

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, BIOQUÍMICAS Y
BIOTECNOLÓGICAS
PROGRAMA PROFESIONAL DE INGENIERÍA
BIOTECNOLÓGICA



EVALUACION DEL EFECTO DEL PROCESAMIENTO:
BLANQUEADO Y SECADO EN EL CONTENIDO DE
GLUCOSINOLATOS Y LA ACTIVIDAD MIROSINASA EN
***Tropaeolum tuberosum Ruiz & Pavon* (MASHUA, EN SUS**
VARIEDADES AMARILLA Y MORADA)

Tesis Presentada por el Bachiller:
Joshelyn Mariangela Paredes Zavala
Para optar por el título profesional de:
Ingeniero Biotecnólogo

Asesor:
PhD. Jaime Cárdenas García

Arequipa - Perú
2012

PRESENTACIÓN

Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas.

Señor Director del Programa Profesional de Ingeniería Biotecnológica.

Señores Miembros del Jurado Dictaminador de la Tesis

De conformidad con las disposiciones del Reglamento de Grados y Títulos del Programa Profesional de Ingeniería Biotecnológica, pongo a vuestra consideración el presente trabajo de investigación titulado:

EVALUACION DEL EFECTO DEL PROCESAMIENTO: BLANQUEADO Y SECADO EN EL CONTENIDO DE GLUCOSINOLATOS Y LA ACTIVIDAD MIROSINASA EN MASHUA AMARILLA Y MASHUA MORADA (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón)

El trabajo de investigación fue realizado aplicando los conocimientos adquiridos durante mi formación universitaria, el mismo que al ser aprobado me permitirá optar por el Título Profesional de Ingeniero Biotecnólogo.

Arequipa, 06 de Marzo del 2013

Llega un momento en la vida en que no hay nada más que hacer, sino seguir tu propio camino.

Es el tiempo de perseguir tus sueños. El tiempo de izar las velas de tus propios pensamientos.

"El Delfín, Historia de un soñador"

Sergio Bambarén.



Del mismo modo que los sueños cobran vida cuando menos lo esperas, igualmente hallarás las respuestas a las preguntas que te haces. Deja que tu instinto construya un sendero de sabiduría y que tus temores sean eliminados por la esperanza [...] y finalmente entendió el por qué de tanto entrenamiento, de todas las horas dedicadas para mejorar su técnica e incrementar su confianza y fortaleza.

"El Delfín, Historia de un soñador"

Sergio Bambarén.

DEDICATORIA

*A mi abuelito, “mi papá” como siempre le he dicho, por haber compartido conmigo toda esta aventura, por su amor infinito, por creer en mí más allá de lo imaginable, por enseñarme a confiar en que puedo lograrlo todo con esfuerzo, determinación y convicción y por haber sido **el mejor ejemplo, el mejor amigo, el mejor profesor y el mejor padre**. Nada de lo dicho resulta suficiente para la eterna e infinita gratitud y admiración que te tengo y te tendré siempre.*

Gracias por haberme llevado de la mano durante estos 23 años, ahora es mi turno de devolvarte aunque sea un poquito de toda la vida que me dedicaste y de dedicarte cada fruto de lo que tú sembraste en mí.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme el talento, por ser mi fortaleza, por la maravillosa vida que me regaló y porque entendí que el hombre encuentra a Dios detrás de cada puerta que la ciencia logra abrir.

A mis padres, Edwing y Rocsana, por darme la vida y la oportunidad de ser profesional.

A mis abuelitos, Walter y Marina, por enseñarme a perseguir mis sueños, por el empuje y la motivación, por todas sus horas de desvelo compartiendo mis amanecidas, por celebrar mis triunfos y levantarme en mis caídas, y por su amor infinito y apoyo incondicional.

A mi querida tía Charo, por enseñarme que la fortaleza del esfuerzo es la medida del resultado, por sus consejos, por la exigencia, por el ejemplo y muy especialmente por todo su cariño y preocupación.

A mis hermanitos, Alexandra y Renato, por recordarme la esencia, lo sencillo y lo hermoso de la vida. Por no permitir que olvide los ideales que me llevaron a emprender esta aventura, mis sueños de pequeña que hoy empiezan a hacerse realidad.

A Miguel, por sus valiosas contribuciones en este trabajo, por su apoyo e infinita paciencia, porque saca siempre lo mejor de mí, por enseñarme a correr el riesgo de equivocarme y no cometer la equivocación de no arriesgarme y por compartir siete años conmigo ayudándome a crecer y ser mejor persona.

Al “Project d’Unitiative Propre de la UNALM-IBT, UCL Bélgica y UFPA Brasil” que ha contribuido con el financiamiento del presente trabajo de tesis.

Al Dr. David Campos, asesor externo de este trabajo de tesis, por permitirme formar parte de su equipo de investigación y por sus valiosas enseñanzas.

Al Dr. Jaime Cárdenas, asesor interno de este trabajo de tesis, por la confianza, el aprecio y la motivación a lo largo de todos estos años, por haber creído en mí desde que ingresé al programa, por sus valiosos consejos, su permanente buena disposición, sus enseñanzas y sobre todo por la amistad.

A los miembros del jurado: al Dr. Alberto Briceño, por la confianza, el apoyo y los buenos deseos; al Blgo. Ivan Paz, por las enseñanzas y el apoyo; y muy especialmente a

la Ing. Cinthia Córdova, por su carisma excepcional, por la buena voluntad y disposición, por su amabilidad, sus valiosas contribuciones y por la confianza.

Al Dr. José Villanueva, por sus valiosos aportes, por compartir sus conocimientos, por todo el apoyo durante mis años universitarios y más aún después de ellos.

A la Dra. Ana Aguilar, por sus valiosos consejos, aportes y enseñanzas; por las bromas, el cariño y sobre todo la preocupación más allá de los aspectos académicos.

A Adelayda Pardo, técnica del laboratorio, por su paciencia y toda la buena vibra y la alegría que contagiaba en el laboratorio.

A mis queridos amigos de la universidad, David, María Alejandra, Pamela y Andrea Lucia, porque crecimos y aprendimos juntos, por compartir conmigo cada etapa y por su apoyo y buenos deseos.

