

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



**EVALUAR EL RENDIMIENTO DE ALMIDÓN, LA CAPACIDAD DE
ANTIOXIDANTE EN EL PROCESO DE TUBERIZACIÓN EN 10
ACCESIONES DE ISAÑO (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavon)**

TESIS

PRESENTADA POR

JESUS BUSTINCIO CAHUI

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

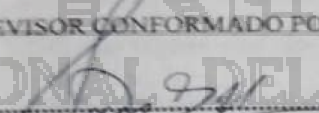
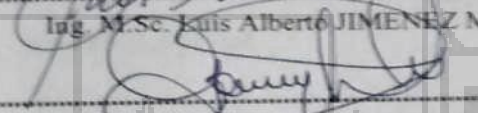
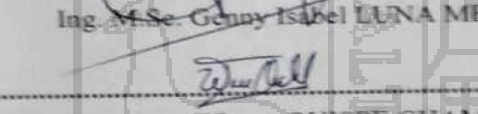
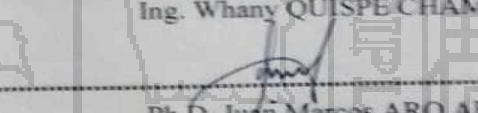
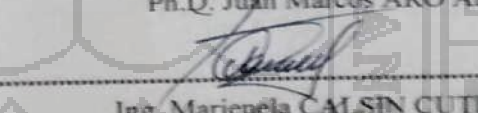
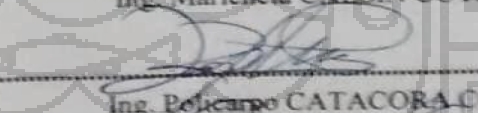
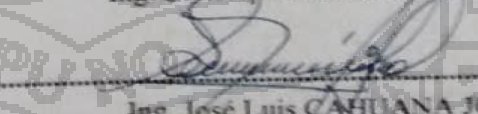
PUNO – PERÚ

2014

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

EVALUAR EL RENDIMIENTO DE ALMIDÓN, LA CAPACIDAD DE ANTIOXIDANTE
EN EL PROCESO DE TUBERIZACIÓN EN 10 ACCESIONES DE ISAÑO (*Tropaeolum
tuberosum* Ruiz y Pavon).

TESIS
PRESENTADA POR
JESUS BUSTINCIO CAHUI
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL
APROBADA POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR

PRESIDENTE	:	 Ing. M.Sc. Luis Alberto JIMENEZ MONROY
PRIMER MIEMBRO	:	 Ing. M.Sc. Genny Isabel LUNA MERCADO
SEGUNDO MIEMBRO	:	 Ing. Whany QUISPE CHAMBI
DIRECTOR DE TESIS	:	 Ph.D. Juan Marcos ARO ARO
ASESOR DE TESIS	:	 Ing. Marienela CALSIN CUTIMBO
ASESOR DE TESIS	:	 Ing. Policarpo CATACORA CCAMA
ASESOR DE TESIS	:	 Ing. José Luis CAHUANA JORGE

PUNO - PERÚ
2014

Área: Ingeniería y tecnología

Tema: Desarrollo de procesos y productos agroindustriales sostenibles y eficientes

DEDICATORIA

*A mis queridos padres con cariño Percy Bustincio y Juliana Cabui
que me dieron la vida, a mis hermanos, quienes me brindaron
todo su apoyo y confianza. A ellos mi eterna gratitud.*



AGRADECIMIENTOS

Las próximas líneas constituyen un reconocimiento especial a las personas que han hecho posible la realización de ésta tesis, a todas ellas mis más sinceros agradecimientos.

Le doy gracias infinitas a Dios por guiar mis pasos en cada momento de mi vida.

Mis sinceros agradecimientos a mi alma mater la Universidad Nacional del Altiplano, a la Facultad de Ciencias Agrarias y la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial por haberme brindado mi formación profesional.

Al Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA), quienes me brindaron su apoyo incondicional para la culminación de esta investigación.

A mi director de tesis Ph.D. Juan Marcos Aro Aro por haber confiado en mi persona, por su disposición y apoyo incondicional brindado y a mis asesores Ing. Marienela Calsin Cutimbo, Ing. José Luis Cahuana Jorge e Ing. Policarpo Catacora Ccama por su asesoramiento durante la ejecución de este trabajo de investigación.

A los miembros del jurado Ing. M.Sc. Luis Alberto Jimenez Monroy, Ing. M.Sc. Genny Isabel Luna Mercado y al Ing. Whany Quispe Chambi por sus valiosos comentarios, por su atenta lectura y correcciones de este trabajo de investigación.

Al Sr. Oswaldo, Sr. German y Sr. Pablo laboratoristas de la Carrera Profesional de Ingeniería Agroindustrial por su disposición, facilitación de materiales y equipos para la ejecución de este trabajo.

A todos mis compañeros con los que compartí mi vida estudiantil, por haberme brindado siempre su apoyo.

ÍNDICE GENERAL

Págs.

ÍNDICE GENERAL	1
ÍNDICE DE TABLAS	
ÍNDICE DE FIGURA	
ÍNDICE DE ANEXO	
ÍNDICE DE SIGLAS	
RESUMEN	1
I. INTRODUCCIÓN	2
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. EL ISAÑO (<i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz y Pavón)	4
2.1.1. GENERALIDADES	4
2.1.2. DESCRIPCIÓN	4
2.1.3. COMPOSICIÓN QUÍMICA	5
2.1.4. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS	6
2.1.4.1. ETAPAS DEL CULTIVO	7
2.1.4.2. ASPECTOS ANATÓMICOS DE LA FORMACIÓN DE LOS TUBÉRCULOS	7
2.1.4.3. FISIOLOGÍA DE LA FORMACIÓN DEL TUBÉRCULO	8
2.1.5. USO Y APLICACIONES DE LA ESPECIE	9
2.2. ALMIDÓN	10
2.2.1. RENDIMIENTO DE DIFERENTES TUBÉRCULOS	11
2.2.2. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ALMIDÓN	12
2.2.2.1. AMILOSA	13

2.2.2.2. AMILOPECTINA	15
2.2.2.3. AMILOSA Y AMILOPECTINA EN EL GRANULO DE ALMIDÓN	17
2.2.2.4. PROTEÍNA EN EL GRANULO DE ALMIDÓN	20
2.3. ANTIOXIDANTE	20
2.3.1. ESTRÉS OXIDATIVO	22
2.3.2. DAÑO OXIDATIVO A BIOMOLÉCULAS	23
2.3.3. PROCESO FISIOLÓGICO Y FISIOPATOLÓGICO RELACIONADOS CON LOS RADICALES LIBRES	24
2.3.4. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	24
2.3.4.1. COMPUESTOS FENÓLICOS	26
2.3.4.2. FLAVONOIDES	30
2.3.4.3. FLAVONOLES	30
2.3.5. COMPUESTOS BIOACTIVOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL ISAÑO	32
2.3.6. EFECTO DE LAS OPERACIONES UNITARIAS EN LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS	33
2.3.6.1. EFECTO DEL CORTADO	33
III. MATERIALES Y MÉTODOS	34
3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN	34
3.2. MATERIAL EXPERIMENTAL	34
3.3. MATERIALES Y EQUIPOS	36
3.3.1. Materiales	36
3.3.2. Equipos de laboratorio	36

3.3.3. Reactivos	37
3.4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	37
3.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS	40
3.5.1. Determinación del rendimiento de almidón	40
3.5.2. Preparación de la muestra	41
3.5.3. Determinación de la capacidad antioxidante	42
3.6. UNIDADES DE ANÁLISIS Y OBSERVACIONES	44
3.6.1. Variable de estudio	44
3.6.2. Variable de respuesta	44
3.6.3. Indicadores	44
3.7. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	45
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
4.1. CARACTERÍSTICAS DE LA MATERIA PRIMA	46
4.2. DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DE ALMIDÓN EN EL PERIODO DE TUBERIZACIÓN EN 10 ACCESIONES DE ISAÑO	49
4.3. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	57
V. CONCLUSIONES	66
VI. RECOMENDACIONES	67
VII. BIBLIOGRAFÍA	68
ANEXO	78

ÍNDICE DE TABLAS

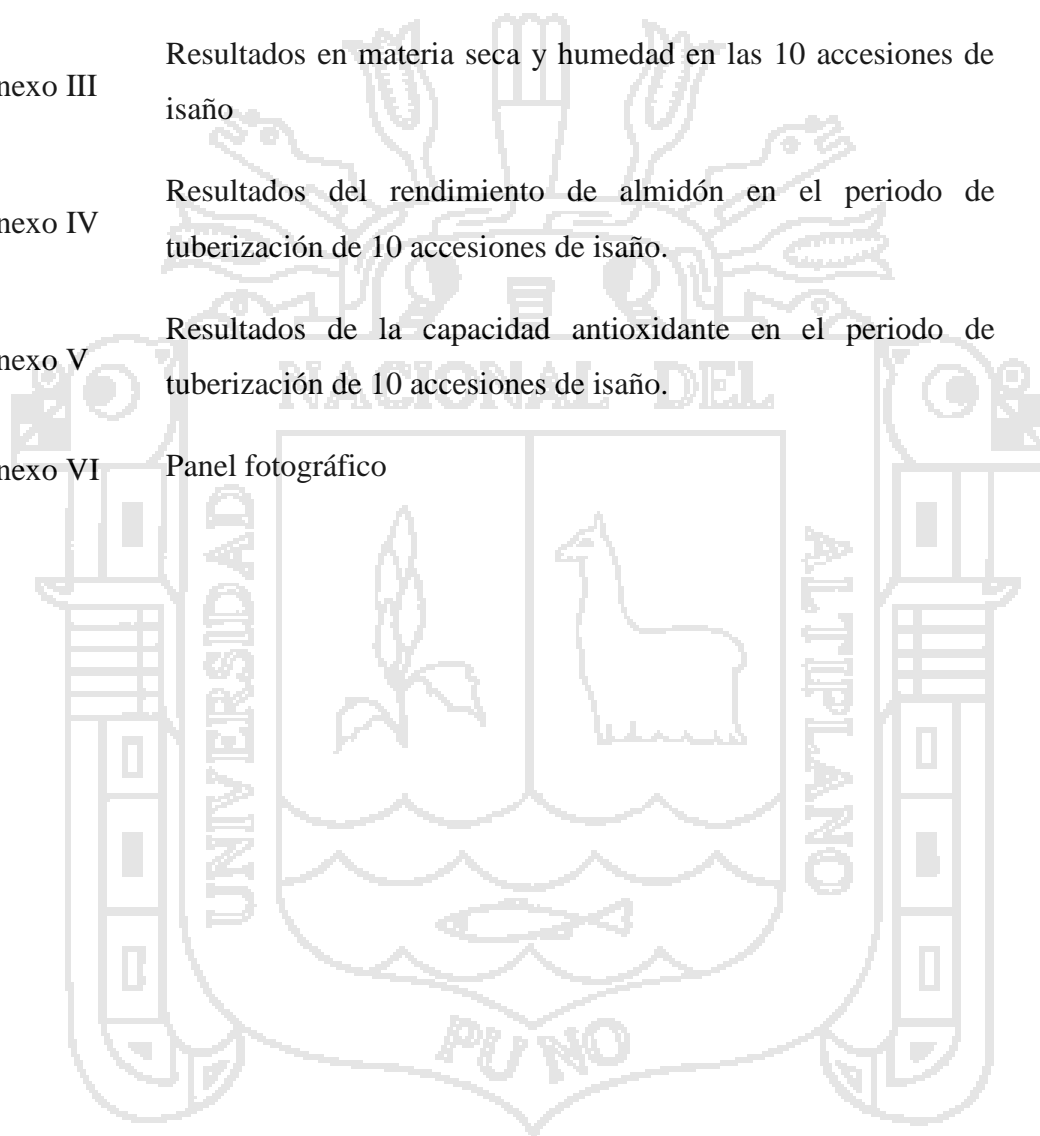
		Págs.
Tabla 1	Composición química promedio del isaño	6
Tabla 2	Rendimiento de almidón de diferentes tubérculos y raíces andinos	12
Tabla 3	Clasificación de los polifenoles	27
Tabla 4	Características generales de las accesiones de isaño.	35
Tabla 5	Contenido de materia seca y humedad en tubérculos de isaño	47
Tabla 6	Análisis de varianza del contenido de humedad en 10 accesiones de isaño.	48
Tabla 7	Análisis de varianza (ANVA) para el rendimiento de almidón	53
Tabla 8	Prueba de comparación múltiple Duncan en el tiempo tuberización del rendimiento de almidón, $\alpha = 0.01$	54
Tabla 9	Prueba de comparación múltiple Duncan en 10 accesiones de isaño en el rendimiento de almidón, $\alpha = 0.01$	55
Tabla 10	Prueba de comparación múltiple de Duncan para el factor interacción de accesión y tiempo de tuberización sobre el almidón.	56
Tabla 11	Análisis de varianza (ANVA) para la capacidad antioxidante	62
Tabla 12	Prueba de comparación múltiple Duncan en el tiempo tuberización de la capacidad antioxidante, $\alpha = 0.01$	63
Tabla 13	Prueba de comparación múltiple Duncan en 10 accesiones de isaño en la capacidad antioxidante, $\alpha = 0.01$	64
Tabla 14	Prueba de comparación múltiple de Duncan para el factor interacción de accesión y tiempo sobre la capacidad antioxidante.	65

ÍNDICE DE FIGURAS

		Págs.
Figura 1	Forma del tubérculo	5
Figura 2	Estructura química de la amilosa	14
Figura 3	Estructura química de la amilopectina	16
Figura 4	Estructura del granulo de almidón	18
Figura 5	Estructura helicoidal de la amilasa (A) y en racimos de la amilopectina	19
Figura 6	Mecanismo de la reacción del radical superóxido	23
Figura 7	Estructura química de algunos flavonoides	29
Figura 8	Estructura química de Quercetina	31
Figura 9	Diagrama de flujo para el estudio del rendimiento de almidón, capacidad antioxidante en 10 accesiones de isaño	39
Figura 10	Resultados de la determinación del rendimiento de almidón de las 10 accesiones de isaño (A001, B002, E005, F006, G007, H008, I009, J010, K011 Y L012), durante el periodo de tuberización (0 a 90 días)	52
Figura 11	Resultados de la determinación de la capacidad antioxidante de las 10 accesiones de isaño (A001, B002, E005, F006, G007, H008, I009, J010, K011 Y L012), durante el periodo de tuberización (0 a 90 días)	58

ÍNDICE DE ANEXOS

		Págs.
Anexo I	Formato de recolección de datos en rendimiento de almidón.	79
Anexo II	Formato de recolección de datos de la capacidad antioxidante	80
Anexo III	Resultados en materia seca y humedad en las 10 accesiones de isaño	81
Anexo IV	Resultados del rendimiento de almidón en el periodo de tuberización de 10 accesiones de isaño.	82
Anexo V	Resultados de la capacidad antioxidante en el periodo de tuberización de 10 accesiones de isaño.	83
Anexo VI	Panel fotográfico	84



ÍNDICE DE SIGLAS

ABTS ⁺	: Ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)
ANOVA	: Analysis Of Variance; Análisis de Varianza.
DCA	: Diseño Completamente al Azar
DPPH	: 2,2 - Difenil – 1- picrilhidrazilo
FAO	: Organización de Alimentos Agrícolas.
FRAP	: Análisis de Poder Reductor Ferrico/Antioxidante.
GP _n	: Número de unidades de glucosa que se encuentra unidas en una cadena.
INIA	: Instituto Nacional de Innovación Agraria.
ORAC	: Absorción de Radicales Libres de Oxígeno.
RL	: Radical Libre
ROS	: Especies Reactivas del Oxígeno.
TEAC	: Trolox equivalent antioxidant capacity.

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se desarrolló la “Evaluación del rendimiento de almidón, la capacidad de antioxidante en el proceso de tuberización en 10 accesiones de isaño (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón) en la Universidad Nacional del Altiplano - Puno, la materia prima se obtuvo del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA); las semillas se sembraron en el campo experimental del CIP Camacani del Distrito de Plateria, realizándose la cosecha para sus análisis correspondientes a los días 0, 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días, cuyos resultados obtenidos se analizaron mediante el experimento factorial bajo el diseño completo al azar (DCA) con tres repeticiones, para determinar el rendimiento de almidón de las 10 accesiones de isaño se aplicó el método de extracción de almidón, el resultado obtenido del isaño codificado E005 resultó ser mayor que los rendimientos de las nueve accesiones de isaño; esto depende de las condiciones de cultivo, radiación, CO₂, tiempo de tuberización y el tamaño de los gránulos de almidón que influyen notablemente en el rendimiento. La determinación de la capacidad antioxidante del tubérculo se aplicó el método ABTS utilizando la espectrofotometría para su lectura correspondiente, el resultado obtenido del isaño codificado L012 resultó ser mayor que las nueve accesiones de isaño; que depende de los niveles de estos compuestos que pueden variar considerablemente dentro de la misma accesión debido a sus factores genéticos, ambientales que condicionan la germinación, el tiempo de tuberización y la calidad de cultivo; también depende del número y posición de sus grupos hidroxilos unidos a la estructura de anillo.

I. INTRODUCCIÓN

La sociedad moderna tiene un problema en la mala alimentación, donde una de las consecuencias resulta el llamado estrés oxidativo, que conlleva a una serie de daños fisiológicos; entre estos tenemos las carcinogénesis, enfermedades cardiovasculares, enfermedades del sistema inmune, cataratas, enfermedades cerebrales e incluso, el mismo proceso de envejecimiento. La causa de estos males es el daño oxidativo originado en el ADN, en los lípidos y las proteínas por los denominados oxirradicales.

Los organismos vivos han desarrollado una serie de mecanismos de defensa antioxidante, tanto de naturaleza enzimática como no enzimática; éstos se hallan presentes tanto en el propio organismo como en la dieta ingerida. Debido a esto es importante hacer parte de nuestro estilo de vida, una alimentación sana que conlleve al consumo de antioxidantes. Los antioxidantes son moléculas capaces de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas y su papel principal es terminar con las reacciones de oxidación e inhibir otras reacciones de oxidación oxidándose ellos mismos. Algunas de las sustancias antioxidantes naturales más conocidas son el β -caroteno (pro-vitamina A), la vitamina C (ácido ascórbico), la vitamina E (α -tocoferol), el selenio, etc.

