times 10^{23} \text{ mol}} \times \frac{1000 \text{ cm}^3/\text{L}}{V \text{ cm}^3}$$

$$= 1000n / (6.02 \times 10^{23} V) \text{ mol/L}$$

Al combinar esta relación con la ecuación 2.7 se obtiene

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{6.02 \times 10^{23} V}{2.303 \times 1000} \quad (2.9)$$

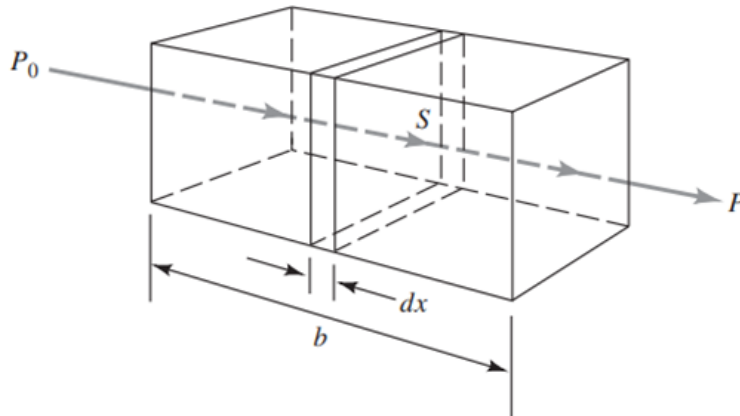
Por último, las constantes de esta ecuación se pueden agrupar en un único término ϵ con lo que se tiene

$$\log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc = A \quad (2.10)$$

Donde ϵ es el coeficiente de absorción molar, b es la longitud del recorrido óptico (o longitud de la celda) que atraviesa la luz en la muestra, c es la concentración de la sustancia en la muestra, y A es la absorbancia, que mide la cantidad de luz absorbida por la muestra.

Figura 8

La radiación de la potencia radiante inicial P_0 es atenuada y se transforma en energía transmitida P .



Nota: Ilustración del proceso de atenuación de la potencia radiante inicial (P_0) hacia la energía transmitida (P).

2.6. ABSORCIÓN DE FOTONES

Las moléculas tienen la capacidad de captar energía lumínica y almacenarla como energía interna. Este proceso es fundamental para iniciar ciclos vitales en muchos organismos, incluyendo la fotosíntesis en plantas y bacterias (**Perez**). Según la mecánica cuántica, la luz está compuesta por fotones, cada uno con una energía específica.

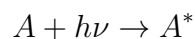
$$E_{\text{fotón}} = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad (2.11)$$

Donde c es la velocidad de la luz, ν es su frecuencia, λ longitud de onda y h la constante de Planck. Cuando mencionamos que una sustancia química absorbe luz de una longitud de onda λ , esto indica que las moléculas de esa sustancia capturan fotones con esa longitud de onda específica (**Eisberg**). Las ondas electromagnéticas tienen energía cuantizada y se emiten o absorben en paquetes de energía, cuya energía es proporcional a la frecuencia de la radiación. La energía interna de los átomos también está cuantizada en

niveles discretos, los átomos y moléculas ganan o pierden energía mediante la absorción o emisión de fotones. Para que un átomo realice una transición entre niveles de energía, debe absorber un fotón cuya energía sea igual a la diferencia entre el nivel inicial y el nivel final más alto, o emitir un fotón con una energía igual a la diferencia entre el nivel inicial y un nivel más bajo. Si E_i es la energía inicial del átomo antes de la transición y E_f es su energía después de la transición, la energía del fotón absorbido o emitido se expresa como $h\nu$. Fig. 9. La ecuación de la energía sería:

$$h\nu = \frac{hc}{\lambda} = |E_f - E_i| \quad (2.12)$$

Esta ecuación asegura que la energía del fotón absorbido o emitido sea siempre positiva, representando la diferencia de energía entre los niveles inicial y final. En este proyecto, investigaremos la absorción de luz en el rango del ultravioleta cercano ($\lambda \approx 325 - 420nm$) y en el rango visible ($\lambda \approx 420 - 900nm$). Cuando una molécula absorbe un fotón dentro de este intervalo de longitud de onda, un electrón se excita al pasar de un orbital en su estado fundamental a un orbital excitado de mayor energía. De esta manera, la molécula adquiere y almacena la energía del fotón absorbido (**Téllez**).



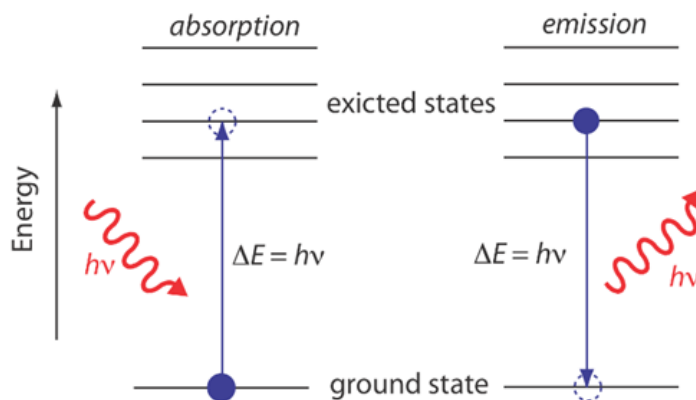
$$E(A^*) = E(A) + E_{\text{fotón}} \quad (2.13)$$

Donde $E(A^*)$ es la energía del átomo o molécula en su estado excitado después de absorber el fotón. $E(A)$ es la energía del átomo o molécula en su estado fundamental

(antes de la absorción del fotón). $E_{\text{fotón}}$ Es la energía del fotón que ha sido absorbido.

Figura 9

Un diagrama simplificado de energía que muestra la absorción y emisión de un fotón por un átomo o una molécula.



Nota: Representación de un proceso básico de absorción y emisión de fotones en sistemas atómicos o moleculares, basada en (DavidH).

2.7. TRANSICIONES ELECTRÓNICAS

2.7.1. TRANSICIONES VIBRÓNICASs

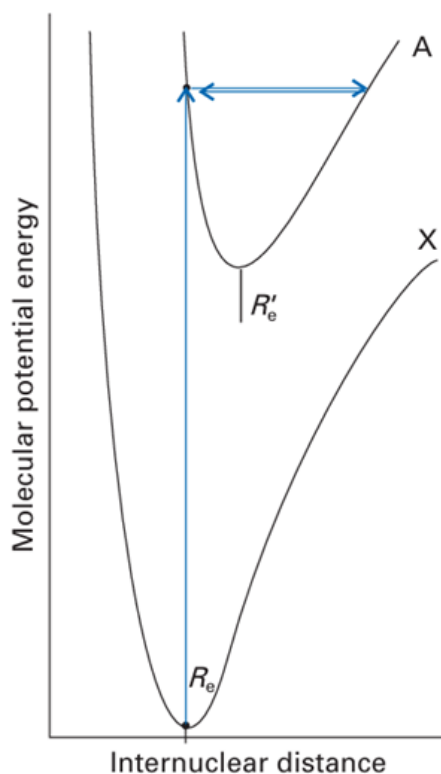
Cada vez que se produce una transición electrónica en una molécula, los núcleos están sujetos a un cambio en la fuerza coulombiana, como resultado de la redistribución de la carga electrónica. En otras palabras, la superficie de energía potencial molecular, que gobierna el movimiento nuclear, cambia a medida que cambia el estado electrónico durante la transición. Como resultado, los núcleos responden rompiendo en una vibración más vigorosa y el espectro de absorción muestra una estructura característica de los niveles de energía vibratoria de la molécula. Las transiciones electrónicas y vibratorias simultáneas se conocen como transiciones vibrónicas (Atkins2011).

Las ubicaciones nucleares permanecen inalteradas durante la transición electrónica y se reajustan una vez que los electrones han adoptado su distribución final. Esto se ilustra con dos curvas de energía potencial molecular, donde la curva superior se desplaza

hacia la derecha debido al carácter antienlazante introducido por la excitación electrónica, aumentando la longitud del enlace de equilibrio y diferenciando las constantes de fuerza (Fig. 10). La transición clásica ocurre cuando la separación internuclear es igual a la longitud del enlace de equilibrio del estado electrónico inferior, con núcleos estacionarios. Termina en la intersección de la curva superior, donde la molécula excitada empieza a vibrar a una energía correspondiente a este punto de inflexión. Esta transición se denomina vertical.

Figura 10

Transición vertical entre estados electrónicos. Principio de Franck Condon clásico.



Nota: Esquema que ilustra una transición vertical entre el estado fundamental (X) y el estado excitado (A), la molécula realiza una transición vertical que termina en el punto de inflexión del estado excitado. X representa el estado fundamental y A el estado excitado. Durante la transición, los núcleos permanecen en su posición debido a la rapidez del cambio electrónico basado en (Atkins2011).