A mis compañeras de laboratorio, Tesoro, Rocío, Flor, Mabel, Catherina, Magaly y Gledy, por hacerme sentir en casa, por compartir sus conocimientos, por sus consejos, su ayuda y por hacer más que grata mi estadía en Lima.

A Dios nuevamente, por haberlos puesto en mi camino y permitirme formar parte de sus vidas y aprender de ustedes.

... y a todos aquellos que hicieron posible la realización del presente trabajo de investigación.

Muchas Gracias! Dios los bendiga!

Thank you all for believing in my weirdness!

INDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	xix
ABSTRACT	xxi
ABREVIATURAS	xxiii
CAPÍTULO I: GENERALIDADES	1
1.1 INTRODUCCIÓN	2
1.2 HIPÓTESIS	3
1.3 OBJETIVOS	4
1.3.1 Objetivo General	4
1.3.2 Objetivos Específicos	4
1.4 JUSTIFICACIÓN	5
1.5 VARIABLES	6
1.5.1 Variables Independientes	6
1.5.2 Variables Dependientes	6
1.6 ANTECEDENTES	7
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	9
2.1. MASHUA	10
2.1.1 Generalidades	10
2.1.2 Denominaciones	11
2.1.3 Clasificación	14
2.1.4 Características del Cultivo	15
2.1.5 Rendimiento	16
2.1.6 Valor Nutricional	16
2.1.7 Colecciones de Germoplasma, Situación Actual y Potencial del Cultivo	19
2.1.8 Usos	20
2.1.8.1 Usos en la medicina	20
2.1.8.2 Usos en la alimentación humana	22
2.8.1.3 Usos en la alimentación animal	22
2.8.1.4 Usos en la agricultura	22

2.2.	ALIMENTOS FUNCIONALES	23
2.3.	GLUCOSINOLATOS	24
2.3.1.	Estructura Química	25
2.3.2.	Biosíntesis	26
2.3.3.	Hidrólisis	26
2.3.4.	Degradación	27
2.3.5.	Productos de Hidrólisis	28
2.3.6.	Importancia de los productos de degradación de los glucosinolatos	29
2.4.	OPERACIONES UNITARIAS EN EL PROCESAMIENTO DE LA MASHUA Y SU INFLUENCIA EN LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS	31
2.4.1	Cortado	32
2.4.2	Soleado	33
2.4.3	Tratamiento Térmico por Blanqueado	33
2.5.3.1	Blanqueado por Microondas	34
2.5.3.2	Blanqueado por Ebullición	34
2.4.4	Tratamiento Térmico por Secado	35
2.5.	CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA PERFORMANCE (HPLC)	36
2.5.1	Calibración indirecta, relativa o método del patrón interno	36
CAPÍTULO III: DISEÑO EXPERIMENTAL DE INVESTIGACIÓN		37
3.1.	CAMPO DE VERIFICACIÓN	38
3.1.1.	Lugar de ejecución	38
3.1.2.	Ubicación espacial	38
3.1.3.	Unidades de estudio	38
3.2.	MATERIALES	38
3.2.1	Material biológico	38
3.2.2	Material de laboratorio	39
3.2.2.1	Material de vidrio	39
3.2.2.2	Equipos y aparatos	39
3.2.2.3	Otros materiales	40
3.2.2.4	Reactivos	41
3.2.3	Software	41
3.3.	DISEÑO EXPERIMENTAL	41

3.3.1	Preparación de las muestras.....	44
3.3.1.1	Mashua Amarilla.....	44
3.3.1.2	Mashua Morada	44
3.3.1.3	Caracterización inicial de ambas variedades.....	44
3.3.2	Estudio de la Influencia del Procesamiento en la Actividad Mirosinasa de Mashua Amarilla y Mashua Morada	45
3.3.2.1	Mashua amarilla.....	45
3.3.2.2	Mashua morada.....	46
3.3.3	Estudio de la Influencia del Procesamiento en el contenido de Glucosinolatos Totales e Individuales de Mashua Amarilla y Mashua Morada	47
3.3.4	Comparación entre variedades del contenido de Glucosinolatos y la Actividad Mirosinasa	48
3.4.	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	48
3.4.1	Determinación de humedad y materia seca	48
3.4.2	Determinación del contenido de Glucosinolatos por HPLC	48
3.4.2.1	Extracción de Glucosinolatos	48
3.4.2.2	Purificación y Desulfatación.....	49
3.4.2.3	Análisis por HPLC	50
3.4.3	Determinación de la Actividad Mirosinasa por HPLC.....	51
3.4.3.1	Preparación del Extracto Enzimático.....	51
3.4.3.2	Reacción Enzimática	51
3.4.3.3	Purificación y Desulfatación.....	51
3.4.3.4	Análisis por HPLC	52
3.5.	METODOLOGÍA ESTADÍSTICA	52
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS		53
4.1	RESULTADOS	54
4.1.1.	Identificación y Cuantificación de Glucosinolatos en Mashua Fresca, Sin Procesamiento	54
4.1.1.1	Identificación de Glucosinolatos	54
4.1.1.2	Cuantificación de Glucosinolatos.....	55
A.	Variedad Amarilla.....	55
B.	Variedad Morada	57

4.1.2. Influencia del Procesamiento en el Contenido de Glucosinolatos Totales e Individuales para la Variedad Amarilla	59
4.1.2.1 Glucosinolatos Totales para la Variedad Amarilla	60
4.1.2.2 Glucosinolatos Individuales para la Variedad Amarilla	64
A. Glucoalyssin	64
B. 4-Hydroxyglucobrassicin	68
C. Glucosinalbin	71
D. Glucotropaeolin	75
E. Glucoaubrietin	78
4.1.3. Influencia del Procesamiento en el Contenido de Glucosinolatos Totales e Individuales para la Variedad Morada	82
4.1.3.1 Glucosinolatos Totales para la Variedad Morada	82
4.1.3.2 Glucosinolatos Individuales para la Variedad Morada	86
A. Glucoalyssin	86
B. 4-Hydroxyglucobrassicin	90
C. Glucosinalbin	94
D. Glucotropaeolin	97
E. Glucoaubrietin	98
4.1.4. Influencia del Procesamiento en la Actividad Mirosinasa	101
4.1.4.1 Variedad Amarilla	101
4.1.4.2 Variedad Morada	104
4.1.5. Comparación entre variedades	106
4.1.5.1 Contenido de glucosinolatos	106
4.1.5.2 Actividad Mirosinasa	108
4.2 DISCUSION	109
4.2.1. Identificación y Cuantificación de Glucosinolatos en Mashua Fresca, Sin Procesamiento	109
4.2.1.1 Identificación de Glucosinolatos	109
A. Identificación de Glucoalyssin	109
B. Identificación de Glucosinalbin	110
C. Identificación de 4-Hydroxyglucobrassicin	110
D. Identificación de Glucotropaeolin	111