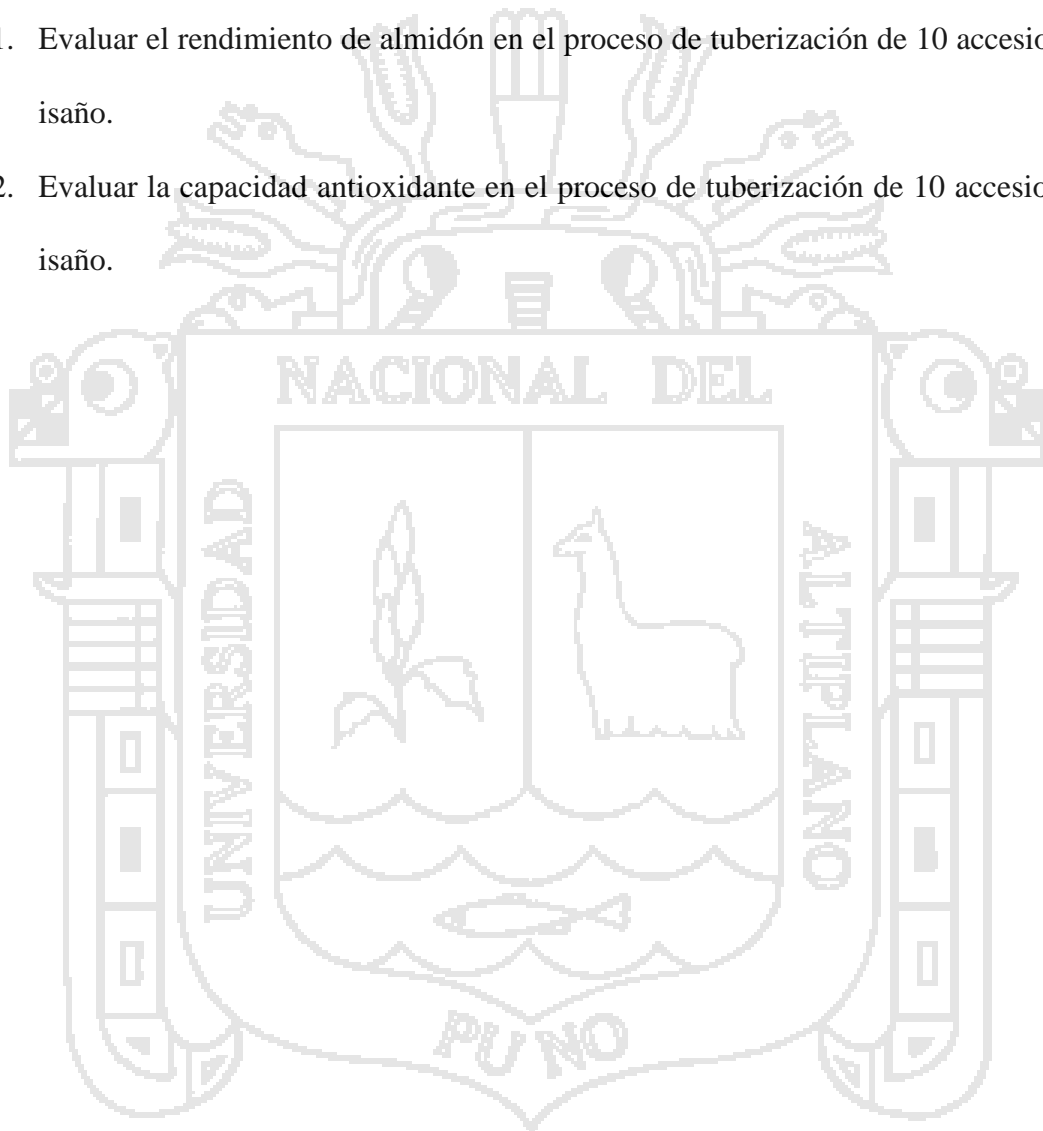
Grau *et al.*, (2003), menciona que el isaño, tubérculo andino cultivado por siglos en Perú, Bolivia, Ecuador, Venezuela y Colombia; y que además tiene diversos usos populares que mejoran la salud, de la misma manera Campos *et al.* (2006), podrían estar relacionados con la presencia compuestos fenólicos. A pesar de esto, este tubérculo es poco consumido debido a su sabor amargo, astringente y a limitadas formas que se emplean para su procesamiento y transformación.

Para lo cual se toma en cuenta también sobre las características nutricionales relevantes de los polisacáridos presente en este tubérculo, sólo se produce una vez al año y

posteriormente ya no se encuentra disponible en el mercado; es necesario realizar una transformación que nos permita tenerlo a disposición y que este tratamiento no vaya en desmedro de sus propiedades antioxidantes y polisacáridos.

Para tal fin se plantearon los siguientes objetivos específicos:

1. Evaluar el rendimiento de almidón en el proceso de tuberización de 10 accesiones de isaño.
2. Evaluar la capacidad antioxidante en el proceso de tuberización de 10 accesiones de isaño.



II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. EL ISAÑO (*Tropaeolum tuberosum* R y P)

2.1.1. GENERALIDADES

El isaño (*Tropaeolum tuberosum* R y P), es uno de los tubérculos más importantes después de la papa, olluco y oca; se cultiva en los valles húmedos de la zona andina de Perú, Colombia, Argentina, Ecuador y Bolivia. La planta hereditaria de la Meseta Peruano-Boliviano. Pero ahora puede encontrarse en lugares tan lejanos como Canadá, Europa y Nueva Zelanda (Meza *et al.*, 1997). Entre los tubérculos andinos, el isaño es de mayor rendimiento, se encuentra entre 90 y 70 TM/ha (Caicedo, 1999). Crece en alturas de 3000 a 4000 msnm, pero la planta produce sus mejores cosechas y alto rendimiento entre 3500 y 3800 msnm (Hernández y León, 1992). Los rendimientos del isaño supera a la papa de dos por uno y crece en suelos pobres y sin fertilizantes (Tineo, 1993).

2.1.2. DESCRIPCIÓN

El isaño es una planta herbácea erecta o semiprostrada, de tallos cilíndricos y hábitos rastreros. Esta planta posee un follaje compacto, con hojas de color verde oscuro en el haz y más claras en el envés. Las hojas tienen lámina redondeada y el pecíolo inserto en el centro. Sus flores solitarias de distintos colores que van desde el anaranjado hasta el rojo oscuro. El número de estambres varía de 8 a 13, y el tiempo que permanece abierta oscila entre 9 y 15 días. (Samaniego, 2010).

Los tubérculos miden de 5 a 15 cm de largo, tienen forma cónica alargada, yemas profundas, y variados colores como el amarillo, blanco, rojizo, morado, gris y negro, con jaspes oscuros en la piel. El tubérculo posee una textura arenosa y contiene 15 % de proteínas, con alto porcentaje de carbohidratos y 80 % de agua. Debido a la presencia de

isotiocianatos, que también se encuentran en la mostaza y los rabanitos, el isaño tiene un sabor acre y picante, pero que desaparece con la cocción volviéndose dulce. En la figura 1 se puede observar la planta y formas de tubérculos del isaño.

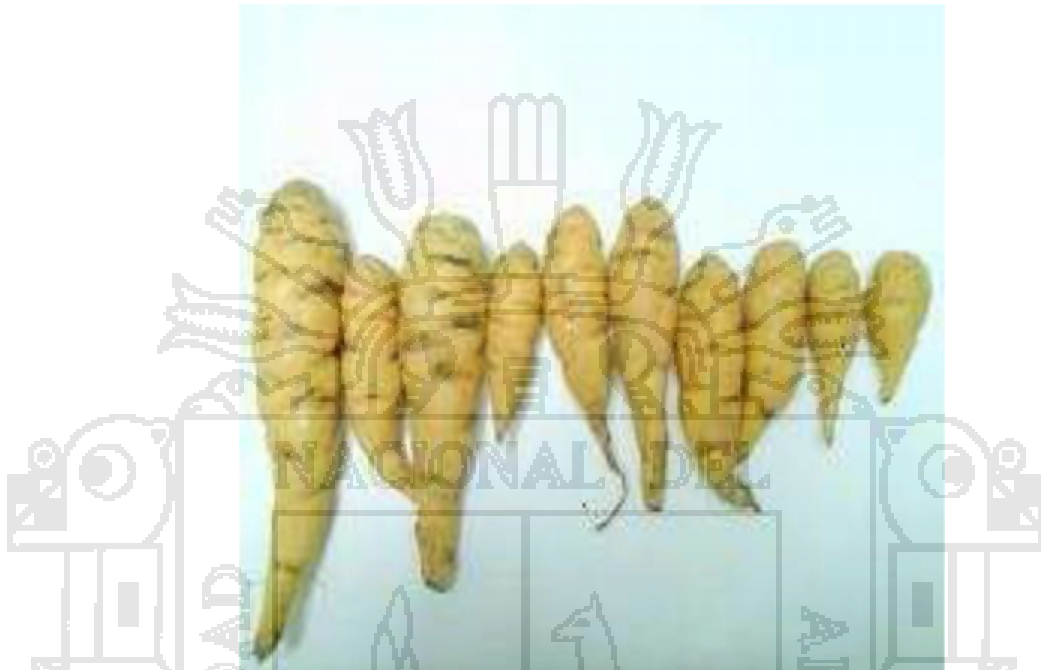


Fig. 1: Formas del tubérculo

2.1.3. COMPOSICIÓN QUÍMICA

La composición química del isaño depende principalmente de las características genéticas, sin embargo, tubérculos de la misma planta pueden diferir notablemente en la composición química. Además, la composición se ve afectada por varios factores como: variedad, zonas de crecimiento, formas de cultivo, almacenamiento, madurez de cosecha etc. El isaño pueden contener apreciables cantidades de carotenos (vitamina A) y de vitamina C (77 mg en 100 gramos de materia fresca comestible), siendo cuatro veces más que la cantidad de esta vitamina encontrada en la papa. (Tapia *et al.*, 2007). En la Tabla 1 se presentan la composición química del isaño, estudio realizado por la FAO en los Andes peruanos, determina la siguiente composición por cada 100 gramos de isaño:

Tabla 1. Composición proximal del isaño en 100 gramos de porción comestible.

COMPOSICIÓN	RANGO
Energía (Kcal)	35-52
Humedad (%)	79.2-93.8
Proteína (g)	1.1-2.7
Grasa (g)	0.5-0.9
Fibra (g)	0.5-1.5
Vitamina A (mg)	9-12
Ceniza (g)	0.6-1.1
Calcio (mg)	10-13
Hierro (mg)	0.8-1.0

Fuente: Tapia *et al.*, 2007.

2.1.4. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

El isaño como una planta herbácea semi recta con tallos aéreos cilíndricos, delgados y ramificados. Las hojas están colocadas a lo largo del tallo separadas por entrenudos. Los peciolos son zarcillos de 2 a 20 cm de longitud de color verde oscuro pigmentado rojo. Las flores solitarias aparecen intensamente pigmentadas, son zigomorfas de color rojo intenso (Cadima, 2006.)

Existen muchos factores que afecta el contenido de materia seca en los diferentes tubérculos, tal como la variedad, clima, época de siembre, tipo de suelo, prácticas culturales y presencia de plagas (Vásquez, 1998).

2.1.4.1. ETAPAS DEL CULTIVO

El período vegetativo fluctúa entre cinco meses en las variedades precoces y ocho meses en las tardías.

- **Primera etapa:** Siembra a emergencia: 20-36 días
- **Segunda etapa:** Emergencia a floración: 100-148 días
- **Tercera etapa:** Floración a tuberización: 108-155 días
- **Cuarta etapa:** Tuberización a cosecha: 150-280 días

La cosecha se realiza aproximadamente a partir de los 200 días después de la siembra (Samaniego, 2010).

2.1.4.2. ASPECTOS ANATÓMICOS DE LA FORMACIÓN DE LOS TUBÉRCULOS

El tubérculo funciona como un órgano de reserva y de almacenamiento masivo para una gama de macromoléculas, principalmente almidón y proteínas. A raíz de algunas señales ambientales específicas, que incluyen fotoperiodo corto (días menores a 13 horas de luz), alta intensidad de la luz y niveles bajos de nitrógeno, los estolones son inducidos a formar tubérculos. Desde el punto de vista agronómico, los tubérculos comienzan a independizarse de la planta madre a partir que el follaje inicial se seca y las hojas completan su ciclo de vida con el proceso de senescencia. Las comunicaciones floemáticas entre hoja y tallo y entre tallo y tubérculo, permiten que haya una acelerada descarga de fotosimilados, los cuales llenan los mencionados órganos de almacenamiento. Sacarosa, fructosanos, aminoácidos y una redistribución de nutrientes, hacen parte de esta elaborado y sinérgico proceso (Ewing y Wareing, 1992).

2.1.4.3. FISIOLÓGÍA DE LA FORMACIÓN DEL TUBÉRCULO

El fotoperiodo corto acompañado de temperaturas bajas, induce y fomenta la tuberización, siempre y cuando el tubérculo haya sido nutrido adecuadamente con calcio, elemento mineral de mayor incidencia en la pos cosecha duradera del tubérculo (Abbasi *et al.*, 2009).

La transformación de estolones en tubérculos es trascendental en fisiología de la planta entera, porque los tubérculos en desarrollo se convierten posteriormente en los receptores de fotoasimilados y serán reservas de mayor actividad y tamaño. Durante las primeras etapas de formación de tubérculo los estolones alteran su hábito de crecimiento, mostrando un cese de elongación y la iniciación de expansión radial. Al aumento de división celular y de expansión los reemplazan rápidamente una masiva depositación de proteínas, de almidón y de azúcares como resultado de la expresión coordinada de genes implicados en la biosíntesis de almidón y proteínas (Jackson, 2008).

También se ha demostrado que los días cortos pueden reducir el período de crecimiento activo del tubérculo, mientras aumenta la circulación de la materia seca a los tubérculos. (Ewing y Wareing, 1992). Para los efectos de esta conferencia, el fotoperíodo crítico puede definirse como la duración del día en el que la planta induce e inicia la formación de tubérculo. Por ejemplo, la detención del crecimiento de estolón, la iniciación de crecimiento radial, la descarga de sacarosa y su posterior transformación en glucosa y fructosa, para finalmente sintetizar almidones, son todos los eventos que han demostrado ser capaces de regular, activar o inhibir el desarrollo de los órganos de almacenamiento subterráneos del tuberculo. (Vreugdenhil *et al.*, 1999).

La tasa de crecimiento de los tubérculos en esta etapa depende entonces solo de la capacidad de fuente del cultivo, o sea de la radiación solar interceptada y de la eficiencia con que el área foliar transforme la radiación en azúcares simples. La disponibilidad de agua, nutrientes, radiación y CO₂, y la edad del follaje determina la eficiencia de uso de la luz (Dogliotti *et al.*, 2011)

2.1.5. USOS Y APLICACIONES DE LA ESPECIE

A los tubérculos se les atribuyen propiedades anafrodisíacas desde la época de los incas, que la incluían en la alimentación de sus soldados. Hoy se sabe que los niveles de testosterona se reducen significativamente en ratas macho alimentadas con isaño. El isaño por su mayor rendimiento por hectárea tiene importancia para satisfacer la alimentación de los habitantes de menores recursos en zonas rurales marginales en los Andes altos. Se prepara en forma de sancochado, asado o como “thayacha”; esta última consiste en exponer los tubérculos por una noche a los efectos de la helada. Al día siguiente se comen, acompañados de miel de chancaca (miel de caña de azúcar). (Gonzales *et al.*, 2003).

En Nueva Zelanda, aparte de consumir sus tubérculos en sopas y estofados, también son consumidas las hojas jóvenes y las flores (Nacional Research Council, 1989).

Por su valor diurético y nutritivo es consumida con agrado por adultos y niños del área rural sancochada en una pachamanca, o en el horno, adquiere un sabor especial semejante al camote (Salas, 1998).

Actualmente el isaño es muy escasa debido a que tiene poco valor comercial, ya que no es muy apetecido por el hombre porque tiene un sabor picante cuando está cruda, debido a los isotiocianatos (aceite de mostaza); en cocido pierde esta característica, pero aún es rechazada por las personas de sexo masculino porque se dice que es anafrodisiaco;

aunque estudios realizados en ratas muestran que no afecta la fertilidad sin embargo hay un descenso en los niveles de testosterona (Hernández y León, 1992).

Esta especie se considera única, dentro de los alimentos se le incluye propiedades de reprimir el deseo sexual (Tapia *et al.*, 2007).

2.2. ALMIDÓN

El almidón es un carbohidrato de reserva, sintetizado y almacenado como fuente de energía en plantas superiores; además después de la celulosa, es el segundo hidrato de carbono más abundante en la biosfera. Aunque el contenido de almidón varía según la fuente de obtención, la más importante son los cereales (maíz, arroz, trigo) con un contenido aproximado de 30-80%, en leguminosas (fríjol, chícharo, haba) un 25-50% y en tubérculos (papa, tapioca, yuca,) representa un 60-90% de la materia seca. De la producción mundial de almidón aproximadamente el 83% es obtenido del maíz; después la fuente más importante es el trigo con un 7%, papa con un 6% y tapioca con el 4% (Bernal y Martínez, 2006).

En las últimas décadas, la investigación realizada a este carbohidrato es con la finalidad de encontrarle nuevos usos. Básicamente puede ser usado para cuatro propósitos generales (Bello *et al.*, 2000; Delville *et al.*, 2002)

- 1.- Conferir ciertas características organolépticas a los alimentos como textura y consistencia, la cual es dada por sus componentes poliméricos de alto peso molecular. La cantidad y tipo de almidón utilizado se convierten en puntos críticos para obtener las características organolépticas deseables.

- 2.- Para la nutrición humana y/o animal, ya que es la fuente de energía más importante, representa el 80% de la ingesta calórica mundial. También para producir edulcorantes de alta intensidad y sustitutos de grasas, ya que este tipo de productos son utilizados en la elaboración de alimentos bajos en calorías.
- 3.- Para ciertas aplicaciones industriales como la fabricación de pegamentos, pinturas, espesantes y texturizantes en las industrias del papel y textil.
- 4.- En la producción de bioenergéticos (bioetanol).

Dentro del ámbito ecológico, el almidón empieza a ser fundamental para la fabricación de plásticos biodegradables, también se ha planteado su uso como material encapsulante de sustancias como proteínas, sabores y olores para su posterior liberación dentro de un producto alimenticio o farmacéutico (Qi y Xu, 1999).

2.2.1. RENDIMIENTO DE ALMIDÓN DE DIFERENTES TUBÉRCULOS

El rendimiento promedio en almidón para los diferentes tubérculos y raíces en estudio, a nivel de laboratorio, se muestran en la Tabla 2. Betancur *et al.*, (2001) afirman que el rendimiento de la extracción del almidón se expresa como el coeficiente multiplicado por cien para expresarlo en porcentaje. Asimismo el rendimiento está en función de la tecnología extracción utilizada (Hurtado, 1997). La diferencia de rendimiento está determinada por el tamaño de tubérculo o raíz y el tamaño de los gránulos de almidón esta características influyen notablemente en el rendimiento (Espin *et al.*, 1999).

Tabla 2: Rendimiento de almidón de diferentes tubérculos y raíces andinos.

Tubérculo/Raíces	Rendimiento (%)
Oca	14.18
Mashua	2.26
Melloco	5.17
Miso	10.42
Zanahoria blanca	13.52

Fuente: Espin y Villares, 1999

La extracción de almidón de oca, isaño y olluco entre los tres tubérculos el mayor rendimiento lo obtuvo el almidón de oca con un 12.85% seguido del olluco con 5.05% y el que obtuvo menor rendimiento es el almidón de isaño con un mínimo de 2.20% (Surco, 2004). Además el rendimiento encontrado (3.65%) en el isaño amarillo por Hermoza, (2013) es mayor.

2.2.2. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ALMIDÓN

Químicamente, el almidón es un polisacárido semicristalino compuesto por D-glucopiranosas unidas entre sí mediante enlaces glucosídicos. El almidón está formado por dos polímeros de diferente estructura (amilosa y amilopectina), los cuales se diferencian por las uniones que presentan dentro del gránulo de almidón y que además representan cerca del 98-99% del peso en seco. La proporción de estos dos polímeros varía según la fuente botánica y su organización física dentro de la estructura granular, confiriéndole

propiedades fisicoquímicas y funcionales únicas. A pesar de la química simple del almidón, las moléculas que lo conforman son variables y complejas (Cowieson, 2005; Tester *et al.*, 2004).

2.2.2.1. AMILOSA

La amilosa (Figura 2), es un polímero lineal formado por D-glucopiranosas que se encuentran unidas entre sí por enlaces α -(1-4) que representan un 99% de su estructura; también se ha comprobado la presencia de ciertas ramificaciones unidas por enlaces α -(1-6). Dichas ramificaciones se encuentran de manera espaciada e infrecuente, lo que permite observar su comportamiento esencialmente lineal (Biliaderis 1998; Buléon *et al.*, 1998; Mua y Jackson 1997), tiene una masa molar aproximada de 105-106 kDa, un grado de polimerización (GP, número de unidades de glucosa que se encuentran unidas en una cadena) por número (GPn) de 324-4920 con alrededor de 9 a 20 puntos de ramificación equivalentes a 3-11 cadenas por molécula. Cada cadena contiene aproximadamente 200 o 700 residuos de D-glucopiranosas (Tester *et al.*, 2004).

La naturaleza lineal, flexible y de gran longitud de la cadena de amilosa, le confiere la capacidad de enrollarse formando una estructura helicoidal (Figura 5) con seis unidades de D-glucopiranosas por giro, de esta forma dentro de la hélice se propicia un entorno hidrofóbico, con la capacidad de formar complejos con yodo, alcoholes o ácidos orgánicos (Tang *et al.*, 2002). Se ha considerado que las regiones helicoidales son relativamente rígidas y se presentan de 10 a 15 giros por región (Whistler y Daniel, 1984).