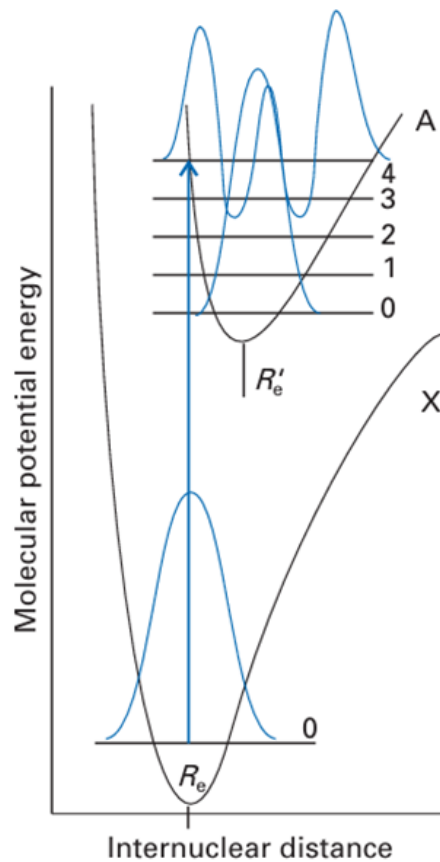


2.7.2. PRINCIPIO DE FRANCK CONDON CUÁNTICO

El principio de Franck-Condon fue formulado por el físico estadounidense James Franck y el físico suizo Edward Condon en el año 1925. La descripción mecánica cuántica del proceso se hace eco de la descripción clásica (Fig. 10). Cualitativamente, la transición se produce desde el estado vibratorio fundamental del estado electrónico inferior al estado vibratorio al que más se asemeja en el estado electrónico superior. De esta manera, la función de onda vibracional sufre el menor cambio, lo que corresponde a la preservación del estado dinámico de los núcleos como lo requiere el principio de Franck-Condon. El estado vibracional con una función de onda que más se asemeja al gaussiano original en forma de campana del estado fundamental vibratorio es uno con un pico inmediatamente por encima del estado fundamental, es decir, una función de onda con gran amplitud en R_e . Como se puede ver en la ilustración, esta función de onda corresponde a un nivel de energía que se encuentra en la misma posición que en la transición vertical de la descripción clásica (Atkins2011). Fig. 11.

Figura 11

Transición vertical entre estados electrónicos en un sistema cuántico.



Nota: La molécula realiza una transición vertical que termina en el punto de inflexión del estado excitado. X representa el estado fundamental y A el estado excitado. Durante la transición, los núcleos permanecen en su posición debido a la rapidez del cambio electrónico, basado en (Atkins2011).

La justificación de la descripción de la mecánica cuántica se basa en la evaluación del momento de transición del dipolo eléctrico entre el estado vibrónico fundamental $|\varepsilon\nu\rangle$ y el estado vibrónico superior $|\varepsilon'\nu'\rangle$. En una molécula, el operador del momento dipolar eléctrico depende de las ubicaciones y cargas de los electrones, r_i y $-e$, y de las ubicaciones y cargas de los núcleos, que denotamos R_S y $Z_S e$ respectivamente:

$$\mu = -e \sum_i r_i + e \sum_s Z_S R_S = \mu_e + \mu_N \quad (2.14)$$

Dentro de la aproximación de Born-Oppenheimer, el estado vibrónico $|\varepsilon\nu\rangle$

se describe mediante la función de onda $\psi_\varepsilon(r; R)\psi_\nu(R)$, donde r y R denotan, respectivamente, las coordenadas electrónicas y nuclear respectivamente.

$$\langle \varepsilon' \nu' | \mu | \varepsilon \nu \rangle = \int \psi_{\varepsilon'}^*(r; R) \psi_{\nu'}^*(R) (\mu_e + \mu_N) \psi_\varepsilon(r; R) \psi_\nu(R) d\tau_e d\tau_N \quad (2.15)$$

$$= \int \psi_{\nu'}^*(R) \left\{ \int \psi_{\varepsilon'}^*(r; R) \mu_e \psi_\varepsilon(r; R) d\tau_e \right\} \psi_\nu(R) d\tau_N$$

$$+ \int \psi_{\nu'}^*(R) \mu_N \left\{ \int \psi_{\varepsilon'}^*(r; R) \psi_\varepsilon(r; R) d\tau_e \right\} \psi_\nu(R) d\tau_N$$

La integral sobre las coordenadas electrónicas es cero debido a la ortogonalidad de los estados electrónicos para cada valor de R . La integral restante representa el momento dipolar eléctrico de la transición cuando los núcleos tienen coordenadas R . En una primera aproximación, este momento de transición se considera independiente de la ubicación de los núcleos, permitiendo que la integral se aproxime por una constante $\mu'_{\varepsilon' \varepsilon}$. Por lo tanto, el momento de transición del dipolo eléctrico general es constante.

$$\langle \varepsilon' \nu' | \mu | \varepsilon \nu \rangle = \mu'_{\varepsilon' \varepsilon} \int \psi_{\varepsilon'}^*(R) \psi_\nu(R) d\tau_N = \mu'_{\varepsilon' \varepsilon} S(\nu', \nu) \quad (2.16)$$

Donde:

$$S(\nu', \nu) = \int \psi_{\nu'}^*(R) \psi_\nu(R) d\tau_N$$

Es la integral de superposición entre los dos estados vibratorios en sus respectivos estados



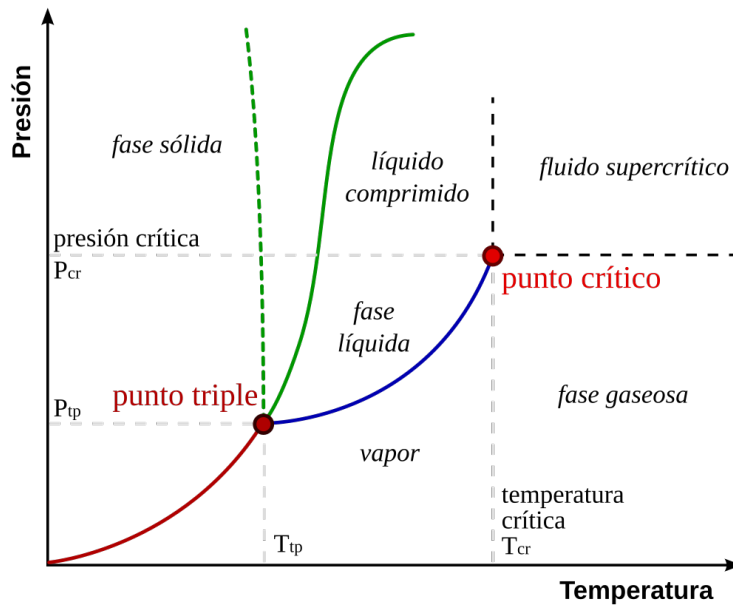
electrónicos. Esta es la versión cuantitativa de la discusión cualitativa anterior, donde se buscaba el estado vibratorio superior con una región local en forma de campana por encima de la función gaussiana del estado vibratorio fundamental del estado electrónico inferior. Los valores significativos de la integral de superposición $S(\nu', \nu)$ se encuentran generalmente en una progresión de estados vibracionales ν' , en lugar de en un solo valor de ν' , lo que implica que las transiciones ocurren con probabilidades variables para todos ellos. Así, se observa una progresión de transiciones vibratorias en el espectro electrónico. Las intensidades relativas de las líneas son proporcionales al cuadrado de los momentos de transición del dipolo eléctrico y, por lo tanto, a los factores de Franck-Condon, $|S(\nu', \nu)|^2$ (Atkins2011).

2.8. PRINCIPIOS DE LIOFILIZACIÓN

El proceso de liofilización es el procedimiento de deshidratación más confiable en la conservación de las características sensoriales y nutricionales de un producto alimenticio, gracias al uso de bajas temperaturas y condiciones especiales de vacío (Surco). La liofilización es un proceso de deshidratación que ocurre mediante la sublimación del agua, es decir, el paso del estado sólido al gaseoso sin pasar por el estado líquido (Fig. 12). Los principios físicos que intervienen se basan en las propiedades del agua y las transiciones entre sus fases (1981).

Figura 12

Punto triple del agua.



Nota: Diagrama que representa el punto triple del agua, donde coexisten en equilibrio las fases sólida, líquida y gaseosa, basado en (cengel).