E. Identificación de Glucoaubrietin	111
4.2.1.1 Cuantificación de Glucosinolatos	113
4.2.2. Influencia del Procesamiento en el Contenido de Glucosinolatos	117
4.2.2.1 Efecto del Tratamiento de Blanqueado	118
4.2.2.2 Efecto del Estado del Tubérculo	120
4.2.2.3 Efecto del Tiempo de Blanqueado	122
4.2.2.4 Efecto del Secado	124
4.2.2.5 Efecto del soleado	125
4.2.2.6 Selección de los mejores tratamientos	126
4.2.3. Influencia del procesamiento en la Actividad Mirosinasa	128
4.2.4. Comparación entre variedades	130
4.2.4.1 Contenido de Glucosinolatos Totales	130
4.2.4.2 Contenido de Glucosinolatos Individuales	132
4.2.4.3 Actividad Mirosinasa	134
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	135
5.1 CONCLUSIONES	136
5.2 RECOMENDACIONES	139
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	140

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de cultivos de mashua en el mundo.	10
Figura 2. Fórmula semidesarrollada (izquierda) y fórmula estructural (derecha) de la estructura básica común de los glucosinolatos.....	25
Figura 3. Hidrólisis de glucosinolatos catalizada por la enzima mirosinasa.....	27
Figura 4. Diagrama de Flujo correspondiente al diseño experimental para mashua, variedad amarilla.....	42
Figura 5. Diagrama de Flujo correspondiente al diseño experimental para mashua, variedad morada.....	43
Figura 6. Perfil HPLC de glucosinolatos para los ecotipos amarillo y morado de mashua cosechada (fresca). (a) Amarilla y (b) Morada.....	54
Figura 7. Perfil de glucosinolatos (GSL) en Mashua fresca, variedad amarilla. Las barras verticales representan el error estándar de la media.....	56
Figura 8. Perfil de glucosinolatos (GSL) en Mashua fresca, variedad morada. Las barras verticales representan el error estándar de la media.....	58
Figura 9. Actividad mirosinasa promedio, expresada como nmol/gBS.min en mashua amarilla para cada etapa del procesamiento.....	103
Figura 10. Actividad mirosinasa promedio, expresada como nmol/gBS.min en mashua morada para cada etapa del procesamiento.....	105
Figura 11. Popularidad de <i>Tropaeolum tuberosum</i> en el tiempo.....	155
Figura 12. Variedades de mashua utilizadas en la presente investigación: variedad morada (izquierda inferior), variedad amarilla (derecha inferior).....	156
Figura 13. Perfiles HPLC para la identificación de glucosinolatos mediante el contraste de tiempos de retención. (a) Maca (Yábar <i>et al.</i> , 2011), (b) Mashua (Campos, 2011), (c) Mashua (presente investigación). (1, 1', 1'') Glucoalyssin; (2, 2', 2'') Glucosinalbin; (3, 3', 3'') 4-Hydroxyglucobrassicin; (4, 4', 4'') Glucotropaeolin; (5', 5'') Glucoaubrietin; (5) Glucolimnathin (solo en maca); (6) 4-Methoxyglucobrassicin (solo en maca).	163
Figura 14. Perfil HPLC de Glucosinolatos desulfatados de variedades domésticas de tubérculos de Mashua, reportado por Ramallo <i>et al.</i> (2004).....	167
Figura 15. Perfil CG de los productos de degradación de los Glucosinolatos en tubérculos de Mashua y Espectro de Masa (recuadro interior) del p-metoxibencil isotiocianato, reportado por Ramallo <i>et al.</i> (2004).....	167
Figura 16. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de GSL totales en mashua amarilla.....	174
Figura 17. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucoalyssin en mashua amarilla.....	175
Figura 18. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucosinalbin en mashua amarilla.....	176
Figura 19. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de 4-Hydroxyglucobrassicin en mashua amarilla.....	177

Figura 20. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucotropaeolin en mashua amarilla.	178
Figura 21. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucoaubrietin en mashua amarilla.	179
Figura 22. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de GSL totales en mashua amarilla.	180
Figura 23. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucoalyssin en mashua amarilla.	181
Figura 24. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucosinalbin en mashua amarilla.	182
Figura 25. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de 4-Hydroxyglucobrassicin en mashua amarilla.....	183
Figura 26. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucotropaeolin en mashua amarilla.	184
Figura 27. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucoaubrietin en mashua amarilla.	185
Figura 28. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de GSL totales en mashua morada.	191
Figura 29. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucoalyssin en mashua morada.	192
Figura 30. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucosinalbin en mashua morada.....	193
Figura 31. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de 4-Hydroxyglucobrassicin en mashua morada.....	194
Figura 32. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucoaubrietin en mashua morada.	195
Figura 33. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de GSL totales en mashua morada.....	196
Figura 34. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucoalyssin en mashua morada.	197
Figura 35. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucosinalbin en mashua morada.....	198
Figura 36. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de 4-Hydroxyglucobrassicin en mashua morada.....	199
Figura 37. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucoaubrietin en mashua morada.	200
Figura 38. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para la actividad mirosinasa en mashua amarilla.....	202
Figura 39. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para la actividad mirosinasa en mashua amarilla.....	203
Figura 40. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para la actividad mirosinasa en mashua morada.....	205

Figura 41. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para la actividad mirosinasa en mashua morada..... 206

Figura 42. Degradación enzimática de un glucosinolato catalizada por la Mirosinasa..... 207

Figura 43. Degradación enzimática del Sinigrin (2-propenil glucosinolato) catalizada por la Mirosinasa. 207

Figura 44. Perfiles cromatográficos de Sinigrin. (a) 0.476 mg/ml; (b) 0.0952 mg/ml; (c) 0.0476 mg/ml; (d) 0.0238 mg/ml. 208