El tamaño de los gránulos de almidón fluctúa entre menos a 1 μ a más de 100 μ generalmente el tamaño del granulo está referido al diámetro promedio del granulo de almidón (Reyes, 2007)

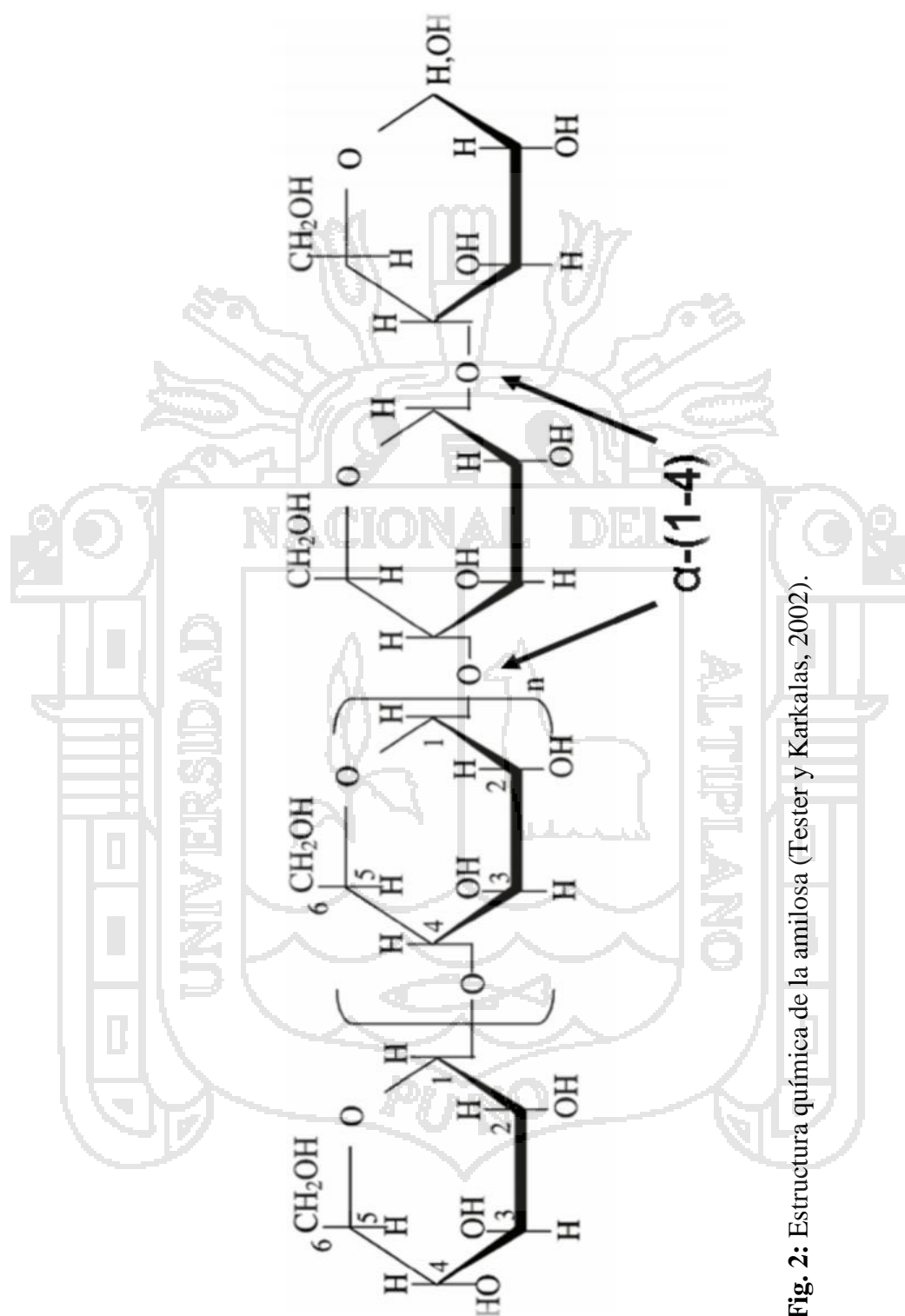


Fig. 2: Estructura química de la amilosa (Tester y Karkalas, 2002).

2.2.2.2. AMILOPECTINA

La amilopectina (Figura 3), es un polímero semicristalino y altamente ramificado, formado por aproximadamente 595,238 unidades de D-glucopiranosas unidas mediante enlaces $\alpha(1-4)$ que representan un 92-96%; con puntos de ramificación unidos mediante enlaces $\alpha(1-6)$ que representan un 5-6% de su estructura. Dichas ramificaciones se localizan aproximadamente cada 15 o 25 unidades de D-glucopiranosas, aunque el rango puede excederse a 19 o 31 unidades dependiendo del contenido de amilosa en el almidón (Biliaderis, 1998; Mua y Jackson, 1997; Tang *et al.*, 2002).

La amilopectina tiene un peso molecular mucho mayor que la amilosa, alrededor de 107-109 kDa (Buléon *et al.*, 1998; Morrison y Karkalas 1990; Thompson 2000). Dependiendo de la fuente botánica, la amilopectina es el principal componente en la mayoría de los almidones (70-80%), alcanzando en ciertos casos, niveles de hasta 98-99% en los almidones tipo cerosos (Erlingen y Delcour, 1995).

El GPn está típicamente en el intervalo de 9600-15900 pero comprende tres especies predominantes con GPn de 13400-26500, 4400-8400 y 700-2100. La amilopectina está compuesta de cadenas A o cadenas cortas, con un GP de 15 a 20, cadenas B o cadenas largas con un GP entre 40-50, aunque en diversos almidones pueden alcanzar valores mayores hasta de 80 y un grupo reductor o cadena C (Buléon *et al.*, 1998; Tester *et al.*, 2004).

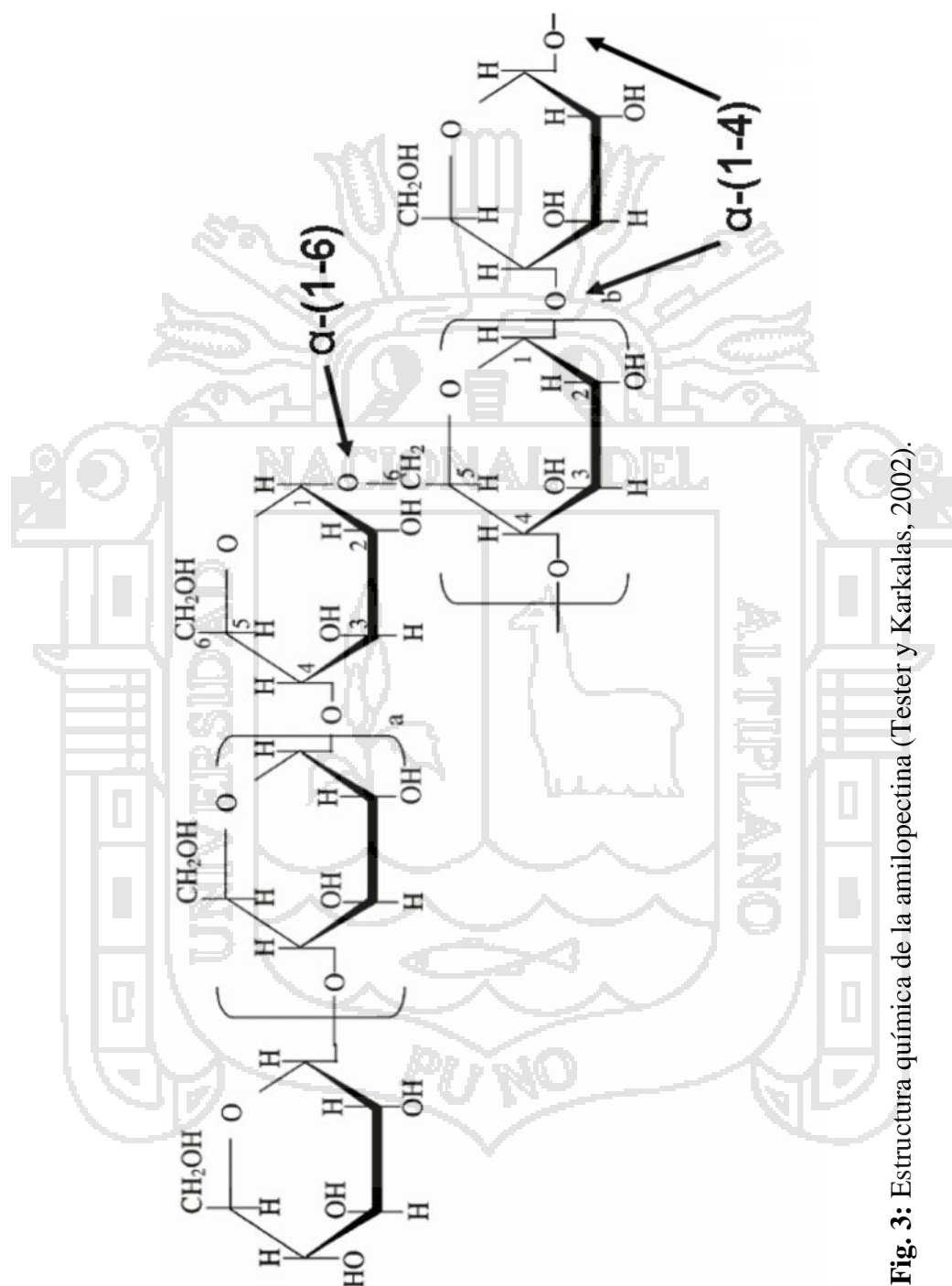


Fig. 3: Estructura química de la amilopectina (Tester y Karkalas, 2002).

2.2.2.3. AMILOSA Y AMILOPECTINA EN EL GRÁNULO DE ALMIDÓN

El almidón está organizado en partículas discretas conocidas como gránulos, cuya morfología, composición química y estructura molecular (arreglo relativo de las macromoléculas en estado sólido), son distintas de una especie a otra. Debido a que la amilopectina es el componente más abundante en el almidón, este polímero es responsable de que el gránulo presente (Tang *et al.*, 2002):

- 1.- Una estructura organizada en forma de anillos (Fig. 4), las moléculas de amilopectina se alinean a lo largo de un eje imaginario que se extiende desde el hilio (punto de origen) del gránulo hasta el exterior del mismo.
- 2.- Cierta propiedad semicristalina formando así dos regiones (Fig. 4); una cristalina y otra amorfa, que dan al gránulo su característica de birrefringencia.

Fenómeno conocido como la cruz de malta. La región cristalina está formada por cadenas de amilopectina estructuradas en racimos, mientras que la región amorfa está formada por puntos ramificados entre la amilopectina y la amilosa.

La amilopectina se encuentra en racimos (Figura 5) dentro del gránulo de almidón. Esto originaba que las regiones cristalinas y amorfas, se organizaran en forma alternada. Las cadenas se organizan en dobles hélices, las cuales tienen una longitud aproximada de 9 nm de largo. Las regiones amorfas, se presentan a intervalos de 2-4 nm y contienen la mayor cantidad de enlaces $\alpha(1-6)$, siendo relativamente susceptibles a agentes hidrolíticos, mientras que la región cristalina compuesta por moléculas de amilopectina en forma de racimos tiene 5-7 nm de diámetro y 10-15 nm de longitud (Blennow *et al.*, 2002).

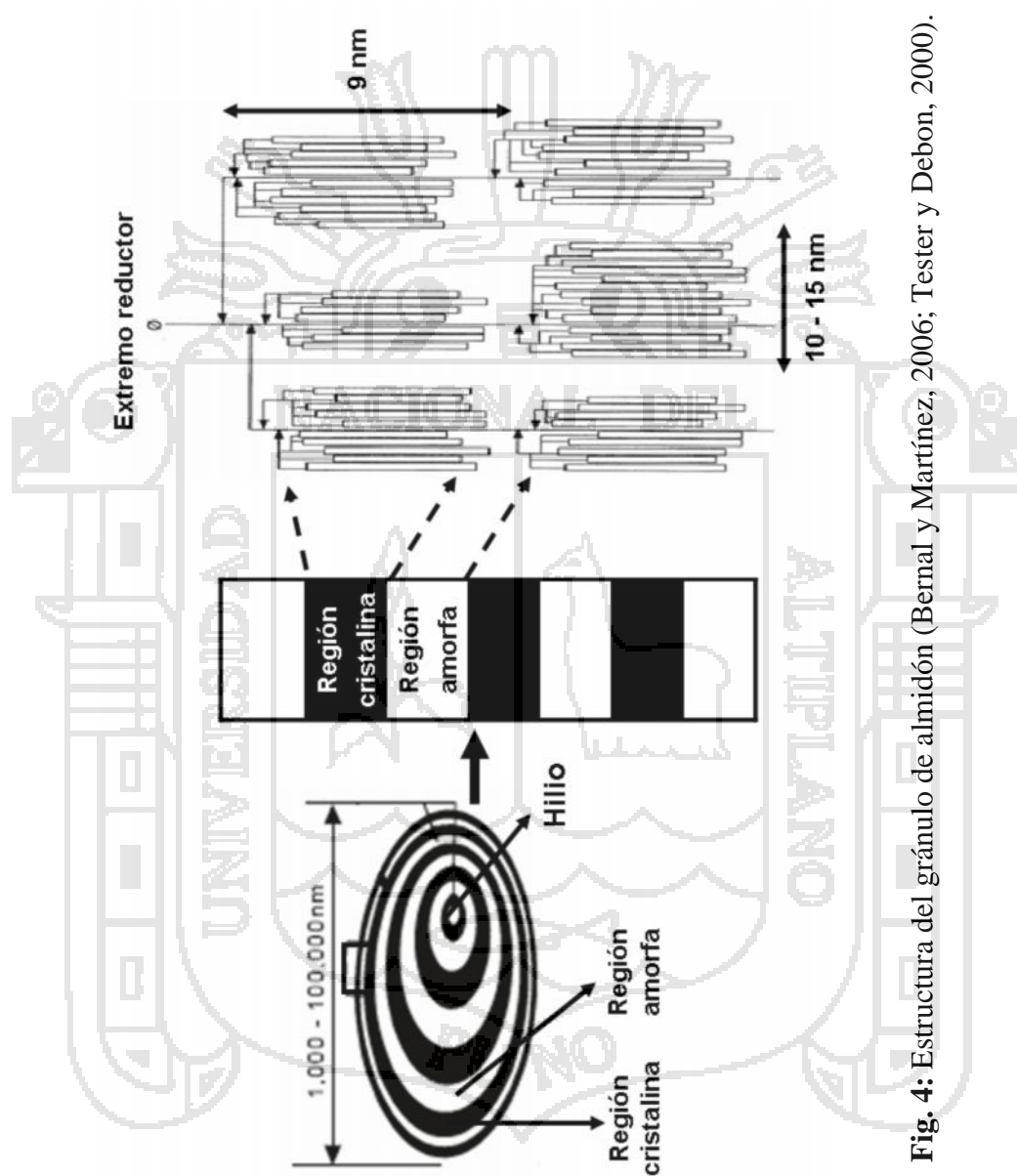


Fig. 4: Estructura del gránulo de almidón (Bernal y Martínez, 2006; Tester y Debon, 2000).

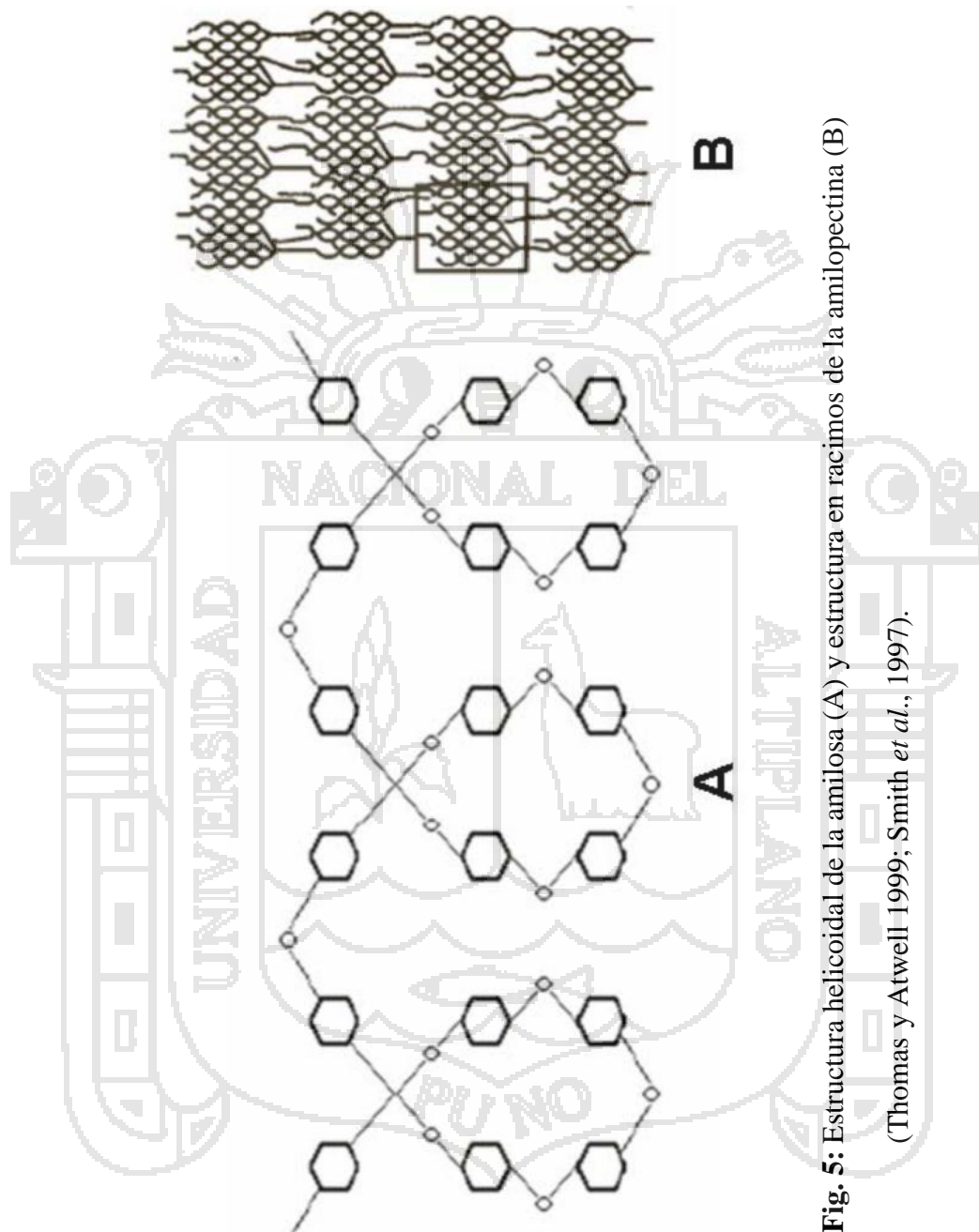


Fig. 5: Estructura helicoidal de la amilosa (A) y estructura en racimos de la amilopectina (B)
(Thomas y Atwell 1999; Smith *et al.*, 1997).

Cuando los gránulos se extraen y se secan, tienen la apariencia de un polvo blanco y presentan la propiedad de ser insolubles en agua fría. De forma general, presentan una composición química con bajos contenidos en proteínas, cenizas, lípidos y el resto lo conforma el almidón propiamente dicho. Estos constituyentes en muchas ocasiones definen ciertas propiedades funcionales, por lo cual, la estructura del almidón necesita ser estudiada a dos niveles distintos: (Biliaderis, 1991).

- A nivel molecular, se refiere a la cantidad, estructura fina, forma y tamaño de las moléculas que lo conforman.
- A nivel de estructura supermolecular del gránulo

2.2.2.4. PROTEÍNAS EN EL GRÁNULO DE ALMIDÓN

Además de amilosa y amilopectina, los gránulos de almidón contienen otros componentes minoritarios como son proteínas, lípidos y minerales. De estos, las proteínas y lípidos son los más abundantes y tecnológicamente importantes (Tovar, 2008).

Las proteínas son compuestos de alto peso molecular que se encuentran asociados al gránulo de almidón, se pueden dividir en dos grandes categorías:

- 1.- Proteínas de almacenamiento, las cuales permanecen unidas indirectamente a la superficie del gránulo, son solubles en agua.
- 2.- Proteínas asociadas al gránulo de almidón, están unidas a la superficie del gránulo de almidón y/o conforman su estructura interna.

2.3. ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes son ingredientes importantes que protegen la calidad de los alimentos retardando la oxidación. (Hellinwell, 1990).

Los antioxidantes son una forma de defensa del cuerpo humano contra los radicales libres. Son agentes que inhiben o neutralizan el daño potencial que los radicales libres pueden ocasionarnos. Nuestro organismo no puede fabricar los antioxidantes, por ello necesitamos consumirlos. Los antioxidantes más conocidos son: vitamina C, vitamina E, Beta-caretone (una forma de vitamina A) y Selenium (mineral) (Reardon, 2009).