El proceso ocurre en tres etapas; congelación, sublimación, y desorción. En la sublimación el producto se sublima hasta un contenido en agua del 15 % (sobre peso húmedo), para luego producirse la desorción (deshidratación evaporativa) donde el contenido se reduce hasta el 2 % (sobre peso húmedo) (Ana1).

2.8.1. Ecuaciones representativas

2.8.1.1. Ecuación de Clausius-Clapeyron

Relaciona la presión de vapor con la temperatura en un cambio de fase:

$$\frac{dP}{dT} = \frac{L(T)}{T(V_1 - V_2)} \quad (2.17)$$

2.8.1.2. Ecuación de Presión de Vapor

Para evaporación

$$P_s = P_0 \exp\left(-\frac{L_e}{RT}\right) \quad (2.18)$$

Donde P_s , es la presión de vapor, L_e el calor latente de evaporación R la constante de los gases y T la temperatura.

2.8.1.3. Ecuación de transferencia de calor por conducción

En la liofilización, el calor se transfiere mayormente por conducción y radiación

$$j_q = -K \frac{dT}{dx} \quad (2.19)$$

Donde K es la conductividad térmica y dT/dx es el gradiente de temperatura. La ecuación de transferencia de calor por radiación sigue la Ley de Stefan-Boltzmann:

$$q = \sigma T^4 \quad (2.20)$$

Donde σ es la constante de Stefan-Boltzmann y T es la temperatura absoluta de la superficie.

2.8.1.4. Vacío en Liofilización

El proceso requiere condiciones de alto vacío para facilitar la sublimación, la ley de los gases ideales se utiliza para describir el comportamiento del gas residual.



$$pV = nRT \quad (2.21)$$

En este contexto, las presiones más bajas corresponden a mejores condiciones de liofilización, ya que permiten un aumento del camino libre medio de las moléculas (**Ana1**).

En términos resumidos, la liofilización es un proceso de deshidratación que se utiliza para conservar productos sensibles a la temperatura. Consiste en congelar el producto y luego eliminar el agua mediante sublimación (paso directo del estado sólido al gaseoso) bajo condiciones de vacío.



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron cinco accesiones de isaño (*Tropaelum Tuberosum*) provenientes de la región Puno, los que fueron proporcionados por el Centro Experimental Camacani (3844msnm), de la Universidad Nacional del Altiplano. Los códigos de las accesiones de isaño que fueron evaluados son los siguientes:

Tabla 1

Accesiones enumeradas por código, las fotografías se muestran en anexos.

Número	Código
1	03-20-25
2	03-20-22
3	03-20-07
4	03-20-28
5	03-20-21

Nota: Elaboración propia.

3.1. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

3.1.1. Equipos de laboratorio

- Balanza analítica (precisión 0,0001 g) OHAUS modelo Pioneer.
- Equipo para la purificación de agua MilliQ Millipore Simplicity UV
- Centrifugadora Universal 320R
- Espectrofotómetro Techcomp modelo UV2500.
- Refrigeradoras LG.
- Sonicador Qsonica.



- Analog Vortex Mixer VWR Model 10153-838.

3.1.2. Reactivos

- Éter de petróleo – Grado analítico, Sigma-Aldrich.
- DPPH (2,2-difenil-picrilhidracilo) a 0.1mM.
- Alcohol absoluto (etanol, CH₃CH₂OH) – 99.9 % pureza, Merck.
- Agua destilada – Grado analítico, para la preparación de soluciones y diluciones.
- Agua Milli-Q – Agua ultrapura, para ensayos sensibles y preparación de reactivos.

3.1.3. Materiales de vidrio y otros

- Baguetas.
- Bureta 50 ml.
- Fiolas de 25 ml.
- Frascos ámbar de 100 ml.
- Pipetas de 1, 2, 10 ml.
- Probetas de 25 ml.
- Tubos de ensayo de 5 y 15 ml.
- Vasos de precipitado de 10, 50, 100, 250 y 500 ml.
- Cuchillos.
- Cronómetro.
- Espátulas.
- Ependorf de 1.5 ml.
- Gradillas.
- Jeringas de 1 ml.
- Micropipetas de 5-50, 20-200, 100-1000 μ L.
- Papel Whatman No. 1.



- Microtubos de centrifugación 0.5 ml, 1.5 ml y 2 ml.
- Cucharilla.
- Tubos falcon de 15 ml y 50 ml.
- Micropipetas de 2 μ L hasta 1000 μ L.

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Recolección y preparación de la muestra

Las muestras de distintas variedades de isaño (*Tropaeolum tuberosum*) fueron colectadas en la región de Puno, específicamente en el Centro Experimental Camacani de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno, durante la estación seca entre los meses de julio y agosto. Estas condiciones se eligieron para asegurar la homogeneidad y calidad de las muestras recolectadas, ya que el clima seco minimiza la presencia de humedad, que podría afectar la composición bioactiva de los tubérculos (**Mejía**). Los tubérculos seleccionados se encontraban en estado saludable, de tamaño similar y sin signos de deterioro, lo cual es fundamental para garantizar la consistencia de los resultados (**Rufino**). Inmediatamente después de la recolección, las muestras fueron transportadas en condiciones de refrigeración al Laboratorio de Física Médica de la Universidad Nacional de San Agustín, Arequipa, en contenedores adecuados para mantener la cadena de frío, con el fin de evitar la degradación de compuestos sensibles a la temperatura. Las muestras fueron trituradas en presencia de nitrógeno líquido, un método empleado para preservar la integridad de los compuestos bioactivos durante la molienda, y posteriormente liofilizadas para evitar la pérdida de antioxidantes volátiles (**Barbosa**). Luego, las muestras fueron almacenadas en tubos Falcon estériles a -20°C hasta su análisis, siguiendo recomendaciones de almacenamiento para conservar la estabilidad de los antioxidantes (**Mejía**).



3.2.2. Obtención de las muestras alcohólicas

Para la extracción alcohólica de los compuestos antioxidantes, se pesaron aproximadamente 3g de muestra triturada y liofilizada. Este material fue mezclado con 15 ml de éter de petróleo en un vaso precipitado, siguiendo el protocolo de (**Mejía**), que recomienda el uso de éter de petróleo para eliminar lípidos y otros compuestos no polares que podrían interferir en la extracción de antioxidantes. La mezcla fue sometida a sonicación durante 10 minutos en un agitador ultrasónico (QSONICA, EE. UU.) para asegurar una mezcla homogénea y maximizar el contacto entre el solvente y la muestra. Después de la sonicación, la solución se filtró utilizando papel filtro de pase rápido, y el éter de petróleo fue eliminado mediante volatilización durante al menos 12 horas. Posteriormente, las muestras obtenidas fueron extraídas con alcohol absoluto en una proporción de 5g de material vegetal por 25ml de etanol, alcanzando una concentración final del 20 %. El extracto final se almacenó en refrigeración a -20°C para conservar la estabilidad de los compuestos bioactivos (**Rufino**).

3.2.3. Obtención de las muestras acuosas

Para la extracción acuosa, se utilizó aproximadamente 1g de muestra triturada y liofilizada, mezclada con 5ml de agua destilada en un tubo Falcon, siguiendo el método descrito por (**Mejía**) con modificaciones. La mezcla fue sometida a agitación en vortex durante dos días para asegurar la liberación completa de los compuestos bioactivos en el solvente polar. Posteriormente, la muestra fue centrifugada a 6°C para separar los sólidos. La fase acuosa resultante fue extraída y transferida a otro tubo Falcon, y el tubo inicial fue rellenado nuevamente con agua destilada hasta 5ml, sometiéndolo a una segunda agitación y centrifugación en las mismas condiciones para maximizar la recuperación de antioxidantes. La fase acuosa de esta segunda extracción fue almacenada a -20°C hasta su



análisis, en línea con las recomendaciones de conservación para extractos acuosos ricos en antioxidantes (**Rufino**).

3.2.4. Determinación de la capacidad

Para evaluar la capacidad antioxidante de los extractos, se empleó el método de captura de radicales libres DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo), de acuerdo con la metodología descrita por Rufino et al. (2007), con ciertas modificaciones. Se preparó una solución DPPH a 0.1mM, ajustando su absorbancia a 1 unidad de absorbancia (UA) con etanol (99 %) para el caso de los extractos alcohólicos y con agua destilada para los acuosos. Para la preparación de la solución de trabajo, se pesó 1mg de DPPH en una balanza analítica y se diluyó hasta 25ml en etanol en una fiola ámbar para proteger la solución de la luz, manteniéndola en refrigeración para evitar su degradación. La curva de calibración fue preparada a partir de una solución madre de DPPH, realizando diluciones a concentraciones de 5, 15, 30, 60, 80 y 100 μMol . Para el ensayo, se mezclaron 100 μL del extracto con 2.5 mL de solución de DPPH y se dejó reaccionar durante 30 minutos en oscuridad. Tras el tiempo de reacción, la absorbancia fue medida a 515nm en un espectrofotómetro Techvomp UV2500. Etanol (99 %) fue utilizado como blanco para calibrar el espectrofotómetro antes de cada medición, garantizando así la precisión y reproducibilidad del análisis (Rufino et al., 2007).