Figura 45. Espectros de absorción - Sinigrin. (a) 0.476 mg/ml; (b) 0.0952 mg/ml; (c) 0.0476 mg/ml; (d) 0.0238 mg/ml. 209

Figura 46. Curva de Calibración del Sinigrin para el Método HPLC de Estándar Interno. 210



INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Denominaciones comunes y poco comunes de Mashua.....	12
Tabla 2. Nombres de las variedades más comunes de Mashua.	13
Tabla 3. Clasificación Taxonómica de la Mashua.....	14
Tabla 4. Composición química de tubérculos de mashua por 100 g. de peso fresco.	17
Tabla 5. Glucosinolatos identificados en los ecotipos amarillo y morado de mashua cosechada (fresca).....	55
Tabla 6. Contenido de Glucosinolatos Individuales en Mashua cruda (fresca), variedad amarilla.	57
Tabla 7. Contenido de Glucosinolatos Individuales en Mashua cruda (fresca), variedad morada.	59
Tabla 8. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de glucosinolatos totales en harina de mashua, variedad amarilla.	61
Tabla 9. Contenido de Glucosinolatos Totales ($\mu\text{mol/gBS}$) para <i>Tropaeolum Tuberosum</i> , Variedad Amarilla.	63
Tabla 10. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de glucoalyssin en harina de mashua, variedad amarilla.	65
Tabla 11. Contenido de Glucoalyssin ($\mu\text{mol/gBS}$) para <i>Tropaeolum Tuberosum</i> , Variedad Amarilla.....	66
Tabla 12. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de 4-hydroxyglucobrassicin en harina de mashua, variedad amarilla.	68
Tabla 13. Contenido de 4-Hydroxyglucobrassicin ($\mu\text{mol/gBS}$) para <i>Tropaeolum Tuberosum</i> , Variedad Amarilla.	70
Tabla 14. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de glucosinalbin en harina de mashua, variedad amarilla.	72
Tabla 15. Contenido de Glucosinalbin ($\mu\text{mol/gBS}$) para <i>Tropaeolum Tuberosum</i> , Variedad Amarilla.....	74
Tabla 16. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de glucotropaeolin en harina de mashua, variedad amarilla.	76
Tabla 17. Contenido de Glucotropaeolin ($\mu\text{mol/gBS}$) para <i>Tropaeolum Tuberosum</i> , Variedad Amarilla.....	77
Tabla 18. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de glucoaubrietin en harina de mashua, variedad amarilla.	79
Tabla 19. Contenido de Glucoaubrietin ($\mu\text{mol/gBS}$) para <i>Tropaeolum Tuberosum</i> , Variedad Amarilla.....	81
Tabla 20. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de glucosinolatos totales en harina de mashua, variedad morada.	83
Tabla 21. Contenido de Glucosinolatos Totales ($\mu\text{mol/gBS}$) para <i>Tropaeolum Tuberosum</i> , Variedad Morada.....	85

Tabla 22. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de glucoalyssin en harina de mashua, variedad morada.....	87
Tabla 23. Contenido de Glucoalyssin ($\mu\text{mol/gBS}$) para <i>Tropaeolum tuberosum</i> , Variedad Morada.	89
Tabla 24. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de 4-hydroxyglucobrassicin en harina de mashua, variedad morada.	91
Tabla 25. Contenido de 4-Hydroxyglucobrassicin ($\mu\text{mol/gBS}$) para <i>Tropaeolum Tuberosum</i> , Variedad Morada.	92
Tabla 26. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de glucosinalbin en harina de mashua, variedad morada.	94
Tabla 27. Contenido de Glucosinalbin ($\mu\text{mol/gBS}$) para <i>Tropaeolum Tuberosum</i> , Variedad Morada.	96
Tabla 28. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de glucoaubrietin en harina de mashua, variedad morada.	98
Tabla 29. Contenido de Glucoaubrietin ($\mu\text{mol/gBS}$) para <i>Tropaeolum Tuberosum</i> , Variedad Morada.	100
Tabla 30. Influencia del procesamiento en la actividad mirosinasa ($\text{nmol/gBS}\cdot\text{min}$) para <i>Tropaeolum tuberosum</i> , variedad amarilla.....	102
Tabla 31. Influencia del procesamiento en la actividad mirosinasa ($\text{nmol/gBS}\cdot\text{min}$) para <i>Tropaeolum tuberosum</i> , variedad morada.	104
Tabla 32. Contenido de glucosinatos en mashua fresca para las dos variedades estudiadas.	106
Tabla 33. Tratamientos que alcanzaron las mayores y menores concentraciones de glucosinatos totales e individuales para las dos variedades estudiadas.....	107
Tabla 34. Actividad mirosinasa inicial en mashua fresca para las dos variedades estudiadas.	108
Tabla 35. Caracterización de los glucosinatos identificados ambos ecotipos de mashua fresca.	159
Tabla 36. Estructura básica común a todos los glucosinatos.....	160
Tabla 37. Estructuras 2D y Conformación 3D para cada uno de los glucosinatos identificados en los ecotipos amarillo y morado de mashua fresca.	160
Tabla 38. Esquema comparativo de los espectros de absorción en maca (Yábar, Pedreschi, Chiriinos, & Campos, 2011) y mashua (Campos, 2011) con los espectros de absorción obtenidos para mashua en la presente investigación.	164
Tabla 39. ANOVA multifactorial para el contenido de glucosinatos totales en mashua, variedad amarilla.	168
Tabla 40. ANOVA multifactorial para el contenido de Glucoalyssin en mashua, variedad amarilla.....	169
Tabla 41. ANOVA multifactorial para el contenido de Glucosinalbin en mashua, variedad amarilla.....	170
Tabla 42. ANOVA multifactorial para el contenido de 4-Hydroxyglucobrassicin en mashua, variedad amarilla.	171
Tabla 43. ANOVA multifactorial para el contenido de Glucotropaeolin en mashua, variedad amarilla.....	172