Los antioxidantes son sustancias que pueden retrasar el inicio o reducir la velocidad de oxidación de las sustancias auto-oxidables (Fennema, 2000).

Además que los antioxidantes retardan el desarrollo de sabores inadecuados prolongando el periodo de inducción por lo que su adición al final de este período no consigue retardar el desarrollo del enranciamiento (Pokorny *et al.*, 2001).

Aunque no se les puede considerar sustancias esenciales, ya que no se requieren para nuestro metabolismo, son indispensables a largo plazo para nuestra salud. Intervienen ejerciendo un efecto protector del sistema cardio circulatorio, reductor de la presión sanguínea, regulador de la glucemia y la colesterolemia, reductor del riesgo de cáncer y mejorador de la respuesta defensivo inmunitaria de nuestro cuerpo (Palencia, 2004).

Así también, los radicales libres participan en la iniciación y promoción de la carcinogénesis multi-etapa. Estos compuestos altamente reactivos pueden actuar como iniciadores y/o promotores, causar daños del ADN, activar pro-carcinógenos, y alterar el sistema celular de defensa antioxidante. Los antioxidantes funcionan como inhibidores, tanto de la iniciación como de promoción de la carcinogénesis y protegen las células contra el daño oxidativo (Sun, 1990).

2.3.1. ESTRÉS OXIDATIVO

El oxígeno está asociado a las condiciones de vida aerobia, representa la fuerza motriz para el mantenimiento del metabolismo y viabilidad celular al mismo tiempo que involucra un peligro potencial debido a las características paramagnéticas de este gas, responsable de la formación de intermediarios parcialmente reducidos y dotados de una reactividad alta conocidas como especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) (Trejo, 2010).

Las ROS son radicales libres (RL) o precursores de radicales. En los orbitales, los electrones giran en pares con un espín particular, esto se conoce como máxima estabilidad natural; por tanto, si hay electrones desapareados en un orbital, se generan especie moleculares altamente reactivas que tienden a robar un electrón de cualquier otro átomo para compensar su deficiencia electrónica. El oxígeno, es el principal radical libre, ya que él tiene dos electrones desapareados (Shetty *et al.*, 2007).

Entre las ROS destacan: Las ROS tienen un origen tanto endógeno, como exógeno. Entre las fuentes endógenas destacan:

- La cadena respiratoria, donde la reducción monovalente de la molécula de oxígeno da lugar a la formación de la mayoría de las ROS.
- Las células fagocitarias (neutrófilos, monocitos o macrófagos), utilizan el sistema de la NADPH oxidasa generando directamente al ión superóxido (O_2^-). Por otra parte, como mecanismo de defensa, dichas células también generan óxido de nitrógeno (NO), por acción de la óxido-nítricosintasa sobre la arginina intracelular.

- La autooxidación de compuestos de carbono tales como aminoácidos, proteínas, lípidos, glicósidos y ácidos nucleicos dan lugar también a la formación de estos radicales.
- La activación catalítica de diversas enzimas del metabolismo intermediario como la hipoxantina, xantina oxidasa, aldehído oxidasa, monoamino oxidasa y ciclooxigenasa, lipoxigenasa, son fuentes representativas de esta producción (Trejo, 2010).

Las fuentes exógenas de radicales libres pueden ser:

Ambientales.- Radiación electromagnética, luz solar, ozono, tabaco, etc.

Farmacológicas.- Xenobióticos, drogas, etc.

Nutricionales.- Contaminantes, aditivos, pesticidas, etc.

2.3.2. DAÑO OXIDATIVO A BIOMOLÉCULAS

Son muchas las ROS que actúan como oxidantes biológicos, pero el O_2 es el mayor reductor, la simple adición de un protón da lugar a la formación de HO_2 , convirtiéndose este en un agente oxidante muy activo (Trejo, 2010). Estas transformaciones se resumen de la siguiente forma:



Fig. 6: Mecanismo de reacción del radical superóxido. (Trejo, 2010).

Las ROS producen acciones diversas sobre el metabolismo de los principios inmediatos, que pueden ser el origen del daño celular:

- Sobre los lípidos poliinsaturados de las membranas produciendo pérdida de fluidez y lisis celular como consecuencia de la peroxidación lipídica (PL).
- Sobre los glicósidos, actúan alterando las funciones celulares tales como las asociadas a la actividad de las interleucinas y la formación de prostaglandinas, hormonas y neurotransmisores.
- Sobre las proteínas produciendo inactivación y desnaturalización.
- Sobre los ácidos nucleicos mediante la modificación de bases produciendo mutagénesis y carcinogénesis.

2.3.3. PROCESOS FISIOLÓGICOS Y FISIOPATOLÓGICO RELACIONADOS CON LOS RADICALES LIBRES

Ante el estrés oxidativo el organismo responde con la defensa antioxidante, pero en determinadas ocasiones puede ser insuficiente, desencadenando diferentes procesos fisiológicos y fisiopatológicos. En la actualidad son muchos los procesos relacionados con la producción de radicales libres como son: mutagénesis, transformación celular, cáncer, arteriosclerosis, infarto de miocardio, diabetes, enfermedades inflamatorias, trastornos del sistema nervioso central, envejecimiento celular, etc. (Shetty *et al.*, 2007).

2.3.4. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Los compuestos antioxidantes en los vegetales según su naturaleza de solubilización se han dividido en hidrofílicos (compuestos fenólicos y vitamina C) y lipofílicos (carotenoides y vitamina E). La capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos se debe principalmente a sus propiedades rédox, las cuales les permiten actuar como agentes reductores, donadores de hidrógeno y electrones e inhibidores de oxígeno individual, mientras que la acción antioxidante de la vitamina C se debe a que posee dos

electrones libres que pueden ser captados por los ROS los mismos que carecen de un electrón en su estructura molecular. Los carotenoides son desactivadores de moléculas sensibilizadoras excitadas electrónicamente, las cuales están involucradas en la generación de radicales y oxígeno individual; y la actividad antioxidante de la vitamina E se caracteriza por la donación de hidrógeno (Peris *et al.*, 1995).

La capacidad antioxidante de los polifenoles está afectada por su estructura. Cuando se determina la capacidad antioxidante, ésta se ve afectada por el tipo de solvente de extracción, el proceso de aislamiento, la pureza del componente activo, así como el sistema de análisis y el sustrato a ser protegido por el antioxidante (Moure *et al.*, 2001).

Son varios los compuestos cromógenos (ABTS, DPPH, FRAP, entre otros) que se utilizan para determinar la capacidad de los compuestos fenólicos que contienen los alimentos, para captar los radicales libres (Saura y Goñi, 2006).

Entre los métodos más usados se encuentra el de capacidad antioxidante equivalente en Trolox o TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity, por sus siglas en inglés). En este método se cuantifica la capacidad de un compuesto antioxidante para captar el radical libre ABTS⁺ (Ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)). Este radical catión pre-formado por oxidación de ABTS con persulfato potásico, es reducido por la presencia de antioxidantes. Para ello, se mide la decoloración producida en la mezcla por el antioxidante y se valora frente a un control sin antioxidante. Con el ABTS se puede medir la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica. El radical ABTS⁺ tiene la ventaja de que su espectro presenta máximos de absorbancia a 414, 654, 754 y 815 nm en medio alcohólico (Re *et al.*, 1999).

2.3.4.1. COMPUESTOS FENÓLICOS

El descubrimiento de las propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos, su gran abundancia en nuestra dieta, y su papel en la prevención de enfermedades asociadas al estrés oxidativo (Scalbert y Williamson, 2000), ha despertado un gran interés, desde el punto de vista científico y empresarial, sobre estos compuestos.

Antiguamente, los polifenoles se consideraban antinutrientes porque tenían la peculiaridad de precipitar macromoléculas como proteínas, carbohidratos y enzimas digestivas, reduciendo la digestibilidad de algunos alimentos. Sin embargo, en la década de los 90 aumentó el interés por los polifenoles debido a sus posibles efectos beneficiosos sobre la salud. Se propusieron efectos favorables en enfermedades cardiovasculares (Renaud y Lorgeuil, 1992) o neurodegenerativas (Sun *et al.*, 2002), en la prevención y tratamiento de distintos tipos de cáncer (Lambert *et al.*, 2005) y, en general, en todas aquellas enfermedades donde el estrés oxidativo tuviera un papel importante. Estos efectos beneficiosos se explicaban fundamentalmente por las propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas (Yang *et al.*, 2001) que presentaban los polifenoles.

Los polifenoles constituyen una de las clases principales de metabolitos secundarios de las plantas, donde desempeñan diferentes funciones fisiológicas: intervienen en el crecimiento y reproducción y en procesos defensivos frente a patógenos, predadores o radiación ultravioleta.

Los compuestos fenólicos presentan un anillo benceno hidroxilado como elemento común en sus estructuras moleculares, las cuales pueden incluir grupos funcionales como ésteres, metil ésteres, glicósidos, etc. (Duthie y Crozier, 2000).

Aunque existe una gran variedad de compuestos fenólicos en vegetales (se conocen más de 8000), la mayor parte de ellos tienen como origen metabólico común la ruta del ácido shikímico y el metabolismo de los fenilpropanoides (Robards *et al.*, 1999). Esta ruta biosintética conduce a la producción de ácidos benzoico y cinámico, así como a aminoácidos aromáticos (fenilalanina y tirosina).

Las distintas familias de compuestos fenólicos se caracterizan principalmente por el número de átomos de carbono que forman su esqueleto básico molecular (Tabla 3).

Tabla 3: Clasificación de los polifenoles.

Nº DE ÁTOMOS DE CARBONO	ESTRUCTURA	TIPO
6	C6	Fenoles Simples Benzoquinonas
7	C6-C1	Ácidos Fenólicos
8	C6-C2	Derivados de Tirosina, Ácidos Fenilacéticos
9	C6-C3	Ácidos Cinámicos, Fenilpropenos, Cumarinas
10	C6-C4	Naftoquinonas
13	C6-C1-C6	Xantonas
14	C6-C2-C6	Estilbenos, Antraquinonas
15	C6-C3-C6	Flavonoides, Isoflavonoides
18	(C6-C3) ₂	Lignanós, Neolignanós
30	(C6-C3-C6) ₂	Bioflavonoides
n ⁹	(C6-C3) _n	Ligninas
n ⁶	(C6) _n	Melaninas Catecólícas
n ¹⁵	(C6-C3-C6) _n	Taninos Condensados

Fuente: Robards *et al.*, 1999

Los niveles de éstos compuestos pueden variar considerablemente dentro de la misma especie vegetal, e incluso entre sus variedades, debido a factores genéticos y ambientales que condicionan la germinación, el crecimiento y calidad de los cultivos (Scalbert y Williamson, 2000).

En los alimentos, los compuestos fenólicos se suelen presentar conjugados con azúcares como glucosa, galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa, o los ácidos glucurónico y galacturónico. También pueden unirse a ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas y lípidos (Duthie *et al.*, 2003).

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se atribuye a su facilidad para ceder átomos de hidrógeno de un grupo hidroxilo aromático a un radical libre y a la posibilidad de deslocalización de cargas (efecto resonante) en el sistema de dobles enlaces del anillo aromático (Duthie *et al.*, 2003). Los compuestos fenólicos poseen, además, una estructura química ideal para captar iones metálicos (principalmente hierro y cobre) y por tanto para inhibir la formación de radicales libres a través de reacciones Fenton. El tipo de compuesto, el grado de metoxilación y el número de grupos hidroxilo son algunos de los parámetros que determinan esta actividad antioxidante.

Muchos de estos compuestos fenólicos son, además, responsables de las propiedades organolépticas de los alimentos de origen vegetal y por tanto, influyen directamente en la calidad de algunos de ellos (Barberán y Espín, 2001). Entre los compuestos fenólicos encontramos pigmentos, como los antocianos, responsables de los tonos rojos, azules y violáceos característicos de muchas frutas, hortalizas y del vino tinto; o los flavonoles presentes principalmente en frutas y hortalizas que dan un color crema-amarillento (ver figura 7).

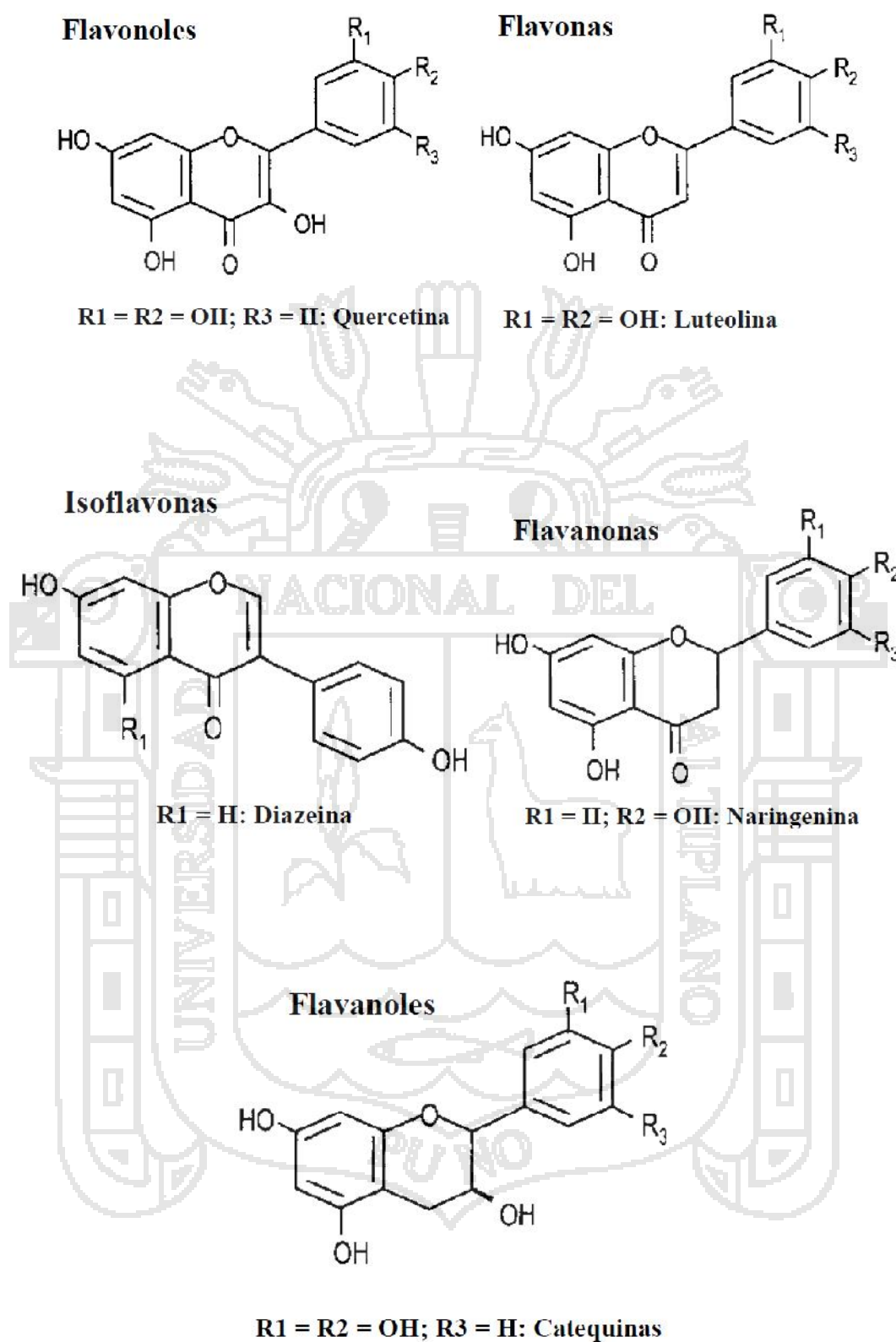


Fig. 7: Estructura química de algunos flavonoides (Manach *et al.*, 2004).

2.3.4.2. FLAVONOIDES

Los flavonoides son la subclase de polifenoles más abundante del reino vegetal. Se distribuyen en las plantas de manera ubicua y la variedad de propiedades biológicas que presentan ha llamado poderosamente la atención de los investigadores, siendo éste el grupo de polifenoles más estudiado. Forman parte del metabolismo secundario de plantas, siendo responsables de su crecimiento y exhibiendo determinadas interacciones con otros organismos vivos. Son responsables de la pigmentación de los pétalos en las flores de tonos amarillos, rojos y naranjas, atrayendo así a los agentes polinizadores. También tienen la capacidad de proteger a las plantas del daño provocado por los rayos UV y del ataque de insectos y patógenos (Yajum, 2005).

Pueden actuar como antibióticos y antioxidantes, siendo estas dos propiedades las más estudiadas en plantas y en humanos (Pietta, 2000).

Estos compuestos fueron descubiertos por el premio Nobel Szent-György, quien en 1930 aisló una sustancia de la cáscara del limón denominada citrina, con acción modificadora de la permeabilidad capilar. Los flavonoides, en primer lugar, atrajeron el interés de los farmacólogos cuando se describieron sus propiedades similares a las vitaminas. Por éste motivo, se designaron como vitamina P (que hace referencia a la permeabilidad) y también vitamina C2 (porque algunos tenían propiedades análogas a la vitamina C). Sin embargo, como no fue posible confirmar que fueran vitaminas, ambas designaciones se dejaron de usar alrededor de 1950 (Martínez *et al.*, 2002).

Posteriormente, se han descrito para los flavonoides propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antiagregantes, antihemorrágicas, vasodilatadoras, antineoplásicas, antivirales, antibacterianas, antialérgicas y hepatoprotectoras (Middleton *et al.*, 2000). A

partir de estas evidencias, los flavonoides han ido ganando interés como potenciales agentes terapéuticos frente a una amplia variedad de enfermedades. Por otra parte, los efectos curativos de muchos remedios propuestos por la medicina natural pueden ser atribuidos al empleo de estas moléculas.

2.3.4.3. FLAVONOLES

En este grupo de polifenoles, algunos miembros destacan por su actividad antiinflamatoria (Nijveltd *et al.*, 2001), antioxidante (Harborne y Williams, 2000) y antimicrobiana (Cowan, 1999). Dentro del grupo de flavonoles y derivados hidroxilados, acilados, glicosilados o metilados, se incluyen: quercetina (figura 8), miricetina, kaempferol y rutina, entre otros (Willits *et al.*, 2004).

La sustitución del hidrógeno en el carbono 3 del anillo C de las flavonas por el grupo 3-hidroxi genera los flavonoles (Willits *et al.*, 2004). La biosíntesis de flavonoles ocurre directamente mediante la reducción de flavanonas por la flavonol sintetasa (FLS) (Dixon y Steele, 1999).

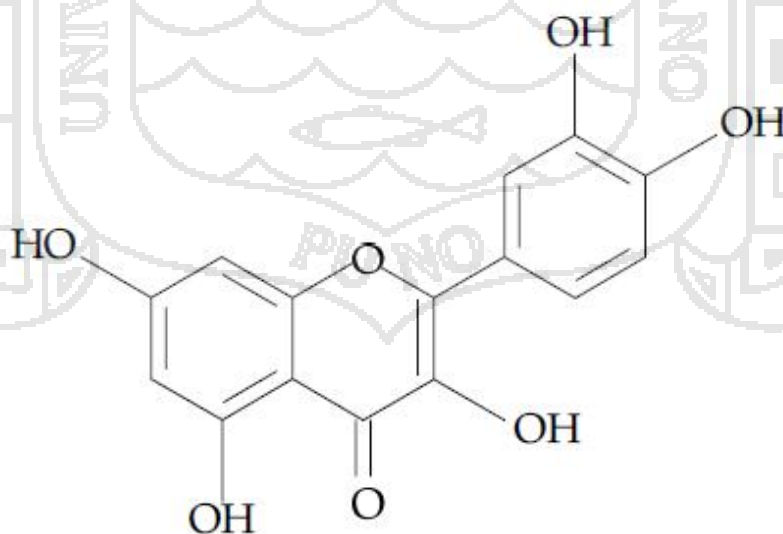


Fig. 8: Estructura química de Quercetina (Dixon y Steele, 1999).

También pueden ser sintetizadas por una ruta indirecta, que consiste en la hidroxilación de flavanonas en el carbono 3 del anillo C por la enzima flavanona 3- - hidroxilasa (F3H), para generar dihidroflavonoles que posteriormente son reducidos, mediante instauración, por la enzima FLS, dando lugar a flavonoles (Turnbull *et al.*, 2004).