3.3. CÁLCULO DE LOS PARÁMETROS DEL CONSUMO ESPECÍFICO DE DPPH

A continuación, se describen los pasos y ecuaciones utilizados para calcular cada uno de los valores de la tabla, referentes al consumo específico de DPPH en cada muestra de isaño.

a. **Absorbancia a 515 nm (Muestra + DPPH):** Este valor, representado



como $Abs_{\text{Muestra} + \text{DPPH}}$, es un *dato experimental* obtenido directamente del espectrofotómetro para cada muestra de isañ.

- b. **Concentración de DPPH (μMol):** La concentración de DPPH consumido, $Conc_{\text{DPPH}}$, se calcula usando la ecuación de la curva de calibración:

$$Conc_{\text{DPPH}} = \frac{Abs_{\text{Muestra} + \text{DPPH}} + b}{m} \quad (3.1)$$

donde:

- b es el *intercepto* de la curva de calibración.
- m es la *pendiente* de la curva de calibración.

- c. **Abs(DPPH) - Abs(Muestra + DPPH):** La disminución de absorbancia, ΔA , se obtiene como:

$$\Delta A = Abs_{\text{DPPH}} - Abs_{\text{Muestra} + \text{DPPH}} \quad (3.2)$$

donde Abs_{DPPH} es el promedio de la absorbancia inicial del DPPH.

- d. **Concentración de Antioxidante (%):** La concentración de antioxidantes en la muestra, $Conc_{\text{Antiox}}$, se calcula como:

$$Conc_{\text{Antiox}} (\%) = \frac{\Delta A}{Abs_{\text{DPPH}}} \times 100 \quad (3.3)$$

- e. **Gramos de la alícuota (masa):** Este valor, denotado como $m_{\text{alícuota}}$, es un *dato experimental* que representa la masa en gramos de la muestra de isañ utilizada en el análisis.

- f. **Consumo Específico de DPPH (A/mg de muestra):** El consumo específico de DPPH en términos de absorbancia, $C_{\text{esp}}^{A/\text{mg}}$, se calcula como:

$$C_{\text{esp}}^{A/\text{mg}} = \frac{\Delta A}{m_{\text{alícuota}}} \quad (3.4)$$



- g. **Consumo Específico de DPPH ($\mu\text{Mol/mg}$ de muestra):** El consumo específico de DPPH en términos de concentración, $C_{\text{esp}}^{\mu\text{Mol/mg}}$, se determina mediante:

$$C_{\text{esp}}^{\mu\text{Mol/mg}} = \frac{\overline{\text{Conc}_{\text{DPPH}}} - \text{Conc}_{\text{DPPH},i}}{m_{\text{alícuota}}} \quad (3.5)$$

donde:

- $\overline{\text{Conc}_{\text{DPPH}}}$ es el valor promedio de la concentración inicial de DPPH.
- $\text{Conc}_{\text{DPPH},i}$ es la concentración de DPPH de cada punto específico de la muestra.

Con estas ecuaciones calcularemos los valores de la tabla y cuantificar el consumo específico de DPPH para cada muestra de isaño analizada.



CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del análisis espectrofotométrico de las cinco accesiones de isaño sobre el consumo específico de DPPH fueron divididas en dos partes; primero las evaluaciones con el extracto alcohólico, y segundo con el extracto acuoso. La intensidad de la evaluación con con dichos extractos es porque cada tipo de solvente extrae diferentes compuestos bioactivos según su polaridad. Los extractos acuosos suelen extraer compuestos polares, mientras que los alcohólicos apolares, para saber la cantidad cuantitativa de antioxidantes de cada muestra, se interpolan en los valores de la curva de calibración.

4.1. CURVA DE CALIBRACIÓN

La curva de calibración como estándar, para la correcta cuantificación de los compuestos antioxidantes, permite establecer una relación lineal entre la concentración de DPPH y la absorbancia medida a 515 nm, para construir esta curva, se prepararon soluciones estándar de DPPH en diferentes concentraciones de (5, 15, 30, 60, 80 y 100 μMol), abarcando un rango amplio de concentraciones con el fin de asegurar una adecuada linealidad en la respuesta del espectrofotómetro.

Estas concentraciones fueron seleccionadas estratégicamente para abarcar un espectro en el que la absorbancia y la concentración de DPPH mantuvieran una relación lineal, facilitando la posterior interpolación de los valores de absorbancia obtenidos de los extractos de isaño y permitiendo así determinar su capacidad antioxidante relativa. En la Tabla 4.1 se muestran los valores obtenidos de absorbancia para cada concentración de DPPH, al medir la absorbancia de cada concentración de DPPH, se generó una ecuación

lineal que proporciona una referencia cuantitativa confiable. $y = -0.0872x + 0.0138$ con un coeficiente de determinación $r^2 = 0.9923$, lo que indica una alta correlación entre la concentración de DPPH y la absorbancia medida.

En la Figura 13, muestra visualmente la correspondencia lineal entre las concentraciones de DPPH y sus respectivos valores de absorbancia. Esta curva es esencial para los análisis posteriores, ya que permitirá evaluar la capacidad de captación de radicales libres de los extractos de isaño.

Tabla 2

Acciones enumeradas por código, las fotografías se muestran en anexos.

Nro.	DPPH (mL)	Abs. (mL)	DPPH+ ETOH(mL)	X: DPPH Mol	Y: Absorb. (u.a.)
1	0.13	2.47	2.6	5	0.186
2	0.39	2.21	2.6	15	0.329
3	0.78	1.82	2.6	30	0.529
4	1.56	1.04	2.6	60	0.932
5	2.08	0.52	2.6	80	1.224
6	2.6	0	2.6	100	1.425
Total	7.54	10.66	18		

Nota: Elaboración propia.

Tabla 3.

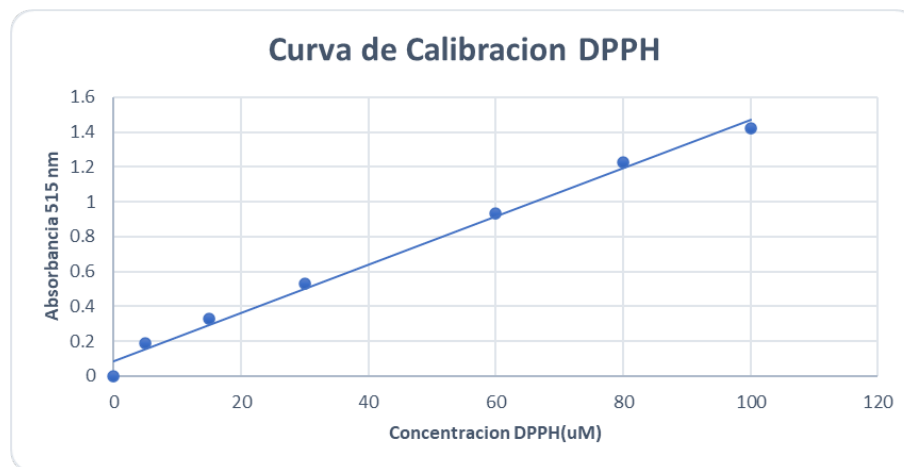
Datos de DPPH con estándares y absorbancia.

Nro.	DPPH (mL)	Abs. (mL)	DPPH + EtOH (mL)	X: DPPH (μ Mol)	Y: Absorb. (u.a.)
Blanco	0	2.6	2.6	0	0
1	0.13	2.47	2.6	5	0.186
2	0.39	2.21	2.6	15	0.329
3	0.78	1.82	2.6	30	0.529
4	1.56	1.04	2.6	60	0.932
5	2.08	0.52	2.6	80	1.224
6	2.6	0	2.6	100	1.425
Total	7.54	10.66	18		

Nota: Los datos representan la absorbancia de diferentes concentraciones de DPPH en soluciones estándar, elaborado de manera propia.

Figura 13

Curva de calibración.



Nota: Representación gráfica de la curva de calibración utilizada en el análisis de los datos experimentales.

4.2. EJEMPLO DE CÁLCULO DEL CONSUMO ESPECÍFICO DE DPPH PARA LA PRIMERA MUESTRA

Para el cálculo del consumo específico de DPPH en la primera muestra, empleamos los parámetros de la curva de calibración, así como los valores de absorbancia y concentración obtenidos experimentalmente.