Tabla 44. ANOVA multifactorial para el contenido de Glucoaubrietin en mashua, variedad amarilla.....	173
Tabla 45. ANOVA multifactorial para el contenido de glucosinolatos totales en mashua, variedad morada.....	186
Tabla 46. ANOVA multifactorial para el contenido de Glucoalyssin en mashua, variedad morada.....	187
Tabla 47. ANOVA multifactorial para el contenido de Glucosinalbin en mashua, variedad morada.....	188
Tabla 48. ANOVA multifactorial para el contenido de 4-Hydroxyglucobrassicin en mashua, variedad morada.....	189
Tabla 49. ANOVA multifactorial para el contenido de Glucoaubrietin en mashua, variedad morada.....	190
Tabla 50. ANOVA multifactorial para la actividad mirosinasa en mashua, variedad amarilla.	201
Tabla 51. ANOVA multifactorial para la actividad mirosinasa en mashua, variedad morada.	204
Tabla 52. Áreas de los picos cromatográficos en función de concentraciones conocidas ensayadas.....	209



INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Popularidad de <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón en el tiempo.....	155
Anexo 2. Variedades de Mashua estudiadas.	156
Anexo 3. DEAE Sephadex A-25.....	157
Anexo 4. Enzima Sulfatasa de <i>Helix pomatia</i>	158
Anexo 5. Caracterización de los glucosinolatos identificados en los ecotipos amarillo y morado de mashua cosechada (fresca).	159
Anexo 6. Estructuras 2D y 3D de los glucosinolatos identificados en los ecotipos amarillo y morado de mashua cosechada (fresca).	160
Anexo 7. Contraste de tiempos de retención para la identificación de GSL en Mashua.	163
Anexo 8. Contraste de espectros de absorción para la identificación de GSL en Mashua.....	164
Anexo 9. Identificación de Glucoabrietin en variedades domésticas de tubérculos de Mashua, reportado por Ramallo <i>et al.</i> (2004).	167
Anexo 10. Análisis de varianza multifactorial para el contenido de glucosinolatos totales e individuales en mashua, variedad amarilla.....	168
Anexo 11. Gráficos de Dispersión y Gráficos de Medias para mashua, variedad amarilla	174
Anexo 12. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza 95% para mashua, variedad amarilla.....	180
Anexo 13. Análisis de varianza multifactorial para el contenido de glucosinolatos totales e individuales en mashua, variedad morada.....	186
Anexo 14. Gráficos de Dispersión y Gráficos de Medias para mashua, variedad Morada.....	191
Anexo 15. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza 95% para mashua, variedad morada.	196
Anexo 16. Análisis de varianza multifactorial para la actividad mirosinasa en mashua, variedad amarilla.....	201
Anexo 17. Gráficos de Dispersión y Gráficos de Medias para actividad mirosinasa mashua, variedad amarilla.	202
Anexo 18. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza 95% para actividad mirosinasa en mashua, variedad amarilla	203
Anexo 19. Análisis de varianza multifactorial para la actividad mirosinasa en mashua, variedad morada.	204
Anexo 20. Gráficos de Dispersión y Gráficos de Medias para actividad mirosinasa mashua, variedad morada	205
Anexo 21. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza 95% para actividad mirosinasa en mashua, variedad morada.	206
Anexo 22. Degradación enzimática de los glucosinolatos.....	207
Anexo 23. Cromatogramas, espectros de absorción y curva de calibración del Sinigrin.	208
Anexo 24. Fórmulas empleadas para la cuantificación del contenido de glucosinolatos y actividad mirosinasa.....	211

RESUMEN

La Mashua, tubérculo andino comestible, posee un alto contenido de glucosinolatos. El interés particular en estos metabolitos secundarios activos para la investigación de alimentos se basa en sus propiedades anticancerígenas y su potencial uso en la salud humana, pero es necesario también tener en cuenta que cuando las células vegetales sufren daños, los glucosinolatos entran en contacto con la mirosinasa de la planta, la cual los hidroliza, degradándolos a otros compuestos. Se evaluaron los perfiles de glucosinolatos, el contenido de glucosinolatos y la actividad mirosinasa en las variedades amarilla y morada de mashua fresca sin procesamiento y en mashua tratada mediante varios tipos de procesamiento, los cuales incluyeron el tratamiento previo (tubérculos soleados y sin solear), el tratamiento (ebullición y microondas) y tiempo (3, 4,5 y 6 minutos) de blanqueado, el estado del tubérculo al momento del blanqueado (entero y cortado) y la temperatura de secado industrial (60 y 80 °C). Se identificaron cinco glucosinolatos (GSL): 5-metilsulfonilpentil, 4-hidroxibencil, 4-hidroxi-3-indolylmetil, bencil y 4-metoxibencil, de los cuales el 4-metoxibencil glucosinolato fue el más abundante en ambas variedades, representando el 98 y 95 % del total de GSL en los ecotipos amarillo y morado, respectivamente. De acuerdo con la concentración total de glucosinolatos encontrada: 74.22 y 110.60 micromoles por gramo de base seca