Estos flavonoides poseen una coloración amarillenta y son los más frecuentes en los alimentos, siendo muy abundantes en vino tinto, té, cebolla, escarola y brócoli (Manach *et al.*, 2004).

2.3.5. COMPUESTOS BIOACTIVOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL ISAÑO

Los tubérculos de isaño presentan la mayor actividad antioxidante en comparación con otros cultivos andinos (papas coloreadas, olluco y oca) (Campos *et al.* 2006).

El isaño morada presenta entre ocho y diez veces más capacidad antioxidante que el isaño amarilla y al evaluar tres variedades diferentes de tubérculos de isaño morada (DP 0224, ARB 5241 y AGM 5109), encontraron que sólo para uno de éstos, las antocianinas contribuyeron más a la actividad antioxidante, sugiriendo que otros fenólicos juegan un mayor rol en la actividad antioxidante de estos tubérculos (Chirinos *et al.* 2006).

Los compuestos fenólicos son responsables directos de la actividad antioxidante ORAC. Las proantocianidinas contribuyen significativamente en la actividad antioxidante total de los tubérculos de isaño pero otros fenólicos como los ácidos fenólicos, monómeros de flavan-3-oles, flavonoles y antocianinas también contribuyen (Chirinos *et al.* 2008a)

El contenido de compuestos fenólicos sufre un aumento durante la primera semana de soleado, descendiendo significativamente a partir de la segunda semana de soleado,

llegando a un contenido de antocianinas totales de 67.9% en de tres cultivares durante las 5 semanas de soleado. Con respecto a la capacidad antioxidante, ésta tiende a permanecer casi constante durante los períodos de soleado (Pérez 2005).

Los flavonoides presentan mayor o menor capacidad antioxidante en función del número y posición de sus grupos hidroxilo unidos a las estructuras de anillo (Rice-Evans, 2001). Resultados *in vitro*, indican que los compuestos fenólicos del isaño son capaces de atrapar radicales peroxilo, así como los iones de metales redox. Estos efectos protectores pueden depender de su composición fenólica en términos de la partición de lipofílica/hidrofílica, y de las estructuras moleculares que definen su reactividad frente a los radicales libres (Chirinos *et al.*, 2008b).

2.3.6. EFECTO DE LAS OPERACIONES UNITARIAS EN LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS

2.3.6.1. EFECTO DEL CORTADO

Operaciones tales como pelar, cortar y rebanar inducen a una rápida disminución de varios antioxidantes naturales (es decir, ácido ascórbico, polifenoles, etc) por acción enzimática (Nicoli *et al.*, 1999).

De igual manera, Lana y Tijskens, (2006) afirman que los tejidos cortados sufren estrés oxidativo, ocasionando daños en la membrana, la modificación de la composición y el contenido de compuestos antioxidantes, lo que resulta en cambios en la actividad antioxidante total del tejido.

Además, hay que destacar que ésta pérdida de capacidad antioxidante también se puede relacionar con la pérdida de vitaminas por su solubilidad en agua, transferencia de masa, sensibilidad al calor y la oxidación enzimática (Selman, 1994).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

El trabajo de investigación se ejecutó en el laboratorio de Evaluación Nutricional de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional del Altiplano - Puno ubicado a una altitud de 3824 m.s.n.m.

3.2. MATERIAL EXPERIMENTAL

Se ha utilizado accesiones del material genético proveniente de la colección local de tuberosas andinas del PNI. Recursos Genéticos del Instituto Nacional de Innovación Agraria – Illpa; de los cuales se ha seleccionado 10 accesiones, los cuales son: A001, B002, E005, F006, G007, H008, I009, J010, K011 y L011, cuyas semillas se sembraron en el campo experimental del CIP Camacani de la Universidad Nacional del Altiplano. Cabe señalar que cada una de las accesiones seleccionadas tiene características específicas que la hace más apropiado para un determinado uso, tal como se indica en la Tabla 4.

Tabla 4. Características generales de las accesiones de isáño utilizadas en el estudio

ACCESIONES	CODIFICACIÓN DE INIA	FORMA y TAMAÑO	PIEL	PULPA
A001	03-20-121	Cónica mediana	Amarillo	Amarilla
B002	03-21-122	Elipsoidal grande	Amarillo	Amarilla
E005	03-21-086	Cónica grande	Amarillo	Amarilla
F006	03-21-093	Cónica grande	Amarillo con pocas líneas rojas	Amarilla
G007	03-21-096	Elipsoidal grande	Amarillo con muchas líneas rojas	Amarilla
H008	0.-21-099	Cónica mediana	Amarillo	Amarilla
I009	INIA-1	Elipsoidal grande	Amarillo	Amarilla
J010	INIA-2	Elipsoidal mediana	Amarillo	Amarilla
K011	INIA-3	Elipsoidal grande	Amarillo	Amarilla
L012	INIA-4	Cónica grande	Amarillo	Amarilla

Fuente: INIA (2013)

3.3. MATERIALES Y EQUIPOS

3.3.1. Materiales

- Recipientes para lavado
- Escobillones con mango de madera
- Pinzas
- Papel de aluminio
- Tubos de ensayo 20, 50 y 100 mL
- Espátula
- Tabla para cortar
- Caja de muestra 0.2x0.2x0.15 m de tecnopor
- Filtradores
- Cutter manual
- Erlenmeyer de 50, 100 y 250 mL.
- Fiolas de 10, 20, 50 y 100 mL.
- Pipetas de 1, 5 y 10 mL.
- Probetas de 10, 50, 100 y 250 mL.
- Termómetros
- Tamiz N° 80 (0.17mm) y N° 100 (0.14) de tipo U.S.A.
- Mortero y pilón de porcelana
- Papel de aluminio

3.3.2. Equipos de laboratorio

- Agitador eléctrico OVAN.
- Balanza analítica KERN, capacidad 0-220 g, sensibilidad $\pm 0,0001$ g.

- Centrífuga JANETZKI.
- Computadora TOSHIBA.
- Cronómetro CASIO.
- Espectrofotómetro UNICO.
- Extractor de jugos, NATIONAL.
- Mufla LABOR MUSZCRIPARINUVEEK.
- Micropipeta de 10–50 μ L marca TRANSFERPETTE y 100–1000 μ L, marca LABOPETTE.
- Refrigeradora congeladora GENERAL ELECTRIC.

3.3.3. Reactivos

- Agua destilada
- Metanol (J.F. Importaciones)
- Hidróxido de sodio en lentejas (Merk)
- ABTS “2,2 – Azino – bis (3 – ethylbenzothiazoline – 6 – sulfónico ácido)”
(Química servicea)
- Persulfato de potasio (Implementos y Reactivos)
- Ethanol (Sigma - Aldrich)

3.4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

El presente trabajo de investigación se divide en dos partes:

- Primero: Para conocer el rendimiento de almidón en 10 accesiones de isaño en el proceso de tuberización, siguiendo la metodología propuesta por Hanco (2007).

- Segundo: Es obtener la capacidad antioxidante en 10 accesiones de isaño durante el proceso de tuberización, siguiendo la metodología propuesta por Arnao (2001).

3.4.1 Clasificación de las 10 accesiones de isaño

Para la determinación del almidón y la capacidad antioxidante primeramente se obtuvo las muestras del material genético de la colección local de tuberosas andinas del PNI. Recursos Genéticos - INIA Illpa Puno; del cual, fue seleccionado una cantidad de 10 accesiones clasificándolas por colores en la cascara, pulpa y de formas del tubérculo, siendo su tamaño de tamaño mediano.

3.4.2. Descripción de la determinación del rendimiento de almidón y la capacidad antioxidante en el proceso de tuberización

En el presente trabajo de investigación para el análisis de rendimiento y la capacidad antioxidante fue la siguiente:

La materia prima se sembró en la comunidad de Camacani del distrito de Acora para determinar el rendimiento de almidón y la capacidad de antioxidante en el tubérculo. La cual el proceso de tuberización duro 90 días. Cada análisis se realizó en los días 0, 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días programados, donde primeramente se realizó la recepción de la materia prima de las 10 accesiones de isaño, luego se procedió a seleccionar los isaño, para luego clasificar los isaño en su forma y color, se hizo un lavado en esta operación se eliminaron todas las impurezas que existían en la superficie del isaño, empleando para ello una escobilla y abundante agua. Y finalmente se realizó el pesado en esta operación se pesó el isaño con el fin de encontrar el rendimiento de almidón propuesto por Hanco (2007) y la utilización de solventes para ver la capacidad antioxidante propuesto Arnao

(2001). El presente trabajo de investigación se ha realizado según el diagrama experimental mostrado en la Figura 9.

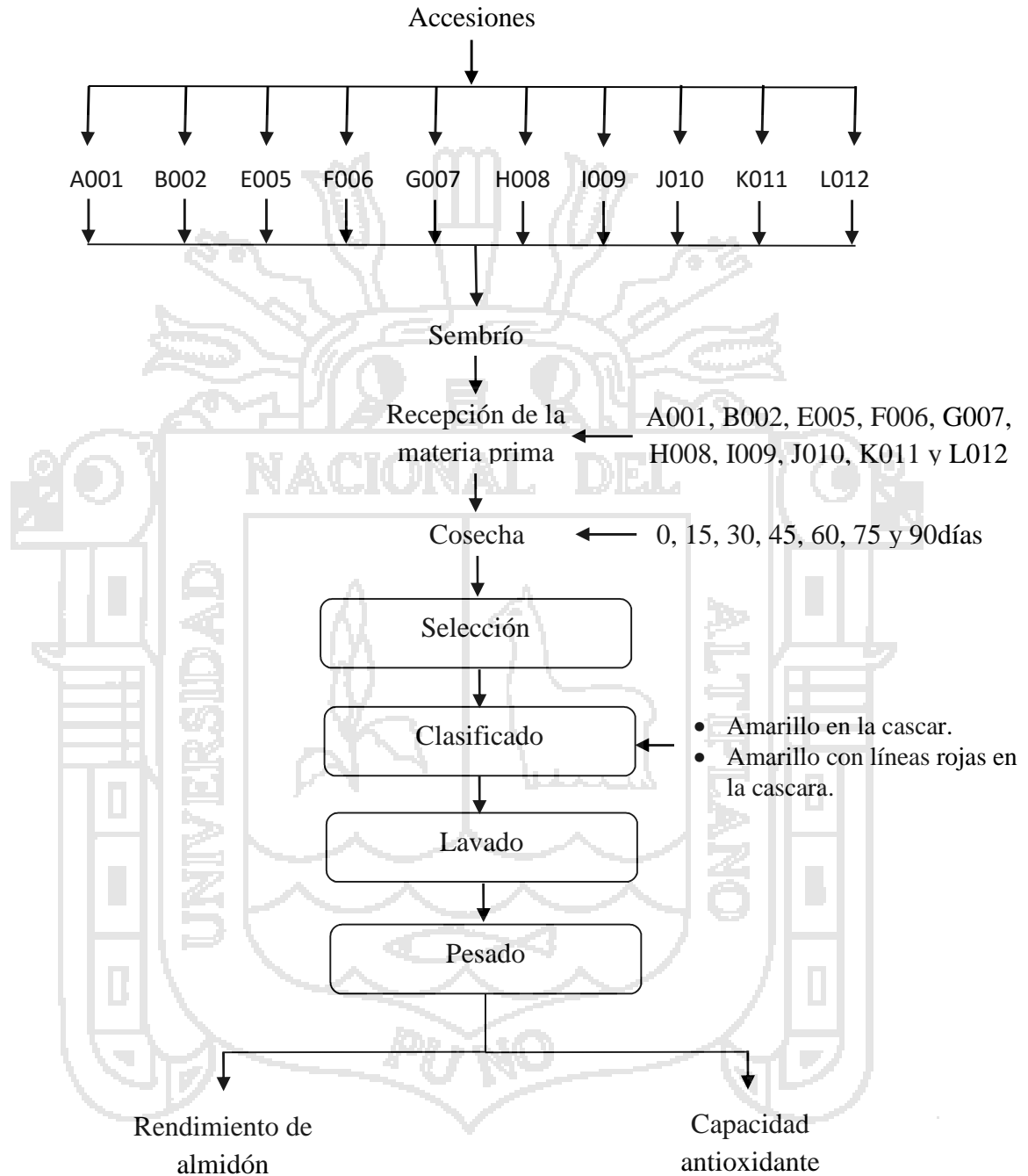


Fig. 9: Diagrama de flujo para el estudio del rendimiento de almidón, la capacidad antioxidante en 10 accesiones de isañ. (Elaboración propia, 2014)

3.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS

3.5.1. Determinación del rendimiento de almidón

Se realizó primeramente la selección de la materia prima, la cual, se somete a un proceso de inspección.

Eliminación de residuos y elementos extraños, así como para descartar el isaño dañados.

Pesado se realiza para obtener el rendimiento del producto final.

Lavado a los tubérculos seleccionados, se realizó el lavado en abundante agua corriente con la ayuda de escobillas, eliminando la tierra de los ojos para garantizar la obtención de un producto final y sin impurezas.

Trozado se realizó con la finalidad de facilitar el proceso de pulpeado, se llevó a inmersión los trozos de isaño son sometidos a una solución de bisulfito de sodio por un tiempo de 5 minutos. La relación (isaño; agua) debe ser de 1:1 respectivamente.

Licuada se realizó para reducir a partículas más pequeñas con la finalidad de que los gránulos de almidón se liberen.

Sedimentación la suspensión es dejada en reposo por un tiempo mínimo de 10 minutos (siendo mejor un tiempo más prolongado) para permitir la separación de almidón del agua de inmersión y obtener un buen rendimiento,

Decantación se procedió a decantar cuidadosamente, eliminándole agua sobrenadante que contiene agua proteínica, impurezas partículas de fibra o celulosa y algo de almidón.

Tamizado esta operación es importante para lograr un producto final lo más blanco posible, se realizó el lavado con agua sulfitada, repitiendo esta operación por dos veces. Entre lavado y lavado se realizó el filtrado por tamices N° 80 y 100, para obtener un almidón exento de impurezas.

Decantación se obtuvo luego de la sedimentación final un almidón purificado con un contenido de humedad de 50% aproximadamente.

Secado se realizó entre 40 a 45 °C por un tiempo de 3.5 a 4 horas.

Refinado proceso necesario debido a que el almidón luego de secado presenta un aspecto de grumos que son necesarios refinarse para uniformizar las partículas.

El rendimiento será calculado por la metodología de Hannco, 2007, el peso del almidón extraído entre el peso de la materia prima multiplicado por 100 para expresarlo en porcentaje (%) como muestra la siguiente fórmula.

$$\text{RENDIMIENTO} = \frac{\text{peso de almidón}}{\text{peso de materia prima}} \times 100$$

3.5.2. Preparación de la muestra

Se realizó la extracción de las 10 accesiones de isaño (A001, B002, E005, F006, G007, H008, I009, J010, K011 y L012). Para ello se procedió a utilizar el proceso de extracción optimizado por Chirinos *et al.* (2007), el procedimiento fue el siguiente:

Para la preparación de los extractos se pesaron 50g. de muestra y se colocó en un matraz de 5000mL de capacidad, luego se le añadió 3000mL de una mezcla de solventes de metanol y muestra fresca (en relación 90, 10, v/v), el conjunto se dejó agitando

constantemente durante 60 minutos a temperatura ambiente, se centrifugó las muestras a 4000rpm x 10 minutos, separando el sobrenadante (S1) de la torta.

Se realizó una segunda extracción, la torta se colocó en el matraz de 5000mL de capacidad, donde se añadió 1500mL de la mezcla de solventes, el conjunto se dejó agitando constantemente durante 15 minutos a temperatura ambiente, se centrifugó las muestras a 4000 rpm x 10 minutos, separando el sobrenadante (S2) de la torta.

Los sobrenadantes (S1) y (S2) se juntaron y fueron volatilizados en el rotavapor y se le llevo a congelación (-4°C), luego se procedió a regular el pH entre 1.8-2 con hidróxido de sodio 10N a este concentrado de le denomino extracto bruto (EB).

3.5.3. Determinación de la capacidad antioxidante

Se utilizó la metodología reportado por Arnao, 2001. El procedimiento fue el siguiente: la solución de ABTS se preparó diluyendo 78.4mg y se enrasara a 10mL de agua destilada en una fiola (reactivo A). Por otro lado, también se preparó una solución de persulfato de potasio (reactivo B). Para lo cual se pesó 13.2mg y se enrasara a 10mL en un fiola con agua destilada. Ambas soluciones se almacenaran a temperatura ambiente en un frasco oscuro.

Luego se preparó la solución madre de ABTS^{+2} empleando volúmenes iguales de los reactivos A y B (relación 1:1), se mezclaron bien y se dejó en reposo en la oscuridad por 12 horas a temperatura ambiente, antes de ser usado. La solución madre solo se utilizó las 4 horas después.

De la solución madre se preparó una solución diluida de ABTS^{+2} y se adicionó 60mL de etanol al 96%. Esta solución debe de dar una lectura de absorbancia a 734nm de

1.1 ± 0.02 , de lo contrario debe corregirse agregando etanol o solución madre, según sea el caso (conservar en un frasco ámbar). Se llevó a cero el espectrómetro con etanol.

Para proceder a la cuantificación de la capacidad de antioxidante se tomó 150 μ L de los extractos obtenidos, se adicionó 2850 μ L de solución de ABTS diluida, se agitó por 2 horas y 30 minutos; ya que en este tiempo se mantiene constante a temperatura ambiente. Luego se procedió a realizar la lectura de absorbancia a 734nm. Las lecturas deben estar comprendidas entre 0.1 y 1.05. Se preparó el blanco de la misma manera pero se utilizó en lugar de la muestra etanol. La actividad antioxidante se estimó utilizando un curva estándar teniendo como patrón el Trolox, el cual es una sustancia hidrosoluble análoga de la vitamina E. los resultados se expresaran como μ mol Trolox equivalente/g de isaño en base seca (b.s.) y base húmeda (b.h.). La ecuación de la curva de estándar para la cuantificación de la capacidad antioxidante en etanol es:

$$\mu\text{mol Trolox equivalente/mL} = 0.7836 \times \text{Abs} - 0.001$$

Ecuación de la capacidad de antioxidante es:

$$Y = ((0.7836 \times \text{Abs}) - 0.001) \times Fd \times A$$

Dónde:

Y : μ mol Trolox equivalente/g de muestra fresca.

Abs : absorbancia del blanco – absorbancia de la muestra (734)

Fd : factor de dilución

A : (volumen (mL) de solvente utilizado + peso de la muestra (g.))/peso de la muestra

3.6. UNIDADES DE ANÁLISIS Y OBSERVACIONES

3.6.1. Variables de estudio

a. Acciones de isaño

- A001 (T1)
- B002 (T2)
- E005 (T3)
- F006 (T4)
- G007 (T5)
- H008 (T6)
- I009 (T7)
- J010 (T8)
- K011 (T9)
- L012 (T10)

b. Tiempos tuberización

- (0, 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días) para las 10 acciones de isaño.

3.6.2. Variables de respuesta

- ##### a. Capacidad de Antioxidante.
- ##### b. Almidón.

3.6.3. Indicadores

- ##### a. Capacidad de antioxidante.
- $\mu\text{mol Trolox equivalente/g}$ de muestra fresca.
- ##### b. Almidón
- Porcentaje (%)

3.7. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Para procesar los datos obtenidos durante la investigación se aplicó el análisis de varianza (ANOVA), con un 95.0% de significancia y el test de Duncan ($P < 0.05$) para determinar las posibles diferencias entre las muestras de accesiones de isañ. Se trabajó con el programa estadístico Statgraphics Centurion - StatFolio. Las variables de estudio fueron las accesiones de isañ y tiempo de tuberización. Se utilizó un experimento factorial bajo el diseño completo al azar (DCA) con 3 repeticiones, ajustado al siguiente modelo lineal aditivo:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

$i = 0, 15, 30, \dots$ y 90 (tiempos tuberización)

$j = 1, 2, 3, \dots$ y 10 (accesiones)

$k = 1, 2, 3$ (observaciones)

Dónde:

Y_{ijk} : Es la variable de respuesta del k -ésimo observación bajo la j -ésimo accesiones sujeto a la i -ésimo tiempo de tuberización.

μ : Constante, media de la población a la cual pertenecen las observaciones.

α_i : Efecto de i - ésimo nivel de tiempo de tuberización

β_j : Efecto de j - èsimo accesiones.