- a. **Concentración de DPPH (μMol):** Utilizando la absorbancia de la mezcla muestra + DPPH ($\text{Abs}_{\text{Muestra} + \text{DPPH}} = 0.859$), aplicamos la ecuación de la curva de calibración:

$$\text{CONC}_{\text{DPPH}} = \frac{\text{Abs}_{\text{Muestra} + \text{DPPH}} - b}{m} = \frac{0.859 - 0.0138}{0.0872} = 10.1239 \mu\text{M} \quad (4.1)$$

- b. **Diferencia de Absorbancia (ΔA):** Calculamos la diferencia de absorbancia entre el DPPH solo y la mezcla muestra + DPPH:

$$\Delta A = \text{Abs}_{\text{DPPH}} - \text{Abs}_{\text{Muestra} + \text{DPPH}} = 1.070 - 0.859 = 0.211 \quad (4.2)$$



- c. **Consumo Específico de DPPH (A/mg de muestra):** Dividimos la diferencia de absorbancia entre la masa de la alícuota para obtener el consumo específico en términos de absorbancia por mg de muestra:

$$C_{\text{esp}}^{A/\text{mg}} = \frac{\Delta A}{m_{\text{alícuota}}} = \frac{0.211}{7.5} = 0.0281 \text{ A/mg} \quad (4.3)$$

- d. **Consumo Específico de DPPH ($\mu\text{Mol/mg}$ de muestra):** Finalmente, calculamos el consumo específico en términos de concentración de DPPH por unidad de masa, utilizando el promedio de concentración inicial de DPPH ($12.4289 \mu\text{M}$) y la concentración calculada ($10.1239 \mu\text{M}$):

$$C_{\text{esp}}^{\mu\text{Mol/mg}} = \frac{\overline{\text{Conc}_{\text{DPPH}}} - \text{Conc}_{\text{DPPH}}}{m_{\text{alícuota}}} = \frac{12.4289 - 10.1239}{7.5} = 0.3072 \mu\text{Mol/mg} \quad (4.4)$$

Este es el primer cálculo del consumo específico de DPPH de la primera fila para la accesión 03-20-28. Los valores para las demás datos y muestras se calculan de manera similar utilizando sus datos respectivos.

4.3. EXTRACTO ALCOHÓLICO

En las Tablas 4 al 8 se presentan los resultados obtenidos con el extracto alcohólico, los cuales incluyen la concentración de DPPH (en μMol), la absorbancia a 515 nm (DPPH + muestra), la diferencia de absorbancia entre el DPPH solo y DPPH con la muestra, el porcentaje de inhibición antioxidante, la masa de la alícuota y el consumo específico de DPPH por miligramo de muestra (A/mg y $\mu\text{Mol/mg}$), Todos los análisis tuvieron una concentración MI % de 10, 13, 15, 18, 20, respectivamente.

Para la primera muestra, se observó una concentración promedio de antioxidantes del 17.315 %, con un consumo específico de DPPH de $0.180 \mu\text{Mol/mg}$. En esta muestra,

Tabla 4.

Resultados de absorbancia y concentración de antioxidantes de la muestra 03-20-25.

Conc. DPPH (μMol)	Abs. 515nm: muestra + DPPH	Abs(DPPH) - Abs(DPPH + muestra)	Conc. Antiox. (%)	Gramos de la alícuota masa	Consumo Específico (A/mg)	Consumo Específico (μMol/mg)
11.959	1.029	0.153	12.944	10	0.015	0.175
11.018	0.947	0.235	19.882	13	0.018	0.207
10.950	0.941	0.241	20.389	15	0.016	0.184
10.583	0.909	0.273	23.096	18	0.015	0.174
10.560	0.907	0.275	23.266	20	0.014	0.158
DPPH (100 μMol)	1.182				Promedio	0.180

Nota: Elaboración propia basada en los datos obtenidos de la muestra 03-20-25.

Tabla 5.

Resultados de absorbancia y concentración de antioxidantes 03-20-22.

Conc. DPPH (μMol)	Abs. 515nm: muestra + DPPH	Abs(DPPH) - Abs(DPPH + muestra)	Conc. Antiox. (%)	Gramos de la alícuota masa	Consumo Específico (A/mg)	Consumo Específico (μMol/mg)
12.75	1.098	0.110	9.106	10	0.011	0.126
12.50	1.076	0.132	10.927	13	0.010	0.116
12.28	1.057	0.151	12.500	15	0.010	0.115
12.12	1.043	0.165	13.659	18	0.009	0.105
11.99	1.032	0.176	14.570	20	0.009	0.101
DPPH (100 μMol)	1.208				Promedio	0.113

Nota: Elaboración propia basada en los datos obtenidos de la muestra 03-20-22.

Tabla 6.

Resultados de absorbancia y concentración de antioxidantes 03-20-07.

Conc. DPPH (μMol)	Abs. 515nm: muestra + DPPH	Abs(DPPH) - Abs(DPPH + muestra)	Conc. Antiox. (%)	Gramos de la alícuota masa	Consumo Específico (A/mg)	Consumo Específico (μMol/mg)
13.97	1.204	0.051	4.064	7.5	0.007	0.078
13.94	1.202	0.053	4.223	8.5	0.006	0.072
13.75	1.185	0.070	5.578	10	0.007	0.080
13.51	1.164	0.091	7.251	12	0.008	0.087
13.36	1.151	0.104	8.287	15	0.007	0.080
13.43	1.157	0.098	7.809	17	0.006	0.066
13.21	1.138	0.117	9.323	20	0.006	0.067
DPPH (100μMol)	1.255				Promedio	0.076

Nota: Elaboración propia basada en los datos obtenidos de la muestra 03-20-07.

Tabla 7.

Resultados de absorbancia y concentración de antioxidantes 03-20-28.

Conc. DPPH (μMol)	Abs. 515nm: muestra + DPPH	Abs(DPPH) - Abs(DPPH + muestra)	Conc. Antiox. (%)	Gramos de la alícuota masa	Consumo Específico (A/mg)	Consumo Específico (μMol/mg)
10.12	0.869	0.201	18.785	7.5	0.027	0.307
9.98	0.856	0.214	20.000	8.5	0.025	0.289
9.69	0.831	0.239	22.336	10.0	0.024	0.274
8.97	0.768	0.302	28.224	12.0	0.025	0.289
8.48	0.726	0.344	32.150	15.0	0.023	0.263
DPPH (100μMol)	1.070				Promedio	0.284

Nota: Elaboración propia basada en los datos obtenidos de la muestra 03-20-28.

Tabla 8.*Resultados de absorbancia y concentración de antioxidantes 03-20-21.*

Conc. DPPH (μMol)	Abs. 515nm: muestra + DPPH	Abs(DPPH) - Abs(DPPH + muestra)	Conc. Antiox. (%)	Gramos de la alícuota masa	Consumo Específico (A/mg)	Consumo Específico (μMol/mg)
12.59	1.084	0.124	10.265	10	0.012	0.142
12.25	1.054	0.154	12.748	13	0.012	0.136
12.17	1.047	0.161	13.328	15	0.011	0.123
11.99	1.032	0.176	14.570	18	0.010	0.112
11.76	1.012	0.196	16.225	20	0.010	0.112
DPPH (100μMol)	1.208				Promedio	0.125

Nota: Elaboración propia basada en los datos obtenidos de la muestra 03-20-21.

la mayor concentración antioxidante fue del 23.266 % para una alícuota de 20 g, mientras que la alícuota de 10 g mostró el menor valor, con un 12.944 %.

La segunda muestra presentó un promedio de concentración antioxidante del 12.570 %, con un consumo específico promedio de 0.113 μ Mol/mg. En esta muestra, la alícuota de 10 g tuvo el menor porcentaje de concentración antioxidante con un 9.106 %, mientras que la mayor concentración (14.570 %) se encontró en la alícuota de 20 g.

En la tercera muestra, se observó un promedio de concentración antioxidante del 6.202 %, con un consumo específico promedio de 0.076 μ Mol/mg. En este caso, la alícuota de 7.5 g mostró el valor más bajo (4.064 %), mientras que la alícuota de 20 g alcanzó la concentración máxima de antioxidantes con un 9.323 %.