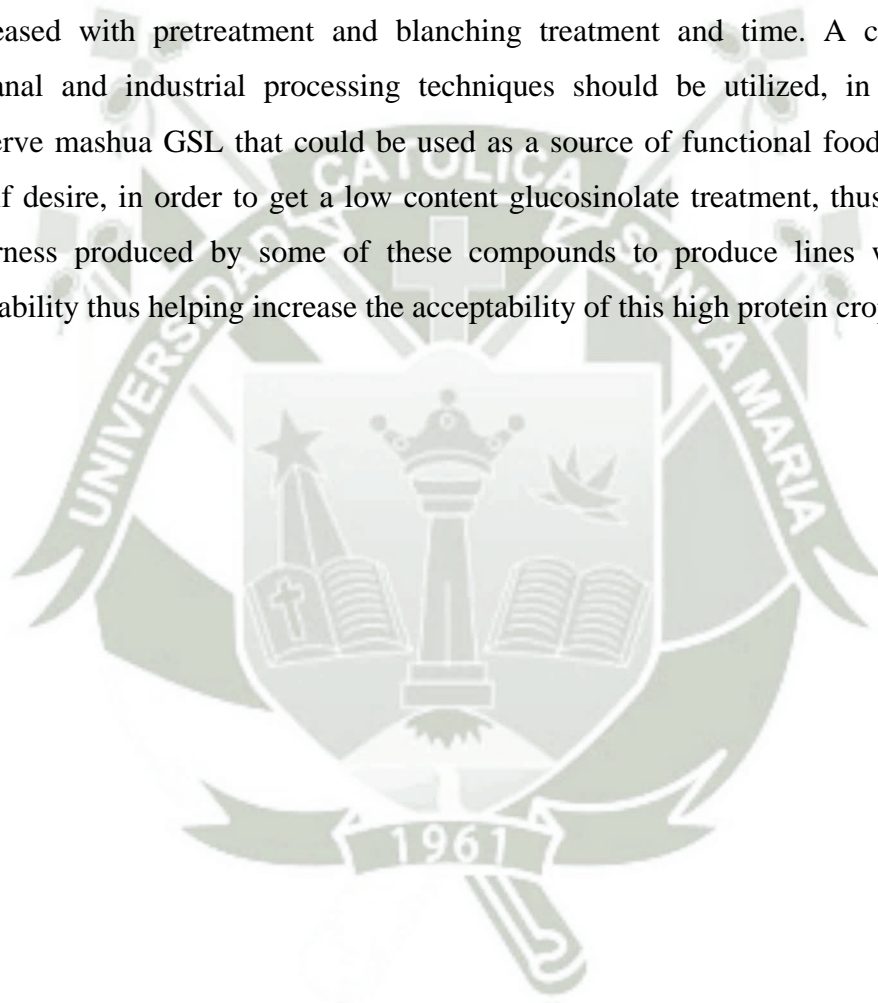
($\mu\text{mol/gBS}$) para la variedad amarilla y morada, respectivamente, la mashua podría ser hasta el momento, la matriz vegetal comestible con el más alto contenido de GSL existente. La cantidad total de GSL observada después del tratamiento varió desde 1.37 hasta 93.48 $\mu\text{mol/gBS}$ para la variedad amarilla y desde 10.32 hasta 113.04 $\mu\text{mol/gBS}$ para la variedad morada. La mayoría de los tratamientos con bajo contenido de GSL se distribuyen en tubérculos sin solear, cortados, blanqueados por microondas durante 4.5 y 6 minutos y a ambas temperaturas de secado, mientras que los más altos contenidos de GSL totales e individuales se observaron en tubérculos sin solear, cortados, sin blanquear o blanqueados por ebullición durante 4.5 y 6 minutos y a ambas temperaturas de secado. Respecto a la actividad mirosinasa, esta disminuyó con el tratamiento previo y el tratamiento y tiempo de blanqueado. Se debe utilizar una combinación de técnicas artesanales e industriales de procesamiento para preservar mejor el contenido de GSL en mashua debido a su potencial uso como fuente de alimentos funcionales o materia prima para fármacos en medicina, o para obtener tratamientos que retengan bajos contenidos de glucosinolatos, eliminando así el amargor y la astringencia producidos por algunos de estos compuestos, para producir líneas con palatabilidad mejorada que ayuden a aumentar la aceptación de este cultivo altamente proteico.



ABSTRACT

Mashua, an Andean edible tuber, has a high content of glucosinolates. The particular interest in these active secondary metabolites for food research is based on their anticarcinogenic properties and potential use in human health; but it is also necessary to consider that when vegetable cells are damaged, glucosinolates are brought into contact with plant myrosinase, which hydrolyzes them and breaks them down in other compounds. Glucosinolate profiles, glucosinolate contents and myrosinase activity were evaluated in yellow and purple varieties of fresh mashua without processing and in treated mashua by several types of processing including pretreatment (sunny and non-sunny tubers), blanching treatment (conventional boiling and microwaving) and time (3, 4.5 and 6 minutes), tuber condition at blanching time (intact and chopped tubers) and industrial drying temperature (60 and 80°C). Five glucosinolates (GSL) were identified: 5-methylsulfinylpentyl, 4-hydroxybenzyl, 4-hydroxy-3-indolylmethyl, benzyl and 4-methoxybenzyl, of which 4-methoxybenzyl glucosinolate was the most abundant in both varieties, representing 98 and 95% of the total GSL in yellow and purple ecotype respectively. According to the total glucosinolate concentration found: 74.22 and 110.60 micromols per gram of dried weight ($\mu\text{mol/gDW}$) for yellow and purple variety respectively, mashua might be so far, the edible glucosinolate-containing vegetable with

the highest level of GSL existing. The total amount of GSL observed after processing ranged from 1.37 to 93.48 $\mu\text{mol/gDW}$ for the yellow variety and from 10.32 to 113.04 $\mu\text{mol/gDW}$ for the purple variety. Most of the low content GSL treatments are distributed within non sunny chopped tubers, microwaved for 4.5 and 6 minutes and at both temperatures of drying, while the highest total and individual GSL content were observed within non sunny chopped tubers, without blanching or boiled for 4.5 and 6 minutes and at both temperatures of drying. In regard to myrosinase activity, it was decreased with pretreatment and blanching treatment and time. A combination of artisanal and industrial processing techniques should be utilized, in order to best preserve mashua GSL that could be used as a source of functional foods or medicine, and if desire, in order to get a low content glucosinolate treatment, thus removing the bitterness produced by some of these compounds to produce lines with improved palatability thus helping increase the acceptability of this high protein crop.



ABREVIATURAS

[GSL]:	Concentración de glucosinolatos
°C:	Grados centígrados
µl:	Microlitro
µmol:	Micromol
Abs:	Absorbancia
Ala:	Alanina
ANOVA:	Análisis de Varianza
aprox.:	Aproximadamente
B:	Bencil glucosinolato (Glucotropaeolin)
BF:	Base fresca o base húmeda
BS:	Base seca
cc:	Centímetro cúbico
cm:	Centímetro
DEAE:	Dietilaminoetil
EE:	Error estándar de la media
Fen:	Fenilalanina
g:	Gramo
GSL:	Glucosinolatos
Ha:	Hectárea
HPLC:	Cromatografía Líquida de Alta Performance
hr(s):	Hora(s)
Ile:	Isoleucina
kg:	Kilogramo
L:	Litro
Leu:	Leucina
m.:	Metro
M:	Molar