$(\alpha\beta)_{ij}$: Efecto de la interacción de i -ésimo nivel de tiempo, en el j -èsimo nivel de accesión.

ε_{ijk} : Efecto del error experimental.

Para la recolección de datos se utilizó el formato mostrado en la anexo I y II, donde se registraron todos los datos experimentales para cada variable de respuesta.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CARACTERÍSTICAS DE LA MATERIA PRIMA

Se trabajó con 10 accesiones de isaño (A001, B002, E005, F006, G007, H008, I009, J010, K011 y L012), que tienen como la pigmentación de color amarillo de la cascara, por la producción y comercialización del tubérculo. Dentro de los cuales las accesiones A001, E005, H008 y L012 tiene una coloración amarilla en la cascara, amarilla en la pulpa y una forma cónica, las accesiones B002, I009, J010 y K011 tiene una coloración amarilla en la cascara, amarilla en la pulpa y tiene una forma elipsoidal, mientras que las accesiones F006 y G007 tiene una coloración de amarillo con líneas rojas, amarilla en la pulpa y tiene forma cónica y elipsoidal. Con relación a la forma y tamaño se observó una gran variabilidad entre las diferentes accesiones y periodo de tuberización.

En Tabla 5, se presenta el contenido de humedad y materia seca promedios de tres repeticiones evaluadas en 10 accesiones de isaño, donde se encuentra reportado en el anexo III.

Tabla 5: Contenido de materia seca y humedad en los tubérculos de isaño fresco.

Accesión	Codificación de INIA	Materia seca (%)	Humedad (%)
A001	03-21-121	15.40±0.134	84.60±0.134
B002	03-21-122	12.45±0.117	87.55±0.117
E005	03-21-086	16.99±0.038	83.01±0.038
F006	03-21-093	17.51±0.006	82.49±0.006
G007	03-21-096	12.53±0.429	87.47±0.429
H008	03-21-099	17.75±0.390	82.25±0.390
I009	INIA-1	14.32±0.075	85.68±0.075
J010	INIA-2	17.01±0.359	82.99±0.359
K011	INIA-3	16.94±0.242	83.06±0.242
L012	INIA-4	12.19±0.061	87.81±0.061

En la Tabla 6 se presenta el análisis de varianza (ANOVA), para ver si existe diferencia significativa en el contenido de humedad entre los tubérculos de isaño. Encontrándose el contenido de humedad del isaño en un rango de 83-88%, lo que coincide con lo reportado por Tapia *et al* (2007), con los valores de humedad entre 79-94%. Así mismo el contenido de materia seca es muy variable encontrándose en un rango de 12 – 17%. Al respecto Ewing y Wareing, (1992) señala que el tubérculo funciona como un órgano de reserva y de almacenamiento masivo para una gama de macromoléculas, principalmente almidón y proteínas. A raíz de algunas señales ambientales específicas, que incluyen fotoperíodo corto, alta intensidad de la luz y niveles bajos de nitrógeno, los estolones son inducidos a formar tubérculos.

Vásquez (1998), señala que existen muchos factores que afectan el contenido de materia seca en los diferentes tubérculos, tal como la variedad, clima, época de siembra. Estos factores estarían relacionados con la etapa de tuberización de las plantas.

Tabla 6: Análisis de varianza del contenido de humedad en 10 accesiones de isaño.

F. de V.	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Fc	Sig.
Entre grupos	137.298	9	15.2553	269.39	**
Dentro grupos	1.1326	20	0.05663		
Total (Corr.)	138.43	29			

4.2. DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DE ALMIDÓN EN EL PERIODO DE TUBERIZACIÓN EN 10 ACCESIONES DE ISAÑO

En la Figura 10 se presentan los resultados promedio de la determinación del rendimiento de almidón en las diez accesiones de isaño amarillos de forma cónica, elipsoidal y isaño amarillo con líneas rojas en el periodo de tuberización (0, 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días). Los datos completos de las 10 accesiones se reportan en el Anexo IV. El fotoperíodo crítico puede definirse como la duración del día en el que la planta induce e inicia la formación de tubérculo. Por ejemplo, la detención del crecimiento de estolón, la iniciación de crecimiento radial, la descarga de sacarosa y su posterior transformación en glucosa y fructosa, para finalmente sintetizar almidones, son todos los eventos que han demostrado ser capaces de regular, activar o inhibir el desarrollo de los órganos de almacenamiento subterráneos del tubérculo. (Vreugdenhil *et al.*, 1999).

Ewing y Wareing, 1992; afirma que el tubérculo funciona como un órgano de reserva y de almacenamiento masivo para una gama de macromoléculas, principalmente almidón y proteínas. Al respecto Samaniego, (2010); que afirma que el periodo vegetativo fluctúa entre cinco meses en las variedades precoces y ocho meses en las tardías.

Durante el primer día de análisis (día "0") se comenzó a ver el rendimiento de almidón de las 10 accesiones de isaño (A001, B002, E005, F006, G007, H008, I009, J010, K011 y L012), teniendo como resultados un promedio de 0.13 a 0.44% de almidón, en el cual la accesión I009 tiene un rendimiento muy alto de 0.44% siguiendo le la accesión E005 teniendo un rendimiento de 0.40% y la accesión H008 con un rendimiento de 0.34% y con menor rendimiento fue la accesión A001 con 0.13%. Según Bernal y Martínez, (2006), la diferencia de rendimiento de almidón varía según la fuente de obtención, periodo vegetativo, variedad, entre otros.

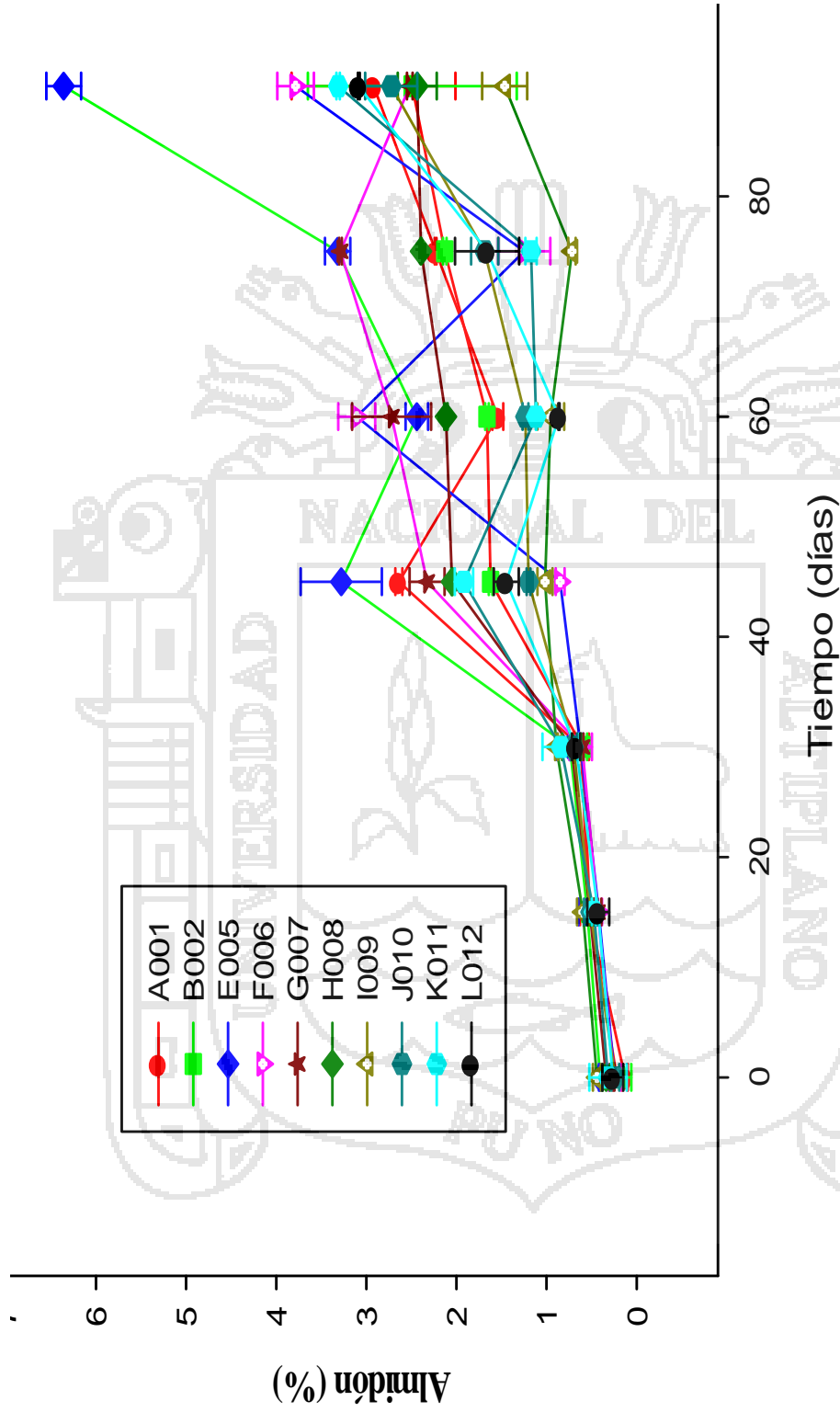


Fig.10: Resultados de la determinación del rendimiento de almidón de las 10 accesiones de isañño (A001, B002, E005, F006, G007, H008, I009, J010, K011 Y L012), durante el periodo de tuberización (0 a 90 días)

Esto también puede ser a raíz de algunas señales ambientales específicas, que incluyen fotoperiodo corto, alta intensidad de luz y niveles bajos de nitrógeno.

Al respecto Dogliotti *et al* (2011) afirma que la tasa de crecimiento de los tubérculos en esta etapa depende entonces solo de la capacidad de fuente del cultivo, o sea de la radiación solar interceptada y de la eficiencia con que el área foliar transforme la radiación en azúcares simples. Además Jackson (2008) afirma que al aumento de división celular y de expansión los reemplazan rápidamente una masiva depositación de proteínas, de almidón y de azúcares como resultado de la expresión coordinada de genes implicados en la biosíntesis de almidón y proteínas.

A los 75 días las accesiones I009 y F006 disminuyen su rendimiento de almidón; esto puede deberse al factor fotoperiodo, días cortos, disponibilidad de agua, nutrientes y CO₂ lo cual puede reducir el crecimiento activo del tubérculo, al respecto Dogliotti *et al* (2011) afirma que la tasa de crecimiento de los tubérculos en la etapa de tuberización depende de la radiación solar interceptada y la eficiencia con que el área foliar transforme la radiación en azúcares.

En el transcurso del tiempo (días) las 10 accesiones de isaño va incremento el rendimiento de almidón, llegando a los 90 días; todas las accesiones obtuvieron un alto rendimiento de almidón, en la cual la accesión E005 obtuvo el mayor rendimiento de almidón de 6.36% comparando con las demás accesiones de isaño amarillas, existe una gran diferencia en el rendimiento de almidón entre estos tubérculos y es tal como lo menciona Espin y Villacres, (1999) esto puede ser a causa del tamaño de los gránulos de almidón.

El rendimiento obtenido para el almidón de las accesiones (A001, B002, E005, H008, J010, K011 y L012) de isaño amarillas son mayores a lo registrado por Surco (2004) de 2.20%; Espin y Villacres (1999) de 2.26%, el rendimiento obtenido para la accesión I009 es menor a lo registrado por Surco (2004) Y Espin Villacres (1999), además el rendimiento de almidón de las accesiones (A001, B002, H008, I009, J010, K011 y I012) de isaño amarillos son menores a los encontrados por Hermoza (2013) de la variedad de isaño amarilla es 3.65%; pero la accesión E006 es mayor con 6.36%.

En el rendimiento encontrado en las accesiones (F006 y G007) de isaño amarillo con líneas rojas es mayor 3.79% y 3.11% a los registrado por Surco (2004) de 2.20%, Espin y Villacres (1999) de 2.26%, pero es la accesión G007 se aproxima a lo registrado por Hermoza (2013) de 3.64%, y la accesión F006 es menor 3.11%.

El rendimiento de la producción de almidón también depende de la accesión, las condiciones de cultivo, el tamaño y la forma que presente al momento de ser procesado. Esta diferencia también podría radicar por el método de extracción aplicado en el laboratorio puesto que pudieron producirse pérdidas durante el tamizado debido a que una parte de almidón pudo quedarse junto con el bagazo obtenido luego del licuado y el lavado ya que se hicieron más de dos lavados para la eliminación de impurezas desechando el agua sobrenadante en este proceso pudo existir pérdidas de almidón, lo cual es recomendable extraer el almidón después de la cosecha para su aprovechamiento.

Según Hermoza (2013) el granulo de almidón de isaño, observado en microscopio electrónico de barrido en los aumentos de 1000x, 2000x y 3000x respectivamente, estos presentaron forma ovoide esférica lo cual concuerda con la forma descrita por los autores que realizaron investigaciones similares Espin *et al.*, (1999) y Reyes (2007). Por lo cual se

concluye que el granulo de almidón de las accesiones de isaño tienen forma de ovoide esféricas

En el Tabla 7 se presenta el análisis de varianza (ANVA) para la determinación del rendimiento de almidón, el cual nos indica que existe una diferencia estadística altamente significativa ($P < 0.01$) para el efecto tiempo y accesiones además la interacción de ambos, esto implica que el efecto tiempo y accesión son dependientes; esto es debido a las características químicas, accesión de isaño, periodo de crecimiento activo del tubérculo, de cada tratamiento.

Tabla 7: Análisis de varianza (ANVA) para el rendimiento de almidón.

F. de V.	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Fc	Sig.
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:ACCESIONES	33.0945	9	3.67717	73.02	**
B:TIEMPO	183.36	6	30.56	606.84	**
INTERACCIONES					
AB	65.5021	54	1.213	24.09	**
RESIDUOS	7.05033	140	0.0503595		
TOTAL (CORREGIDO)	289.007	209			

Para el factor tiempo se realizó la prueba de comparación múltiple Duncan como se muestra en la Tabla 8. Nos indica que el tiempo de tuberización en 90 días tiene un alto contenido de rendimiento de almidón el cual es estadísticamente superior a los tiempos (0, 15, 30, 45, 60 y 75) esto también se debe a las condiciones climáticas y tipo de suelo, por la disponibilidad de agua, nutrientes, radiación y CO_2 del Distrito de Camacani.

Tabla 8: Prueba de comparación múltiple Duncan en el tiempo de tuberización del rendimiento de almidón, $\alpha = 0.01$

Tiempo (días)	Media LS	Significancia
0	0.286±0.041	a
15	0.499±0.041	b
30	0.701±0.041	c
45	1.774±0.041	d
60	1.834±0.041	d
75	1.984±0.041	e
90	3.110±0.041	f
n = 30		

Para el factor accesión se realizó la prueba de comparación múltiple de Duncan (ver Tabla 9). Nos indica que la accesión E005 obtuvo el rendimiento más alto llegando a 6.36%; la cual es estadísticamente superior a las accesiones (A001, B003, F006, G007, H008, I009, J010, K011 y L012) esto se debe a las condiciones de cultivo, tipo de suelo, por la accesión sembrada, disponibilidad de agua, radiación, CO₂, tamaño y forma de isaño como lo afirma Dogliotti *et al* (2011). Además podría radicar por el método de extracción aplicado en el laboratorio puesto que pudieron pérdidas durante el tamizado y puede ser a causa del tamaño de los gránulos de almidón como lo afirma Espin y Villacres (1999).

Tabla 9: Prueba de comparación múltiple Duncan en 10 accesiones de isaño en el rendimiento de almidón, $\alpha = 0.01$

Accesiones	Media LS	Significancia
I009	0.870 ± 0.049	a
J010	1.185 ± 0.049	b
L012	1.204 ± 0.049	b
K011	1.308 ± 0.049	b
B002	1.319 ± 0.049	b
F006	1.468 ± 0.049	c
H008	1.510 ± 0.049	c
A001	1.516 ± 0.049	c
G007	1.733 ± 0.049	d
E005	2.441 ± 0.049	e

n = 21

Para la interacción de accesión y tiempo de tuberización se realizó la prueba de comparación múltiple de Duncan (ver Tabla 10). Nos indica que la accesión codificado E005 y el tiempo en 90 días fueron los mejores en dar el resultado de mayor producción de rendimiento de almidón; la cual es estadísticamente superior a las demás interacciones. Esto se debe a las condiciones de cultivo, tipo de suelo, por la accesión sembrada, disponibilidad de agua, radiación, CO₂, tamaño y forma de isaño, condiciones climáticas, por la disponibilidad de agua, nutrientes, radiación y CO₂ del Distrito de Camacani, como lo afirma Dogliotti *et al* (2011). Además podría radicar por el método de extracción

aplicado en el laboratorio puesto que pudieron pérdidas durante el tamizado y puede ser a causa del tamaño de los gránulos de almidón como lo afirma Espin y Villacres (1999).

Según Hermosa (2013) afirma que el granulo de almidón de isaño, observado en microscopio electrónico de barrido en los aumentos de 1000x, 2000x y 3000x respectivamente, esto presentaron formas ovoide esférica.

Tabla 10: Prueba de comparación múltiple de Duncan para el factor interacción de accesión y tiempo de tuberización sobre almidón.

Interacción		Media LS	Significancia
Tiempo (día)	Accesión		
90	I009	1.47±0.13	a
90	H008	2.43±0.13	b
90	B002	2.49±0.13	b
90	G007	2.52±0.13	b
90	J010	2.72±0.13	b
90	A001	2.92±0.13	d
90	L012	3.10±0.13	d
90	K011	3.31±0.13	d
90	F006	3.79±0.13	e
90	E005	6.36±0.13	f

4.3. DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

En la Figura 11 se presentan los resultados promedio de la capacidad antioxidante en las diez accesiones de isaño amarillos de forma cónica, elipsoidal y isaño amarillo con líneas rojas en el periodo de tuberización (0, 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días). Los datos completos de las 10 accesiones se reportan en el Anexo V.

El periodo de tuberización fluctúa entre 130 días, donde la cosecha se realiza aproximadamente a partir de los 200 días después de la siembra (Samaniego, 2010).

Son varios los compuestos cromógenos (ABTS, DPPH, FRAP, entre otros) que se utilizan para determinar la capacidad de los compuestos fenólicos que contienen los alimentos, para captar los radicales libres (Saura y Goñi, 2006), en el cual esta investigación se utilizó la metodología del ABTS.

Existen una gran cantidad de disolventes descritos para la extracción de antioxidante de alimentos. Entre ellos aparecen el etanol, metanol, la acetona y mezclas de los mismos con agua en diferentes proporciones. Sin embargo en esta investigación tras pruebas en combinación con metano y agua (90:10 v/v) nos dio bajo, en cambio el uso de un solo solvente (metanol) fue superior.

Durante el primer día de análisis (día “0”) se comenzó a ver la capacidad antioxidante de las 10 accesiones de isaño teniendo como resultados entre los rangos 34.73 a 948.43 μmol de trolox equivalente/gramo de muestra de isaño, en el cual la accesión B002 tiene 34.73 μmol de trolox equivalente/gramo de muestra de isaño, donde es la menor capacidad antioxidante de todas las accesiones de isaño; y la accesión L012 tiene la mayor capacidad de antioxidante con 948.43 μmol de trolox equivalente/gramo de muestra de isaño.