La cuarta muestra arrojó resultados más elevados, con un promedio de concentración antioxidante del 24.299 % y un consumo específico promedio de 0.284 μ Mol/mg. El mayor valor de concentración antioxidante se observó en la alícuota de 15 g, con un 32.150 %, mientras que la alícuota de 7.5 g tuvo el menor valor, con un

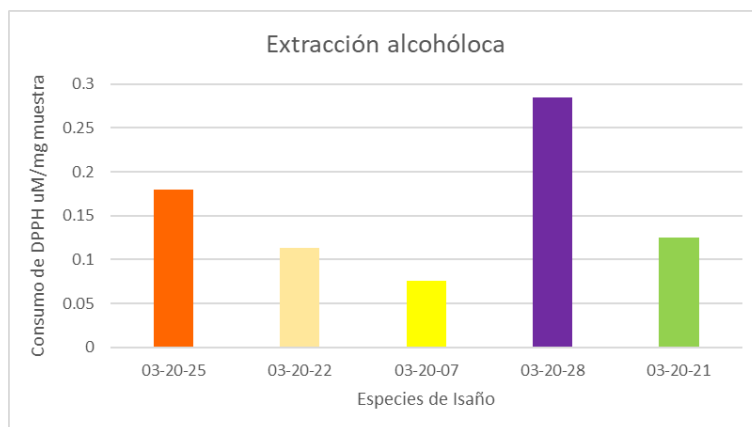
18.785 %.

Finalmente, en la quinta muestra, se encontró un promedio de concentración antioxidante del 13.427 % y un consumo específico de $0.125 \mu\text{Mol}/\text{mg}$. La alícuota de 20 g presentó la mayor concentración de antioxidantes, con un valor del 16.225 %, mientras que la alícuota de 10 g mostró un 10.265 %.

Los extractos alcohólicos de Isaño mostraron una variabilidad en la concentración de antioxidantes entre las distintas muestras y alícuotas, con una tendencia a que las alícuotas mayores presenten una mayor concentración de antioxidantes. Estos resultados refuerzan la importancia de estudiar detalladamente las propiedades antioxidantes de Isaño, lo que podría ser clave para determinar su potencial uso en aplicaciones industriales o farmacéuticas.

Figura 14

Gráfico de barras del resumen del extracto alcohólico.



Nota: Elaboración propia basada en los datos obtenidos del resumen del extracto alcohólico.

4.4. EXTRACTO ACUOSO

Similarmente, en las Tablas 9 al 13 se presentan los resultados obtenidos con el extracto acuoso, los cuales incluyen la concentración de DPPH (en μMol), la absorbancia a 515 nm (DPPH + muestra), la diferencia de absorbancia entre el DPPH solo y DPPH con

la muestra, el porcentaje de inhibición antioxidante, la masa de la alícuota y el consumo específico de DPPH por miligramo de muestra (A/mg y $\mu\text{Mol/mg}$), Todos los análisis tuvieron una concentración MI % de 10, 13, 15, 18, 20, respectivamente.

Tabla 9.

Resultados de extracto acuoso de Isaño: 03-20-25.

Conc. DPPH (μMol)	Abs. 515nm: muestra + DPPH	Abs(DPPH) - Abs(DPPH + muestra)	Conc. Antiox. (%)	Gramos alícuota	Consumo Específico (A/mg)	Consumo Específico ($\mu\text{Mol/mg}$)
11.959	1.029	0.153	12.944	10	0.015	0.175
11.018	0.947	0.235	19.882	13	0.018	0.207
10.950	0.941	0.241	20.389	15	0.016	0.184
10.583	0.909	0.273	23.096	18	0.015	0.174
10.560	0.907	0.275	23.266	20	0.014	0.158
DPPH (μMol)	1.182			Promedio		0.180

Nota: Elaboración propia basada en los datos obtenidos de la muestra 03-20-25.

Para la primera muestra, se observó una concentración promedio de antioxidantes del 17.315 %, con un consumo específico de DPPH de $0.180 \mu\text{Mol/mg}$. En esta muestra, la mayor concentración antioxidante fue del 23.266 % para una alícuota de 20 g, mientras que la alícuota de 10 g mostró el menor valor, con un 12.944 %.

La segunda muestra presentó un promedio de concentración antioxidante del 12.570 %, con un consumo específico promedio de $0.113 \mu\text{Mol/mg}$. En esta muestra, la alícuota de 10 g tuvo el menor porcentaje de concentración antioxidante con un 9.106 %, mientras que la mayor concentración (14.570 %) se encontró en la alícuota de 20 g.

En la tercera muestra, se observó un promedio de concentración antioxidante del 6.202 %, con un consumo específico promedio de $0.076 \mu\text{Mol/mg}$. En este caso, la alícuota de 7.5 g mostró el valor más bajo (4.064 %), mientras que la alícuota de 20 g

Tabla 10.*Resultados de extracto acuoso de Isaño: 03-20-22.*

Conc. DPPH (uM)	Abs. 515nm: muestra + DPPH	Abs(DPPH) - Abs(DPPH + muestra)	Conc. Antiox. (%)	Gramos alícuota	Consumo Específico (A/mg)	Consumo Específico (μMol/mg)
12.750	1.098	0.110	9.106	10	0.011	0.126
12.498	1.076	0.132	10.927	13	0.010	0.116
12.280	1.057	0.151	12.500	15	0.010	0.115
12.119	1.043	0.165	13.659	18	0.009	0.105
11.993	1.032	0.176	14.570	20	0.009	0.101
DPPH (100 μMol)	1.208			Promedio		0.113

*Nota: Elaboración propia basada en los datos obtenidos de la muestra 03-20-22.***Tabla 11.***Resultados de extracto acuoso de Isaño: 03-20-07.*

Conc. DPPH (uM)	Abs. 515nm: muestra + DPPH	Abs(DPPH) - Abs(DPPH + muestra)	Conc. Antiox. (%)	Gramos alícuota	Consumo Específico (A/mg)	Consumo Específico (μMol/mg)
13.966	1.204	0.051	4.064	7.5	0.007	0.078
13.943	1.202	0.053	4.223	8.5	0.006	0.072
13.748	1.185	0.070	5.578	10	0.007	0.080
13.507	1.164	0.091	7.251	12	0.008	0.087
13.358	1.151	0.104	8.287	15	0.007	0.080
DPPH (100 μMol)	1.157	0.098		Promedio		0.076

Nota: Elaboración propia basada en los datos obtenidos de la muestra 03-20-07.

Tabla 12.*Resultados de extracto acuoso de Isaño: 03-20-28.*

Conc. DPPH (uM)	Abs. 515nm: muestra + DPPH	Abs(DPPH) - Abs(DPPH + muestra)	Conc. Antiox. (%)	Gramos alícuota	Consumo Específico (A/mg)	Consumo Específico (μMol/mg)
0,456	0,026	1,135	97,760	10	0,114	1,302
0,502	0,030	1,131	97,416	13	0,087	0,998
0,468	0,027	1,134	97,674	15	0,076	0,867
0,972	0,071	1,090	93,885	18	0,061	0,694
0,639	0,042	1,119	96,382	20	0,056	0,642
DPPH (100 μMol)	1,161			Promedio		0,900

*Nota: Elaboración propia basada en los datos obtenidos de la muestra 03-20-28.***Tabla 13.***Resultados de extracto acuoso de Isaño: 03-20-21.*

Conc. DPPH (μMol)	Abs. 515nm: muestra + DPPH	Abs(DPPH) - Abs(DPPH + muestra)	Conc. Antiox. (%)	Gramos alícuota	Consumo Específico (A/mg)	Consumo Específico (μMol/mg)
12.589	1.084	0.124	10.265	10	0.012	0.142
12.245	1.054	0.154	12.748	13	0.012	0.136
12.165	1.047	0.161	13.328	15	0.011	0.123
11.993	1.032	0.176	14.570	18	0.010	0.112
11.764	1.012	0.196	16.225	20	0.010	0.112
DPPH (100 μMol)	1.208			Promedio		0.125

Nota: Elaboración propia basada en los datos obtenidos de la muestra 03-20-21.

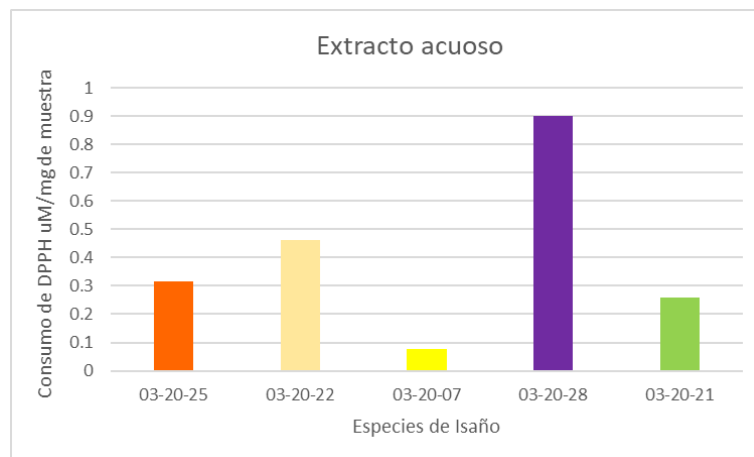
alcanzó la concentración máxima de antioxidantes con un 9.323 %.