Met:	Metionina
mg:	Miligramo
MilliQ:	Agua ultrapura
min:	Minuto
ml:	Mililitro
mm.:	Milímetro
mM:	Milimolar
MOB:	4-Metoxibencil glucosinolato (Glucoaubrietin)
msnm:	Metros sobre el nivel del mar
MSP:	Metilsulfinilpentil glucosinolato (Glucoalyssin)
Myr:	Mirosinasa
ND:	No detectado
nm:	Nanómetro
OHB:	4-Hidroxibencil glucosinolato (Glucosinalbin)
OHIYM:	4-Hidroxi-3-indolilmetil glucosinolato (4-Hydroxyglucobrassicin)
pH:	Potencial de Hidrogeniones
R:	Estructura de la cadena lateral de los glucosinolatos
RPM:	Revoluciones por minuto
RTAS:	Raíces y Tubérculos Andinos
s:	Segundo
Tir:	Tirosina
Trp:	Triptofano
v/v:	Relación volumen/volumen
Val:	Valina
λ :	Longitud de Onda



CAPÍTULO I: GENERALIDADES

1.1 INTRODUCCIÓN

Las nuevas tendencias en los hábitos dietéticos y la necesidad de alimentos funcionales de amplio efecto benéfico para la salud que disminuyan el riesgo de diversos tipos de enfermedades, han llevado a investigadores de todas partes del mundo a la búsqueda de cultivos cuyo uso popular en la medicina tradicional pueda ser científicamente demostrado e industrializado.

La mashua, tubérculo andino cultivado por siglos en el Perú, posee diversos usos populares en la mejora de la salud, siendo su potencial anticancerígeno (Roca, 2010), el más importante de ellos. Se ha demostrado que extractos de mashua suprimen la proliferación de células tumorales en células experimentales de colon y próstata (Noratto *et al.*, 2004), efecto atribuido principalmente a compuestos bioactivos descritos como glucosinolatos (Ortega *et al.*, 2006). Pero, lo que es aún más atractivo, es que estaríamos frente a la especie comestible con mayor contenido de glucosinolatos reportado hasta el momento, superando por entre tres hasta cincuenta veces más, el contenido de glucosinolatos reportado en brócoli, coliflor, coles de Bruselas y rábano (Ramallo *et al.*, 2004; Mithen *et al.*, 2000), especies conocidas por su destacado contenido de estos compuestos. Adicionalmente, la mashua es considerada como el tubérculo más promisorio debido a la rusticidad del cultivo, tolerancia a plagas y a su alto rendimiento, que aún en condiciones marginales supera a los demás tubérculos, incluyendo a la papa (Grau *et al.*, 2003).

Teniendo en cuenta que este tubérculo solo se produce una vez al año y posteriormente ya no se encuentra disponible en el mercado; que un inadecuado manejo post cosecha podría disminuir el contenido de glucosinolatos; que sus características organolépticas (sabor amargo y astringente) y su poca difusión juegan en contra de su consumo en la dieta; que la preparación casera está basada en la conveniencia y preferencias de sabor por sobre la retención de nutrientes y compuestos benéficos para la salud y, que no se cuenta con trabajos de investigación

previos sobre la búsqueda de tratamientos y condiciones de procesamiento, ni sobre el efecto que estos pueden ejercer sobre el contenido de glucosinolatos en mashua, es necesario buscar métodos de transformación que permitan optimizar la retención de glucosinolatos, mejoren la textura y sabor del tubérculo, induzcan cambios favorables en la composición de nutrientes, aseguren una permanente disponibilidad del producto y conlleven a lograr la industrialización de este cultivo abandonado, para su ingreso y distribución en el mercado.

El estudio del contenido de glucosinolatos y la actividad mirosinasa (enzima que degrada los glucosinolatos) a través de las diferentes etapas del procesamiento, como el soleado (que convierte los almidones en azúcares mejorando el sabor), el blanqueado (que mediante inactivación enzimática impide la degradación de los glucosinolatos) y el secado (que mediante la deshidratación incrementa el período de conservación y mejora la presentación del producto), entre otros factores estudiados en la presente investigación, permitirá una futura selección de variedades y tratamientos con alto contenido de glucosinolatos benéficos que podrían ser usados como fuente de alimentos funcionales o materia prima para fármacos en medicina y también, permitirá la selección de variedades y tratamientos con bajo contenido de glucosinolatos, eliminando así el amargor y la astringencia producidos por algunos de estos compuestos, para producir líneas con sabor mejorado que ayuden a incrementar la aceptación de este cultivo altamente proteico.

1.2 HIPÓTESIS

Siendo los glucosinolatos, los metabolitos secundarios de mayor importancia y actividad biológica correspondientes a la mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón), y al mismo tiempo, siendo estos sensibles a la acción de la enzima mirosinasa, es probable, que mediante el procesamiento (soleado, blanqueado y secado, entre otros procesos de menor importancia estudiados en este trabajo), se

determinen tratamientos que potencien la conservación de dicho principio activo para su uso en la salud y tratamientos que mejoren el sabor disminuyendo la presencia de estos compuestos y así, se estandaricen técnicas de procesamiento del tubérculo a nivel industrial.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo General

- Evaluar el efecto del procesamiento en el contenido de glucosinolatos y la actividad mirosinasa en mashua morada y mashua amarilla (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón).

1.3.2 Objetivos Específicos

- Evaluar la influencia del procesamiento en el contenido de glucosinolatos totales e individuales en mashua morada y mashua amarilla (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón).
- Evaluar la influencia del procesamiento en la actividad mirosinasa en mashua morada y mashua amarilla (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón).
- Comparar y relacionar el contenido de glucosinolatos y la actividad mirosinasa en el procesamiento de mashua morada y mashua amarilla (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón).

1.4 JUSTIFICACIÓN

El Perú, país megadiverso, dota de valiosos recursos vegetales a su población, sin embargo, la falta de conocimiento y difusión sobre las bondades que presentan dichos recursos, impide que lleguen a tener acogida en zonas que vayan más allá de los lugares donde se producen, lo que está trayendo como consecuencia que su existencia no sea capaz de perdurar en el tiempo; esta realidad es común en muchos cultivos altoandinos evidenciándose ello en su limitado consumo.