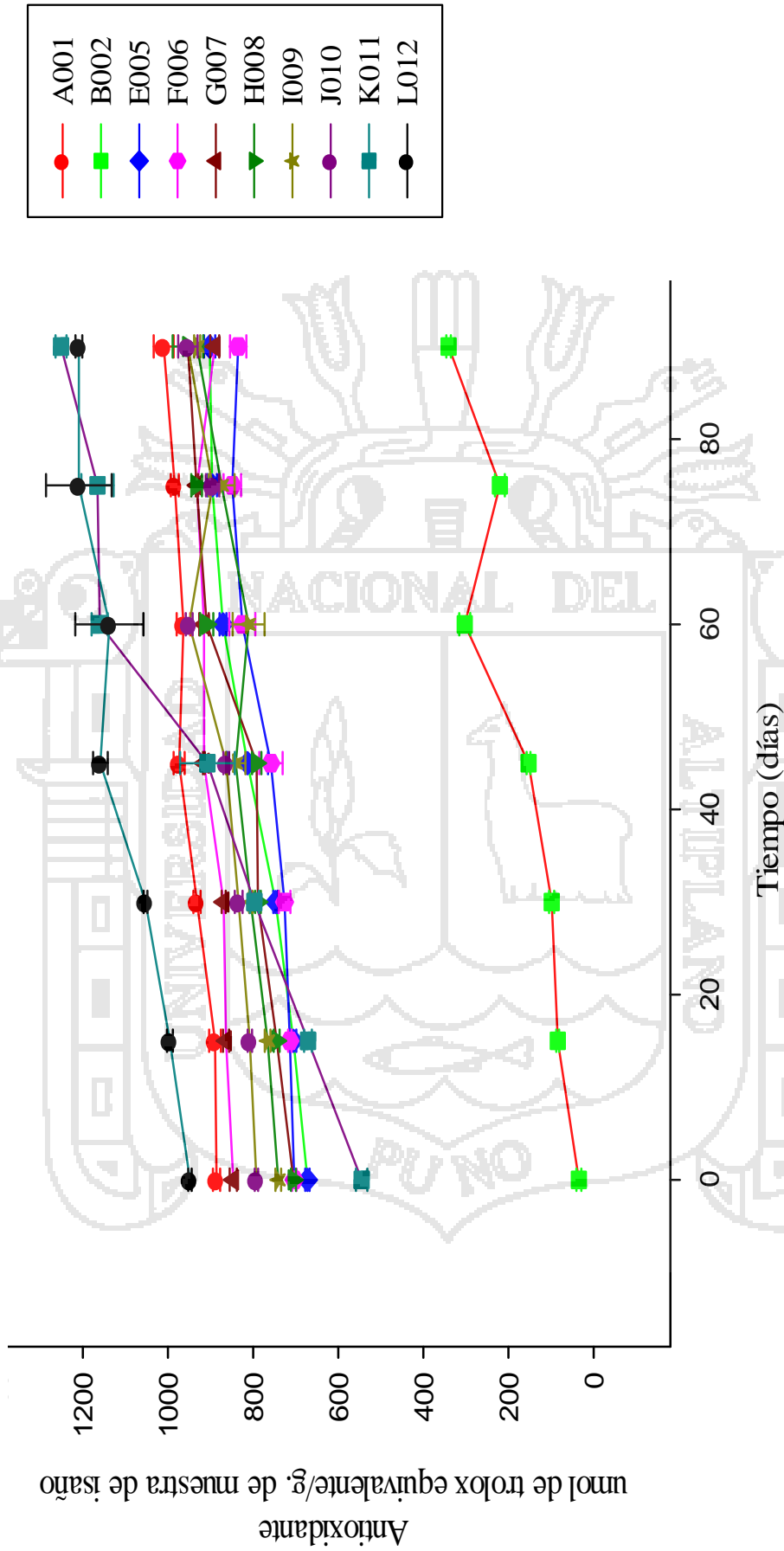


Fig.11: Resultados de la determinación de la capacidad antioxidante de las 10 accesiones de isaño (A001, B002, E005, F006, G007, H008, I009, J010, K011 Y L012), durante el periodo de tuberización (0 a 90 días).

Según Duthie y Crozier, (2000) afirma que los polifenoles constituyen una de las clases principales de metabolitos secundarios de las plantas, donde desempeñan diferentes funciones fisiológicas: intervienen en el crecimiento y reproducción y en procesos defensivos frente a patógenos, predadores o radiación ultravioleta.

De igual manera Yajum, (2005) afirma que los flavonoides forman parte del metabolismo secundario de plantas, siendo responsables de su crecimiento y exhibiendo determinadas interacciones con otros organismos vivos. También son responsables de la pigmentación de los pétalos en las flores de tonos amarillos, rojos y naranjas, atrayendo así a los agentes polinizadores. También tienen la capacidad de proteger a las plantas del daño provocado por los rayos UV y del ataque de insectos y patógenos. Además cuando se determina la capacidad antioxidante, ésta se ve afectada por el tipo de solvente de extracción, el proceso de aislamiento, la pureza del componente activo, así como el sistema de análisis y el sustrato a ser protegido por el antioxidante (Moure et al., 2001).

Al respecto Scalbert y Williamson, (2000) afirma que los niveles de éstos compuestos pueden variar considerablemente dentro de la misma especie vegetal, e incluso entre sus variedades, debido a factores genéticos y ambientales que condicionan la germinación, el crecimiento y calidad de los cultivos.

De igual manera, Lana y Tijksens (2006) afirman que los tejidos cortados sufren estrés oxidativo, ocasionando daños en la membrana, la modificación de la composición y el contenido de compuestos antioxidantes, lo que resulta cambios en la capacidad antioxidante total del tejido, Además, hay que destacar que ésta pérdida de capacidad antioxidante también se puede relacionar con la pérdida de vitaminas por su solubilidad en agua, transferencia de masa, sensibilidad al calor y la oxidación enzimática.

En el día 75 la accesión F006 y G007 llega a su mayor capacidad antioxidante, la cual va descendiendo la cual puede ser por causas de nutriente, disponibilidad de agua, CO₂, calidad de cultivo, factores genéticos, condiciones ambientales como lo afirma Dogliotti *et al* (2011) a firma que la tasa de crecimiento de los tubérculos en esta etapa depende entonces solo de la capacidad de fuente del cultivo, o sea de la radiación solar interceptada lo que concuerda con Abbasi *et al.*, (2009) señala que el fotoperíodo corto acompañado de temperaturas bajas, induce y fomenta la tuberización, siempre y cuando el tubérculo haya sido nutrido adecuadamente.

En el transcurso del tiempo (días) las accesiones de isañó va incremento la capacidad antioxidante; donde en el tiempo 90 días. Las accesiones (A001, B002, E005, H008, I009, J010, K011 y L012) llegan a su máxima capacidad antioxidante. Además los tubérculos de isañó presentan la mayor capacidad antioxidante en comparación con otros cultivos andinos (papas coloreadas, olluco y oca) (Campos *et al.* 2006).

La capacidad antioxidante de las accesiones (A001, B002, E005, H008, I009, J010, K011 y L012) de isañó amarillo que están entre los rangos de 340.62 a 1251.37 μmol trolox equivalente/gramo de muestra de isañó, lo cual es mayor a lo registrado por Calsin, (2007) que están entre los rangos 41 a 70 μmol trolox equivalente/gramo de muestra de isañó quien trabajo con genotipos de piel morado y pulpa amarilla.

Además Manach *et al.*, (2004) afirma que los flavonoides presentan mayor o menor capacidad antioxidante en función del número y posición de sus grupos hidroxilo unidos a las estructuras de anillo. Estos flavonoides poseen una coloración amarillenta y son los más frecuentes en los alimentos.

La capacidad antioxidante de siete genotipos de isaño amarillos estudiada por Rios (2004) están entre los rangos 1178.48 a 10002.36 μmol trolox equivalente/gramo de muestra de isaño son mayores a lo encontrado en esta investigación que están en los rangos de 340.62 a 1010.22 μmol de trolox equivalente/gramo de muestra de isaño, sin embargo las accesiones K011 y L012 registrados 1251.37 y 1209.33 μmol trolox equivalente/gramo de muestra de isaño, están dentro del rango citado por Rios (2004).

Además la capacidad antioxidante de las accesiones (F006 y G007) de isaño con líneas rojas 849.10 y 932.11 μmol trolox equivalente/gramo de muestra de isaño son mayores a lo registrado por Calsin (2007) y menores a lo registrado por Rios (2004).

La variabilidad existente entre individuos de una misma accesión de isaño, presentada por la desviación estándar, fue muy alto, lo que podría deberse a la distribución de los compuestos antioxidantes en los tubérculos. Saikahan *et al.* (1995) afirma que la capacidad antioxidante varía significativamente entre las diferentes secciones de los tubérculos presentado para el caso de la papa una mayor capacidad antioxidante la corteza y cascara de la zona modular y central, dado que la presente investigación se analizó diferentes secciones de tubérculos para obtener una muestra representativa.

En el Tabla 11 se presenta el análisis de varianza (ANVA) para la determinación de la capacidad antioxidante, el cual nos indica que existe una diferencia estadística altamente significativa ($P < 0.01$) para la capacidad antioxidante. Esto implica que el efecto es dependiente con respecto al tiempo de tuberización y accesión. Esto es debido a los niveles de compuestos que pueden variar considerablemente dentro de la misma accesión, factores genéticos, condiciones climáticas de Camacani y a la calidad de cultivo y suelo.

Tabla 11. Análisis de varianza (ANVA) para la capacidad antioxidante.

F. de V.	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Fc	Sig.
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Tiempo	1.53147E6	6	255246.	542.95	**
B:Accesiones	1.11723E7	9	1.24137E6	2640.59	**
INTERACCIONES					
AB	849648.	54	15734.2	33.47	**
RESIDUOS	65815.5	140	470.111		
TOTAL (CORREGIDO)	1.36193E7	209			

Para el factor tiempo se realizó la prueba de comparación múltiple Duncan (ver Tabla 12). Nos indica que el tiempo de tuberización en 90 días tiene un alto contenido de capacidad antioxidante, el cual es estadísticamente superior a los tiempos de tuberización (0, 15, 30, 45, 60 y 75 días). Esto también se debe a las condiciones climáticas y tipo de suelo, por la disponibilidad de agua, nutrientes, radiación y CO₂ del Distrito de Camacani. Así como lo afirma Scalbert y Williamson, (2000) que los niveles de compuestos pueden variar considerablemente dentro de la misma especie vegetal, e incluso entre sus variedades, debido a factores genéticos y ambientales que condicionan la germinación, el crecimiento y calidad del cultivo.

Tabla 12: Prueba de comparación múltiple Duncan en el tiempo de tuberización de la capacidad antioxidante, $\alpha = 0.01$

Tiempo	Media LS	Significancia
0	687.638 \pm 3.96	a
15	724.303 \pm 3.96	b
30	765.258 \pm 3.96	c
45	817.662 \pm 3.96	d
60	884.703 \pm 3.96	e
75	895.963 \pm 3.96	f
90	927.728 \pm 3.96	g

n = 30

Para el efecto accesión se realizó la prueba de comparación múltiple de Duncan (ver Tabla 13). Nos indica la accesión L012 obtuvo la mayor capacidad antioxidante; la cual es estadísticamente superior a las accesiones (A001, B002, E005, F006, G007, H008, I009, J010 y K011), esto se debe a las condiciones de cultivo, tipo de suelo, por la accesión sembrada, disponibilidad de agua, radiación, CO₂, tamaño y forma de isañ.

Además Manach *et al.*, (2004) afirma que los flavonoides presentan mayor o menor capacidad antioxidante en función del número y posición de sus grupos hidroxilo unidos a las estructuras de anillo. Estos flavonoides poseen una coloración amarillenta y son los más frecuentes en los alimentos. Esto es debido a que los flavonoides poseen una

coloración amarillenta, rojos y son los más frecuentes en los alimentos y presentan mayor o menor capacidad antioxidante en función del número y posición de sus grupos hidroxilo unidos a las estructuras de anillo.

Tabla 13: Prueba de comparación múltiple Duncan para las 10 accesiones de isaño en la capacidad antioxidante, $\alpha = 0.01$

Accesión	Media LS	Significancia
B002	176.304±4.731	a
F006	773.091±4.731	b
E005	801.196±4.731	c
I009	824.401±4.731	d
H008	832.322±4.731	d
J010	870.957±4.731	e
G007	890.525±4.731	f
K011	928.411±4.731	g
A001	948.579±4.731	h
L012	870.957±4.731	i
n = 21		

Para la interacción de accesión y tiempo de tuberización se realizó la prueba de comparación múltiple de Duncan (ver Tabla 14). Nos indica que la accesión codificado L012 y el tiempo en 90 días fueron los mejores en dar el resultado de mayor capacidad antioxidante; la cual es estadísticamente superior a las demás interacciones. Esto se debe a las condiciones de cultivo, tipo de suelo, por la accesión sembrada, disponibilidad de agua,

radiación, CO₂, tamaño y forma de isaño, condiciones climáticas, por la disponibilidad de agua, nutrientes, radiación y CO₂ del Distrito de Camacani, como lo afirma Dogliotti *et al* (2011). Además Manach *et al*, (2004) afirma los flavonoides presentan mayor o menor capacidad antioxidante en función del número y posición de sus grupos hidroxilo unidos a las estructuras de anillo.

Tabla 14: Prueba de comparación múltiple de Duncan para el factor interacción accesión y tiempo sobre la capacidad antioxidante.

Interacción		Media LS	Significancia
Tiempo (día)	Accesión		
90	B002	340.617±12.52	a
90	F006	835.017±12.52	b
90	G007	890.273±12.52	c
90	E005	902.223±12.52	d
90	I009	931.547±12.52	e
90	H008	953.233±12.52	f
90	J010	953.447±12.52	f
90	A001	1010.22±12.52	g
90	K011	1209.33±12.52	h
90	L012	1251.37±12.52	i

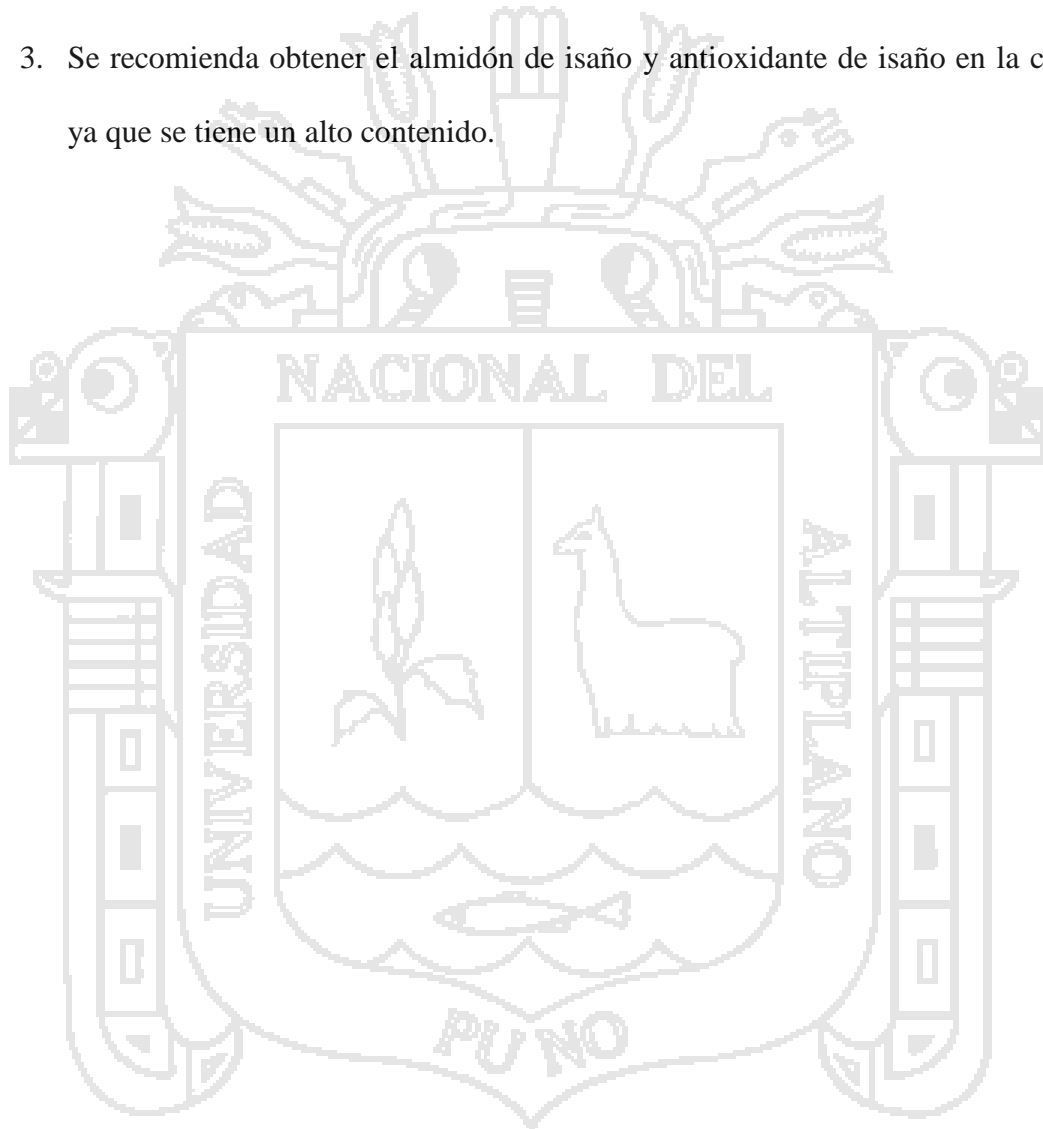
V. CONCLUSIONES

1. El rendimiento del almidón de isaño codificado E005 resulto ser mayor que los rendimientos de las nueve accesiones de isaño; esto depende de las condiciones de cultivo, radiación, CO₂ y el tamaño de los gránulos de almidón.
2. La capacidad antioxidante del isaño codificado L012 resulto ser mayor que las nueve accesiones de isaño; esto depende de los niveles de estos compuestos que pueden variar considerablemente dentro de la misma accesión debido a sus factores genéticos, ambientales, tiempo de tuberización y la calidad de cultivo; también depende del número y posición de sus grupos hidroxilos unidos a la estructura de anillo.



VI. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda tener en cuenta la combinación de solventes a utilizar para la capacidad antioxidante.
2. Se recomienda realizar estudios en el almidón del sobrenadante en la obtención del antioxidante.
3. Se recomienda obtener el almidón de isaño y antioxidante de isaño en la cosecha ya que se tiene un alto contenido.



VII. BIBLIOGRAFÍA

- Abbasi, N. A., Hussain, A., Maqbool, M., Hafiz, I. A. y Qureshi, A. A. 2009, Encapsulated calcium carbide enhances production and postharvest performance of potato (*Solanum tuberosum*) tubers. A new Zeland Crop and Hort. Science.37:131–139
- Arnao, H. 2001. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chomogen radicals: a practical case: Trend in food science and technology. 11. 419-431. Gran Bretaña.
- Barberán, F. A., Espín, J. C. 2001. Phenolic compounds and related enzyme as determinants of quality in fruits and vegetables. J. Agric. Food Chem., 81, 853-876.
- Bello, L.A.; Agama-Acevedo, E.; Sáyago, S.; Moreno, E. y Figueroa, J.D.C. 2000. Some structural, physicochemical and functional studies of banana starches isolated from two varieties growing in Guerrero, México. Starch/Stärke. 52 (2-3): 68-73.
- Bernal, L. y Martínez, B.E. 2006. Una nueva visión de la degradación del almidón. Revista del centro de investigación Universidad La Salle. 7 (25): 77-90.
- Betancur, D.; Chell, L.; Camelo, R. y Davila, G. 2001. Physicochemical and functional characterization of baby Lima bean (*Phaseolus lunatus*) starch. Starch753. 219-226.
- Biliaderis, C.G. 1991. The structure and interactions of starch with food constituents. Can J Physiol Pharmacol. 69: 60-78.
- Biliaderis, C.G. 1998. Structures and phase transitions of starch polymers. In: Walter RH editor. Polysaccharide Association Structures in Foods. New York: Marcel Dekker.57-168.

- Blennow, A.; Engelsen, S.B.; Nielsen, H.T.; Baunsgaard, L. y Mikkelsen, R. 2002. Starch phosphorylation: a new front line in starch research. *Plant Science* 7 (10): 445-450.
- Buléon, A.; Colonna, P.; Planchot, V. y Ball, S. 1998. Starch granules: structure and biosynthesis. *Int J Biolog Macromol* 23: 85-112.
- Cadima, F. X. 2006. Tubérculos. Universidad Mayor de San Andrés, La Paz Bolivia. 347-369
- Caicedo, C. 1999. Estudio y promociones de las tuberosas andinas dentro del agro ecosistema andino en ecuador. *Alimentos del mundo andino*. Centro internacional de la papa.
- Campos, D.; Noratto, G.; Chirinos, R.; Arbizu, C.; Roca, W. y Cisneros-Zevallos, L. 2006. Antioxidant capacity and secondary metabolites in four species of Andean tuber crops: native potato (*Solanum sp.*), mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón), Oca (*Oxalis tuberosa* Molina) and ulluco (*Ullucus tuberosus* caldas). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86: 1481-1488.
- Chirinos, R.; Rogez, H.; Campos, D.; Pedreschi, R. y Larondelle, Y. 2007. Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz and Pavón) tubers. *Separation purification, technology*. 10.1016 U.S.A.
- Chirinos, R.; Campos, D.; Arbizu, C.; Rogez, H.; Rees J.F.; Larondelle., Noratto, G. y Cisneros-Zevallos, L. 2006. Effect of genotype, maturity stage and post-harvest storage on phenolic compounds, carotenoid content and antioxidant capacity, of Andean mashua tubers (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87: 437-446.