La cuarta muestra arrojó resultados más elevados, con un promedio de concentración antioxidante del 24.299 % y un consumo específico promedio de 0.284 $\mu\text{Mol}/\text{mg}$. El mayor valor de concentración antioxidante se observó en la alícuota de 15 g, con un 32.150 %, mientras que la alícuota de 7.5 g tuvo el menor valor, con un 18.785 %.

Finalmente, en la quinta muestra, se encontró un promedio de concentración antioxidante del 13.427 % y un consumo específico de 0.125 $\mu\text{Mol}/\text{mg}$. La alícuota de 20 g presentó la mayor concentración de antioxidantes, con un valor del 16.225 %, mientras que la alícuota de 10 g mostró un 10.265 %.

Figura 15

Gráfico de barras del resumen del extracto acuoso.



Nota: Elaboración propia.

4.5. DISCUSIÓN

En comparación con otros estudios, como el de (Bayas-Chacha et al., 2022), que también analizó las propiedades antioxidantes de *Tropaeolum tuberosum* utilizando métodos diferentes, como el ensayo ABTS, se observa que la actividad antioxidante de las variedades estudiadas en este trabajo es comparable a la obtenida para la mashua



blanca, cuyo extracto de fluido supercrítico presentó un valor de 6596.10 $\mu\text{mol trolox/g}$. Si bien los métodos analíticos son distintos, ambos estudios coinciden en la relevancia de las propiedades antioxidantes de las especies de *Tropaeolum tuberosum*, lo que resalta su potencial como fuentes naturales de antioxidantes. El estudio de (Castañeta et al., 2024) también refuerza la idea de que el isaño, especialmente en su variedad morada, es una fuente rica en antioxidantes. En este caso, se encontró una mayor concentración de flavonoides y antocianinas, lo que concuerda con nuestros resultados, donde la variedad púrpura de isaño mostró una destacada capacidad antioxidante en comparación con las otras variedades. La presencia de carotenoides, como luteína, neoxantina y β -caroteno, también se documentó en este estudio, lo que abre la puerta a una posible interacción sinérgica entre estos compuestos antioxidantes en el isaño.

Por otro lado, el trabajo de (Arteaga-Cano et al., 2022) destaca la importancia de las antocianinas en la capacidad antioxidante del isaño, especialmente en la variedad morada. Esta investigación subraya el valor nutricional del tubérculo, lo que se alinea con nuestros hallazgos, donde la variedad púrpura presentó la mayor capacidad antioxidante en ambos tipos de extractos. La literatura también señala que las antocianinas tienen propiedades protectoras frente a enfermedades cardiovasculares, cáncer y otros trastornos, lo que refuerza la importancia de estudiar estos compuestos en el isaño como posibles agentes terapéuticos.

En cuanto al estudio de (Celis, 2020), que evaluó el efecto de temperatura y velocidad de secado sobre la actividad antioxidante del isaño, los resultados son relevantes para la industria alimentaria, ya que muestran que las condiciones de procesamiento, como la temperatura, pueden influir en la preservación de las propiedades antioxidantes.

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que el isaño es una fuente



excepcional de antioxidantes, destacándose particularmente en sus extractos acuosos, con la variedad púrpura mostrando un potencial antioxidante superior en comparación con las otras variedades. Estos hallazgos coinciden con estudios previos que han resaltado las propiedades bioactivas del isaño, incluyendo su alto contenido de antioxidantes como flavonoides, antocianinas y carotenoides. Los estudios revisados enfatizan la relevancia de esta especie en la prevención de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, lo que respalda su inclusión en dietas funcionales y subraya la necesidad de investigaciones adicionales sobre su potencial como recurso natural en la industria farmacéutica y alimentaria. Además, se evidenció que el trabajo realizado a temperaturas medias-altas puede comprometer las propiedades bioactivas del isaño, lo que refuerza la fiabilidad de los resultados obtenidos en este estudio, ya que se emplearon temperaturas bajas de -197°C utilizando nitrógeno líquido, preservando así la integridad de los compuestos antioxidantes.

V. CONCLUSIONES

PRIMERA: La curva de calibración de DPPH permitió establecer una relación lineal confiable entre la concentración de DPPH y la absorbancia medida a 515 nm, con un coeficiente de determinación $r^2 = 0.9923$. Esta alta correlación asegura la precisión en la cuantificación de la capacidad antioxidante de los compuestos en las variedades de isaño, facilitando la posterior interpolación de valores y permitiendo así un análisis cuantitativo de la actividad antioxidante de los extractos.

SEGUNDA: Los análisis realizados mostraron una variabilidad en el consumo específico de DPPH entre las diferentes variedades de isaño, tanto en los extractos alcohólicos como acuosos. Los valores del consumo de DPPH en las evaluaciones con el extracto acuoso, se llegan hasta triplicar, en particular, la variedad 03-20-28, alcanzando un valor de $0.2843 \mu\text{Mol/mg}$ en el extracto alcohólico y $0.900 \mu\text{Mol/mg}$ en el extracto acuoso. Esto indica una alta concentración de compuestos antioxidantes en esta variedad, lo cual puede ser aprovechado para potenciales aplicaciones en la industria farmacéutica y alimentaria.

TERCERA: Al comparar la eficiencia de los métodos de extracción acuosa y alcohólica, se observó que en el caso de los extractos acuosos, la variedad 03-20-28 tuvo la mayor actividad antioxidante ($0.900 \mu\text{Mol/mg}$), mientras que la variedad 03-20-07 mostró el menor consumo de DPPH en ambos tipos de extracto, con $0.0756 \mu\text{Mol/mg}$ en el alcohólico y $0.0751 \mu\text{Mol/mg}$ en el acuoso. Esto indica que la selección de la variedad de isaño es crucial cuando se busca maximizar los beneficios antioxidantes. Esto respalda la hipótesis de que el solvente acuoso es más adecuado para extraer



compuestos antioxidantes del isaño, proporcionando así una base sólida para futuras investigaciones y aplicaciones industriales en la extracción de antioxidantes.



VI. RECOMENDACIONES

- En base a los resultados obtenidos en este estudio, se recomienda profundizar en el análisis de las propiedades antioxidantes en diferentes variedades de *Tropaeolum tuberosum*, utilizando métodos complementarios como la Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y la Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS) para identificar compuestos específicos. Además, sería beneficioso realizar estudios toxicológicos para garantizar la seguridad del consumo humano en aplicaciones nutracéuticas o farmacológicas. Se sugiere también ampliar la recolección de datos a través de diferentes regiones geográficas, lo cual permitiría evaluar cómo factores ambientales influyen en la concentración de compuestos bioactivos. Finalmente, se recomienda promover investigaciones interdisciplinarias que incluyan aspectos socioeconómicos y culturales, para fomentar el uso sostenible de este recurso autóctono.
- Como parte de los trabajos futuros, se propone realizar estudios detallados mediante Difracción de Rayos X (DRX) para analizar las estructuras cristalinas asociadas a los compuestos bioactivos presentes en las variedades de isaño. Adicionalmente, se empleará Cromatografía Líquida de Alta Resolución acoplada a Espectrometría de Masas/Masas (HPLC-MS/MS) para identificar y cuantificar compuestos específicos, como antocianinas, flavonoides y prolinas, que son clave en las propiedades antioxidantes y bioactivas.
- Se planifica también llevar a cabo evaluaciones antibacterianas y antiparasitarias de los extractos obtenidos, con el objetivo de explorar su potencial como agentes terapéuticos. Estas pruebas permitirán determinar la efectividad de los compuestos identificados contra organismos específicos, proporcionando una base científica para su aplicación en áreas como la medicina natural y la farmacología.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arteaga-Cano, D., Calvo, L. C., Herrera, V. S., Cerna, D. V., & Paucar-Menacho, L. M. (2022). Mashua (*tropaeolum tuberosum*): Nutritional composition, chemical characteristics, bioactive compounds and beneficial properties for health [DOI:]. *Agroindustrial Science*, 12, 95-101.
- Bayas-Chacha, F., Bermeo-Sanchez, M., Herrera-Chavez, B., & Bayas-Morejón, F. (2022). Antimicrobial and Antioxidant Properties of *Tropaeolum tuberosum* Extracts from Ecuador [DOI:]. *Asian Journal of Plant Sciences*.
- Castañeta, G., Miranda-Flores, D., Bascopé, M., & Peñarrieta, J. M. (2024). Characterization of carotenoids, proximal analysis, phenolic compounds, anthocyanidins and antioxidant capacity of an underutilized tuber (*Tropaeolum tuberosum*) from Bolivia [DOI:]. *Discover Food*.
- Celis, R. A. (2020). Efecto de temperatura y velocidad de secado en la actividad antioxidante de la mashua (*Tropaeolum tuberosum*) en el secado en bandejas [DOI:].
- Gonzales, E. V. O., & Torres, J. M. V. (2017). Propiedades físicas, antocianinas y capacidad antioxidante del atomizado de Mashua (*Tropaeolum Tuberosum*) encapsulado con maltodextrina. [url:].
- H., O. B., Reategui, D., J. L., Arcos, & Best, I. (2021). Phenolic compounds and in vitro antioxidant activity of six accessions of mashua (*Tropaeolum tuberosum* r. p.) from puno region, Peru. [DOI:]. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*.
- Jacobo-Velázquez, D. A., Peña-Rojas, G., Paredes-Avila, L. E., Andía-Ayme, V., Contreras, A. M. T., & Herrera-Calderon, O. (2022). Phytochemical Characterization of Twenty-Seven Peruvian Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz



- Pavón) Morphotypes and the Effect of Postharvest Methyl Jasmonate Application on the Accumulation of Antioxidants [DOI:]. *Horticulturae*.
- López-Medina, S. E., Mostacero-León, J., López-Zavaleta, A., Gil-Rivero, A. E., & Cruz-Castillo, A. J. D. L. (2020). Propagación in vitro de *Tropaeolum tuberosum*, “mashua” de pulpa de color aplicando dosis crecientes del 6-bencilaminopurina. *Revista de Investigación de Agroproducción Sustentable*.
- Mamani, E. F., Ticona, J. A., W., C. C., Ponce, Calizaya, G. Q., F. H., A. C. R., Paxi, J. I., P. H. M., Panca, & Churata, A. Z. (2020). Conocimiento ancestral en la curación de la próstata a base de isaño (*Tropaeolum Tuberosum* Ruiz y Pavón) [DOI:], 38.
- Palacios, I. A. O. (2019). Caracterización Físicoquímica, Nutricional y Reológica De Cultivos Andinos Infrutilizados [DOI:].
- Parra, M. A. V. (2017). Caracterización morfológica y fenología en variedades de *Tropaeolum tuberosum* (MASHUA) de interés medicinal. [DOI:].
- Rosmery, T. R. A., Hugo, M. G. B., & Justina, C. (2017). El Isaño (*Tropaeolum tuberosum*) un cultivo de consumo y medicina tradicional en Huatacana para el beneficio de la población boliviana.
- Yapias, R. J. M., Astete, J. M. A., Uscuchagua, Y. Y. C., & Sánchez, M. C. R. (2022). Características físicoquímicas, composición nutricional y compuestos bioactivos en tres variedades de Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón) [DOI:]. *Revista Tecnológica - ESPOL*.

ANEXOS

ANEXO 1: Accesiones de Isaño



Fig. 1: Accessión 03-20-25



Fig. 2: Accessión 03-20-22



Fig. 3: Accessión 03-20-07



Fig. 4: Accessión 03-20-28



Fig. 5: Accessión 03-20-21

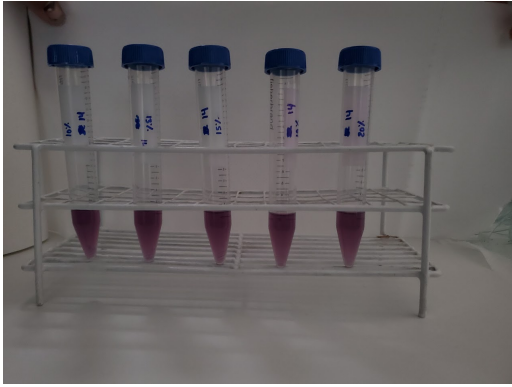


Fig. 6: Concentraciones de DPPH, para introducir la muestra.



Fig. 7: Extractos acuosos después de centrifugar.



Fig. 8: Muestras en el liofilizador.

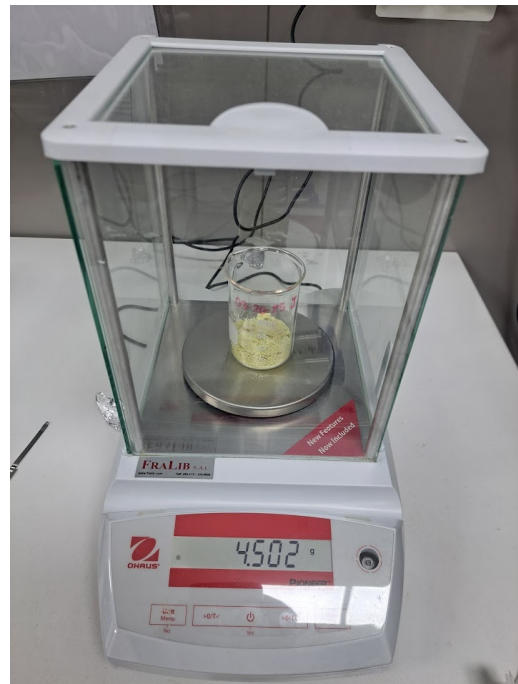


Fig. 9: Balanza de precisión.

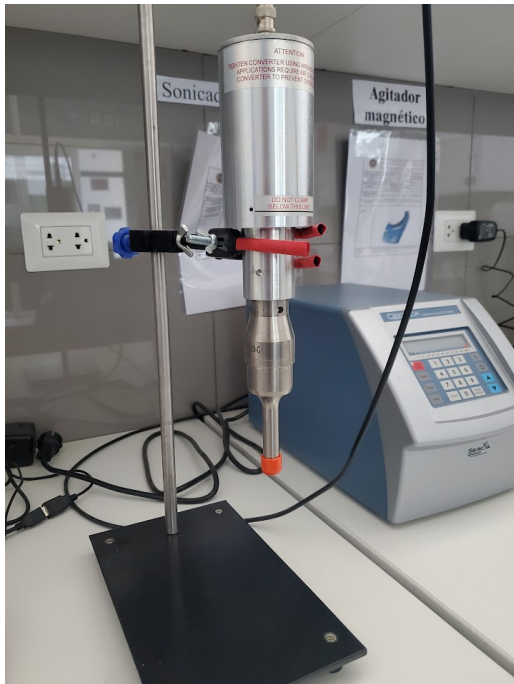


Fig. 10: Sonicador.



Fig. 11: Muestras luego de ser molidas con nitrógeno líquido.

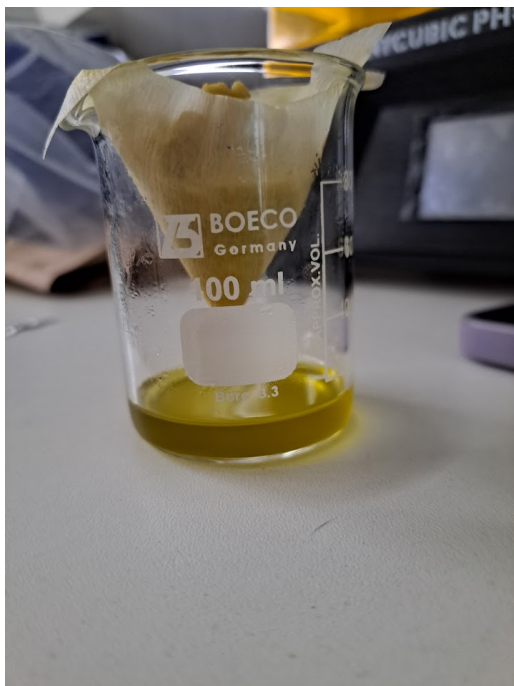


Fig. 12: Muestra con papel filtro para evitar partículas.



Fig. 13: Centrifugadora a 4000 rpm para las muestras acuosas.



DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo Boris Renato Luque Palomino,
identificado con DNI 72199023 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado
Ciencias Físico Matemáticas

informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación denominada:
" Caracterización de los compuestos antioxidantes
en variedades de isaño (*Tropaelum tuberosum*) a
partir de la espectrofotometría uv. vis. "

Es un tema original.

Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno 27 de Noviembre del 2024

FIRMA (obligatoria)



Huella



AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Por el presente documento, Yo Bois Renato Luque Palomino,
identificado con DNI 72199023 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado

Ciencias Físico Matemáticas

informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación denominada:

“ Caracterización de los compuestos antioxidantes
en variedades de isaño (Tropaeolum tuberosum) a
partir de la espectrofotometría UV-Vis. ”

para la obtención de Grado, Título Profesional o Segunda Especialidad.

Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los “Contenidos”) que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 27 de Noviembre del 2024

FIRMA (obligatoria)



Huella