- Chirinos, R.; Campos, D.; Costa, N.; Arbizu, C.; Pedreschi, R. y Larondelle, Y. 2008a. Phenolic profiles of andean mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz y Pavón) tubers: Identification by HPLC-DAD and evaluation of their antioxidant activity. Food Chemistry. 106, 1285-1298.
- Chirinos, R.; Campos, D.; Warnier, M.; Pedreschi, R.; Rees, J.F. y Larondelle, Y. 2008b. Antioxidant properties of mashua (*Tropaeolum tuberosum*) phenolic extracts against oxidative damage using biological in vitro assays. Food Chemistry. 111, 98-105.
- Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol., 4, 564-582.
- Cowieson, A.J. 2005. Factors that affect the nutritional value of maize for broilers. Animal Feed Sci Technol. 119: 293-305.
- Delville, J.; Joly, C.; Dole, P. y Bliard, C. 2002. Solid state photocrosslinked starch bases films: a new of family of homogeneous modified starches. Carbohyd Polymers. 49: 71-81.
- Dixon, R., Steele, C. 1999. "Flavonoids and isoflavonoids a gold mine for metabolic engineering". Trends Plant Sci., 4, 394-400.
- Dogliotti, S.; Colnago, P.; Galván, G. y Aldabe, L. 2011. Bases Fisiológicas del crecimiento y desarrollo de los principales cultivos hortícolas tomate (*Lycopersicum sculentum*), papa (*Solanun tuberosum*) y cebolla (*Allium cepa*). La Republica. 5-6.
- Duthie, G., Crozier, A. 2000 Plant-derived phenolic antioxidants. Curr. Opin. Lipidol, 11, 43-47.
- Espin, S. y Villacrés, E. 1999. Evaluación del rendimiento, características y propiedades del almidón de algunas raíces y tubérculos andinos. Quito – Ecuador. 29.

- Espin, S.; Brito, B.; Villacrés, E.; Rubio, A.; Nieto, C. y Grijalva, J. 1999. Composición química, valor nutricional y uso potencial de siete especies de raíces y tubérculos andinos. Ambato – Ecuador.
- Erlingen, R. C. y Delcour, J. A. 1995. Formation, analysis, structure y properties of type III enzyme resistant starch. *J Cereal Sci.* 21: 1-8.
- Ewing, E. E. y Wareing P. F. 1992. Shoot, stolon and tuber formation on potato (*Solanum tuberosum* L.) cuttings in response to photoperiod, *Plant Physiol.* 61, 348–353.
- Fennema, O. 2000. Química de los Alimentos. Editorial Acribia, Zaragoza –España.
- Gonzales, S.; Terrazas, F.; Almanza, J. y Condori, P. 2003, Tuberose Proinpa (Producción de oca (*Oxalis tuberosa*), papalisa (*Ullucus tuberosus*) e isaño (*Tropaeolum tuberosum*). importancia, zonas productoras, manejo y limitantes. Cochabamba – Bolivia. 46.
- Hanco. A. 2007. Evaluación de las características de dos variedades de Cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) cupi ramis. Puno – Perú.
- Harborne, J. B., Williams, C. A. 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochem.* 55, 481–504.
- Hellinwell, B. 1990. How to Characterize a Biological Antioxidant. *Free Radical Research Communication.* 9: 1 – 32 U.S.A.
- Hermoza, G. C. 2013. Caracterización de almidones de dos tubérculos andinos: isaño (*Tropaeolum tuberosum* R y P) y oca (*oxalis tuberosa* Mol). Puno – Perú. 42.

- Hernández, B. y León, J. 1992. Cultivos marginados otra perspectiva de 1492. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación Roma. 150-151.
- Hurtado, J. 1997. Valorización de las amiláceas “no-cereales” cultivadas en los países andino: Estudios de las propiedades fisicoquímicas y funcionales de sus almidones y de la resistencia a diferentes tratamientos estresantes. Fundación Universidad de Bogota. Facultad de Ingeniería de Alimentos. CIAT. Colombia.
- Jackson, S. D. 2008. Plant responses to photoperiod. *New Phytologist*. Tansley review, 1-12.
- Lana, M.M. y Tijskens, L.M.M. 2006. Effects of cutting and maturity on antioxidant activity of fresh-cut tomatoes. *Food Chemistry*.97, 203–211.
- Lambert, J. D., Hong, J., Yang, G., Liao, J., Yang, C. S. 2005. Inhibition of carcinogenesis by polyphenols: evidence from laboratory investigations. *Am. J. Clin. Nutr.*, 81, 284-291.
- Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Rémésy, C. y Jiménez, L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 727-747.
- Martínez F, S. J., González-Gallego, J. M., Culebras, M. J. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr. Hosp*, 17, 271-278.
- Meza, G.; Cortes, H.; Zela, G. y Gonza, V. 1997. Cultivo de mashua. Universidad nacional de san Antonio Abad del Cuzco. Centro de investigación en cultivos andinos. Asociación Arariwa. IX Congreso Internacional de Cultivos Andinos.

- Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T. 2000. The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacol. Rev.*, 52, 673-751.
- Morrison, W.R. y Karkalas, J. 1990. Starch. In: Dey, P.M., (Ed.), *Methods in Plant Biochemistry*, vol. 2. Academic Press, London. 323-352.
- Moure, A.; Cruz, J. M.; Franco, D.; Domínguez, J. M.; Sineiro, J.; Domínguez, H.; Nuñez, M. J.; y Parajó, J. C. 2001. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72, 145-171.
- Mua, J.P. y Jackson, D.S. 1997. Fine structure of corn amylose and amylopectin fractions with various molecular weights. *J Agric Food Chem.* 45: 3840-3847.
- National Research Council 1989. *Lost Crops of the Incas: Little Known Plants of the Andes With Promise For Worldwide Cultivation*. National Academy Press. Washington D.C.
- Nicoli, M.C.; Anese, M. y Parpinel, M.T. 1999. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends in Food Science & Technology.* 10, 94-100.
- Nijveldt, J. R., van Nood, E., van Hoorn, D. E., Boelens, P. G., van Norren, K., van Leeuwen, P. A. 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin. Nutr.*, 74, 418-425.
- Palencia, Y. 2004. Sustancias bioactivas en los alimentos. *Revista de la Universidad de Zaragoza*. España.
- Peris, J.B.; Studing, G.; Vnaglosa, B. 1995. *Fitoterapia aplicada*. Valencia: 61-73.

- Pérez, M. 2005. Evaluación de las características funcionales de diez cultivares de mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) en 6 estados de crecimiento y diferentes períodos de soleado. Tesis para optar el título de Ingeniero de Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Pietta, P. G. 2000. Flavonoids as Antioxidants. *J. Nat. Prod.*, 63, 1035-1042.
- Pokorny, J.; Yanishlieva, N. y Gordon, M.H. 2001. Antioxidantes de los alimentos. Aplicaciones prácticas. Editorial Acribia Zaragoza.
- Qi, Zh. y Xu, A. 1999. Starch-based ingredients for flavor encapsulation. *Cereal Foods World*.30: 443-446.
- Reardon, W. J. 2009. Importancia de los Antioxidantes en Nuestra Alimentacion. Food and Drug Protection Division. North Carolina Department of Agriculture and Consumer Services.
- Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M., y Rice, C. 1999. "Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay". *Free Radical Biology and Medicine*, Vol. 26, 1231-1237.
- Renaud, S., de Lorgeril, M. 1992 Wine, alcohol, platelets and the French paradox for coronary heart disease. *ancet.*, 339, 1523-1526.
- Reyes, P. 2007. Aislado y caracterizacion fisico quimica del almidon de kiwicha (*Amaranthus caudatus* L.) UNALM. Lima-Peru.
- Robards, K., Prentzler, P. D., Tucker, G., Swatsitang, P., Glover, W. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chem.*, 66, 401-436

- Salas, F. 1998. Procesamiento de raíces y tubérculos andinos: Fascículos. Centro Internacional de la Papa (CIP). 14-17.
- Samaniego, L. 2010. Caracterización de la mashua (*Tropaeolum tuberosum* c.) en el Ecuador. 8-11,13
- Saura, F., y Goñi, I. 2006. Antioxidant capacity of the spanish mediterranean diet. Food Chemistry, 94, 442–447.
- Scalbert, A. y Williamson, G. 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. The Journal of Nutrition, 130, 2073S-2085S
- Selman, J.D. 1994. Vitamin retention during blanching of vegetables. Food Chemistry. 49, 137-147.
- Shetty, K.; Paliyath, G.; Pometto, A. y Levin, R. 2007. Funtional Foods and Biotechnology. Advisory Board, Massachusetts, EUA.
- Smith, A.M.; Denyer, K. y Martin, C. 1997. The synthesis of the starch granule. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 48: 67-87.
- Sun, Y., 1990. Free radicals, antioxidant enzymes, and carcinogenesis. Free Radical Biology and Medicine, 583-599.
- Sun, J., Chu, Y. F., Wu, X., Liu, R. H. 2002. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. J. Agric. Food Chem., 50, 7449-7454.
- Surco, F. 2004. Caracterización de almidones aislados de tubérculos andinos mashua (*Tropaeolum tuberosum*), oca (*Oxalis tuberosa*), olluco (*Ullucos teberosus*) para la aplicación tecnológica. Lima – Peru.

- Tapia, M.; Fries, A.M.; Mazar, I. y Rosell, C. 2007. Guía de campo de los cultivos andinos. FAO-Asociación Nacional de Productores Ecológicos del Perú. Lima, PE: 209.
- Tang, H.; Watanabe, K. y Mitsunaga, T. 2002. Characterization of storage starches from quinoa, barley and adzuki seeds. *Carbohydr Polym.* 49: 13-22.
- Tester, R.F. y Debon, S.J.J. 2000. Annealing of starch-a review. *Int. Biological Macromol.* 27: 1-12.
- Tester, R.F. y Karkalas, J. 2002. Starch. In: Steinbüchel, A. (Series Ed.) Vandamme, E.J., De Baets, S., Steinbüchel, A. (vol. Eds.), *Biopolymers*, vol. 6. Polysaccharides. II. Polysaccharides from Eukaryotes, Wiley-VCH, Weinheim. 381-438 pp.
- Tester, R.F.; Karkalas, I. y Qi, X. 2004. Starch-composition, fine structure and architecture. *J Cereal Sci.* 39: 151-165.
- Thomas, D.J. y Atwell, W.A. 1999. Starch structure. In: Thomas DJ y Atwell WA editors. *Starches. Practical guide for the food industry.* St Paul Minnesota USA: Eagan Press Handbook. 1-12.
- Thompson, D.B. 2000. On the non-random nature of amylopectin branching. *Carbohydr Polym.* 43: 223-239
- Tineo, J. 1993. Cultivo de mashua. Instituto Nacional de Investigación Agraria. Folleto N° 6-93, 1-9.
- Tovar, T. 2008. Caracterización morfológica y térmica del almidón de maíz (*Zea mays* L) obtenido por diferentes métodos de aislamiento”. Pachuca de soto, Hidalgo. 23-24

- Trejo, A. 2010. Evaluación de capacidad antioxidante y determinación de fenoles totales para frutos. Mexico. 2-4
- Turnbull, J., Nakajima, J., Welford, R. W., Yamazaki, D., Saito, M., Schofield, K. 2004. Mechanistic studies on three 2-oxoglutarate-dependent oxygenases of flavonoid biosynthesis: anthocyanidin synthase, flavonol synthase, and flavanone 3beta-hydroxylase. *J. Biol. Chem.*, 279, 1206–1216.
- Vasquez, V. 1998. Mejoramiento genético de la papa. Amari Editores. Mexico.
- Vreugdenhil, D., Xu, X., Jung, J. S. Lammern, A. A. M. y Ewing, E. E. 1999. Initial anatomical changes associated with tuber formation on single-node potato (*Solanum tuberosum* L.) cuttings: A re-evaluation. *Ann. Bot.* 84, 675–680.
- Whistler, R.L. y Daniel, J.R. 1984. Molecular structure of starch. In: Whistler RL, Bemiller JN y Paschall EF editors. *Starch: Chemistry and Technology*. New York, U.S.A: Academic Press. 154-180.
- Willits, M. G., Giovanni, M., Prata, R. T. N., Kramer, C. M., Luca, V. D., Steffens, J. C., Grase, G. 2004. Bio-fermentation of modified flavonoids: an example of in vivo diversification of secondary metabolites. *Phytochem.*, 65, 31-41.
- Yang, C. S., Landau, J. M., Huang, M-T., Newmark, H. L. 2001. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annu. Rev. Nutr.*, 21, 381-406.
- Yajum, Y., Abhijeet, K., Mattheos, A. G. Koffas. 2005. Biosynthesis of Natural Flavanones in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. and Environ. Microbiol*, 71, 5610–5613



ANEXO I

Formato para recolección de datos del rendimiento de almidón.

ACCESIÓN	T1			T2			T3			T4			T5			T6			T7			T8			T9			T10								
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3			
Tiempo (días)	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0																																				
15																																				
30																																				
45																																				
60																																				
75																																				
90																																				

Dónde:

T1, T2....y T10 = tratamientos por accesiones

1, 2 y 3 = número de repeticiones.

ANEXO II

Formato para recolección de datos de la capacidad antioxidante.

ACCESIÓN	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10
Tiempo (días)	1 2 3	1 2 3	1 2 3	1 2 3	1 2 3	1 2 3	1 2 3	1 2 3	1 2 3	1 2 3
0										
15										
30										
45										
60										
75										
90										

Dónde:

T1, T2.... y T10 = tratamientos por accesiones

1, 2 y 3 = número de repeticiones.

ANEXO III

Resultados en materia seca y humedad en las 10 accesiones de isaño.

Accesión	Materia seca (%)	Promedio	Humedad (%)	Promedio
A001	15.34	15.40±0.13	84.66	84.60±0.13
	15.30		84.70	
	15.55		84.45	
B002	12.54	12.45±0.12	87.46	87.55±0.12
	12.50		87.50	
	12.32		87.68	
E005	16.96	16.99±0.04	83.04	83.01±0.04
	17.03		82.97	
	16.97		83.03	
F006	17.51	17.51±0.01	82.49	82.49±0.01
	17.50		82.50	
	17.51		82.49	
G007	12.71	12.53±0.43	87.29	87.47±0.43
	12.84		87.16	
	12.04		87.96	
H008	17.99	17.75±0.39	82.01	82.25±0.39
	17.96		82.04	
	17.30		82.70	
I009	14.36	14.32±0.08	85.64	85.68±0.08
	14.36		85.64	
	14.23		85.77	
J010	17.24	17.01±0.36	82.76	82.99±0.36
	17.20		82.80	
	16.60		83.40	
K011	17.08	16.94±0.24	82.92	83.06±0.24
	17.08		82.92	
	16.66		83.34	
L012	12.23	12.19±0.06	87.77	87.81±0.06
	12.22		87.78	
	12.12		87.88	

ANEXO IV

Resultados del rendimiento de almidón en el periodo de tuberización de 10 accesiones de isaño.

Tiempo de tuberización	Almidón (%)											
	Accesiones											
	A001	B002	E005	F006	G007	H008	I009	J010	K011	L012		
0	0.13	0.37	0.39	0.28	0.26	0.38	0.40	0.21	0.39	0.13		
	0.16	0.23	0.41	0.29	0.26	0.31	0.43	0.21	0.09	0.35		
	0.11	0.06	0.42	0.17	0.25	0.33	0.49	0.29	0.48	0.31		
15	0.54	0.54	0.65	0.45	0.46	0.53	0.53	0.59	0.45	0.49		
	0.43	0.47	0.45	0.43	0.45	0.52	0.66	0.44	0.49	0.29		
	0.63	0.54	0.54	0.38	0.39	0.50	0.61	0.51	0.49	0.51		
30	0.61	0.59	0.77	0.61	0.62	0.81	0.91	0.74	0.99	0.62		
	0.53	0.56	0.58	0.75	0.60	0.61	0.88	0.70	0.92	0.70		
	0.72	0.65	0.86	0.50	0.59	0.75	0.89	0.66	0.61	0.70		
45	2.63	1.63	3.12	0.83	2.21	2.05	1.07	1.19	1.97	1.53		
	2.68	1.63	3.79	0.81	2.22	2.05	1.06	1.19	1.98	1.52		
	2.61	1.59	2.93	0.90	2.55	2.04	0.92	1.22	1.80	1.29		
60	1.57	1.65	2.56	3.24	2.78	2.11	0.98	1.22	1.11	0.87		
	1.57	1.64	2.31	3.21	2.25	2.10	0.80	1.21	1.12	0.87		
	1.46	1.69	2.44	2.87	3.13	2.14	1.09	1.27	1.11	0.86		
75	2.25	2.14	3.40	1.41	3.29	2.39	0.68	1.55	1.21	1.86		
	2.22	2.14	3.40	1.42	3.30	2.39	0.71	1.66	1.21	1.87		
	2.23	2.10	3.16	0.91	3.27	2.39	0.76	1.85	1.10	1.25		
90	2.26	1.28	6.48	3.91	2.55	2.30	1.61	2.89	3.30	3.08		
	3.96	3.60	6.46	3.90	2.51	2.31	1.61	2.89	3.30	3.08		
	2.54	2.59	6.14	3.55	2.49	2.69	1.18	2.39	3.34	3.10		

ANEXO V

Resultados de la capacidad antioxidante en el periodo de tuberización de 10 accesiones de isaño.

Tiempo de tuberización	Antioxidante (µmol de trolox equivalente/g. de isaño)											
	Accesiones											
	A001	B002	E005	F006	G007	H008	I009	J010	K011	L012		
0	885.67	30.83	666.94	702.57	854.14	704.91	747.22	788.85	535.94	949.30		
	894.75	41.22	677.36	698.67	837.23	699.73	742.01	796.68	560.74	944.09		
15	877.89	32.13	673.45	709.07	848.93	711.38	734.20	791.46	539.86	951.91		
	902.22	81.82	707.17	710.41	863.47	747.49	772.20	807.86	661.64	998.28		
	874.95	88.34	698.06	718.25	871.30	737.08	767.00	813.04	679.81	1000.89		
30	891.83	83.13	711.07	713.02	856.94	750.09	759.19	802.67	672.02	987.85		
	923.91	93.48	752.30	711.89	865.08	787.91	801.71	835.93	789.83	1048.03		
	940.81	105.21	741.84	727.54	868.98	782.70	809.55	842.43	792.42	1053.24		
45	931.71	97.39	748.38	739.28	874.17	795.73	805.63	824.22	809.29	1057.16		
	959.65	148.04	763.93	731.95	917.33	784.95	866.94	857.56	834.03	1139.77		
	984.54	153.25	860.28	786.48	916.03	786.24	824.28	870.60	953.42	1173.45		
	977.99	157.15	816.01	756.62	913.42	804.29	832.04	861.47	935.05	1163.09		
60	957.21	290.60	870.07	794.70	903.02	891.54	825.61	943.79	1182.19	1087.57		
	952.02	316.58	863.54	856.06	919.96	916.03	838.64	959.42	1148.18	1095.42		
	981.86	300.99	879.22	826.04	923.88	919.90	768.29	947.70	1150.80	1230.27		
75	981.56	231.73	895.84	831.87	929.94	946.51	844.11	877.71	1206.29	1250.45		
	976.35	208.52	885.44	871.94	931.24	921.73	873.99	907.41	1131.28	1256.95		
	994.58	220.13	907.55	843.50	935.14	930.86	905.17	900.95	1159.73	1120.43		
90	1018.05	345.84	903.98	812.93	899.80	911.96	924.17	928.13	1216.72	1238.87		
	1028.50	340.62	914.49	846.71	892.00	977.13	938.49	972.65	120.07	1264.74		
	984.10	335.39	888.20	845.41	879.02	970.61	931.98	959.56	1210.20	1250.51		

ANEXO VI

Panel fotográfico



Codificación: A001



Codificación: B002



Codificación: E005



Codificación: F006



Codificación: G007



Codificación: H008



Codificación: I009



Codificación: J010



Codificación: K011



Codificación: L012