Dentro de los productos altoandinos que han recibido especial atención en los últimos años se encuentra la mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) que constituye un cultivo robusto y de muy alto rendimiento que ha sido identificado como una fuente alimenticia nutritiva y barata con mucho potencial tanto para el consumo humano como animal. No obstante, el consumo de este tubérculo aún permanece limitado a tiempos de escasez debido a su fuerte sabor y a los efectos reproductivos adversos conocidos como antiafrodisiacos para el varón que se le adjudica. Pese a ello, posee importantes usos medicinales, pues su consumo produce efectos benéficos en la prevención de diversos tipos de cáncer, ante problemas hepáticos, renales, urinarios y de la próstata, contra las úlceras de la piel, la diabetes y la fiebre malaria, como agente inductor de la menstruación en mujeres, entre otros. Adicionalmente posee propiedades antifúngicas, insecticidas, nematocidas, antibióticas y diuréticas. Se cree que todos estos efectos biológicos estarían relacionados a sus metabolitos secundarios activos y el amplio rango de fitoquímicos que presenta, entre ellos y con mayor importancia, los glucosinolatos (GSL) y sus productos de degradación, los isotiocianatos, compuestos liberados con la hidrólisis de los GSL provocada por la enzima endógena mirosinasa (tioglucosido glucohidrolasa, EC 3:2:3:1).

Sea que se emplee el tubérculo con fines alimenticios o medicinales, este pasa por un procesamiento previo antes de su consumo. Actualmente, no se han reportado

estudios, trabajos o publicaciones que indiquen como el proceso de transformación en lo que respecta al soleado, estado del tubérculo al momento del blanqueado, tratamiento y tiempo de blanqueado y secado, afecta al contenido de glucosinolatos individuales y totales y la actividad mirosinasa de la mashua; teniendo en cuenta que todo proceso de transformación produce cambios en las características físicas y químicas de cualquier producto. Es entonces que el presente proyecto de investigación busca determinar las condiciones, tratamientos y técnicas de procesamiento del tubérculo que mejor conserven sus principios activos y/o mejoren su aceptación, con miras a su industrialización y difusión para su inserción en un competitivo y exigente mercado.

1.5 VARIABLES

1.5.1 Variables Independientes

- Genotipo de Mashua
- Tratamiento previo: Soleado
- Estado del tubérculo al momento del Blanqueado
- Tratamiento de Blanqueado
- Tiempo de Blanqueado
- Temperatura de Secado

1.5.2 Variables Dependientes

- Actividad mirosinasa
- Contenido de glucosinolatos individuales
- Contenido de glucosinolatos totales

1.6 ANTECEDENTES

Mientras que en el siglo XX, la meta de la nutrición humana era asegurar un aporte adecuado de energía, macro y micronutrientes, a partir del siglo XXI además de esto, adquiere importancia la presencia de componentes funcionales en la dieta (Tojo & Leis, 2003). Sin embargo, las nuevas tendencias en el consumo no solamente han influido en la búsqueda de nuevas propiedades en los alimentos, sino también en el procesamiento, otorgándoles mayor durabilidad, calidad de presentación y permitiéndoles ganar espacio en un mercado cada vez más exigente (Ramírez, 2010).

Todos los pueblos tuvieron y tienen la preocupación por tener suficientes reservas de alimentos para los momentos de escasez de comida. La ocurrencia de esas épocas requiere tener reservas de alimentos secos que se pueden guardar por un tiempo prolongado, como granos y harinas y también como tubérculos y raíces procesados y/o secados (Tapia & Fries, 2007).

Para Seminario (2004), la región andina es cuna de un gran número de cultivos alimenticios que fueron domesticados por pueblos autóctonos hace miles de años, inclusive mucho antes de la expansión de la civilización Inca. Con el transcurso del tiempo, algunos de estos cultivos han adquirido importancia global, como la papa. La mayoría, sin embargo, son poco conocidos internacionalmente e incluso a nivel de los mismos países andinos. Entre estos cultivos destacan la mashua o el isaño (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón). Frente a esto, Grau *et al.*, 2003 señaló que la mashua es considerada como el tubérculo más promisorio debido a la rusticidad del cultivo y a su rendimiento que supera a los demás tubérculos incluyendo la papa, pero a su vez, mencionó que la limitada información disponible en muchos aspectos importantes y frecuentemente básicos sobre cultivos olvidados y subutilizados como la mashua, obstaculiza su desarrollo y conservación sostenible.

No obstante, este cultivo presenta una serie de bondades dentro de las cuales se reporta la presencia de compuestos bioactivos como los compuestos fenólicos, antocianinas y carotenoides, que permiten prevenir y curar algunas enfermedades, y además, se le señala como posible fuente de componentes químicos con potencial uso en la industria farmacéutica y en la medicina. Sin embargo, hay reconocer que las RTAS, a pesar de ser una excelente opción para la agroindustria y la industria farmacéutica, no han sido capaces de mantenerse en el mercado, en muchos casos, ni siquiera para el consumo local (Barrera *et al.*, 2004).

Un grupo importante de metabolitos encontrados en la mashua son los glucosinolatos, sustancias poseedoras de un gran potencial funcional y/o nutraceútico, pues han sido identificados como probables agentes de prevención de diversos tipos de cáncer (Noratto *et al.*, 2004). De acuerdo con investigaciones anteriores (Ortega *et al.*, 2006 y Ramallo *et al.*, 2004), se ha encontrado que el contenido de glucosinolatos en mashua es mayor al encontrado en otras plantas comestibles, siendo el p-metoxibencilglucosinolato el glucosinolato más abundante encontrado.

La influencia de costumbres externas a la zona, los cambios en los hábitos de consumo, la desvalorización y/o desconocimiento de variedades nativas por las nuevas generaciones y la presión del mercado, conducen a una erosión paulatina de la riqueza fitogenética. Por ello es necesario incentivar el rescate y revalorización de los usos tradicionales y alternativos, como una medida para "fortalecer la conservación a través de los usos" (García & Cadima, 2003), pues el potencial del cultivo de mashua ha pasado desapercibido en gran medida y las oportunidades para un uso más amplio dentro de su área de distribución natural y más allá, han permanecido inexploradas (Grau *et al.*, 2003).



CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. MASHUA

2.1.1 Generalidades

La mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) es el cultivo altoandino que ocupa el cuarto lugar en importancia en la región de los Andes después de la papa, la oca y el olluco (National Research Council, 1989). Este tubérculo comestible, se ha cultivado por siglos desde Venezuela hasta Argentina, entre los 2800 a 4000 msnm, siendo por lo general el Perú, su mayor productor (Chirinos *et al.*, 2008a), sin embargo, se ha adaptado muy bien Estados Unidos, Inglaterra y Nueva Zelanda (Roca & Manrique, 2005). En la Figura 1 puede observarse la distribución de este cultivo.

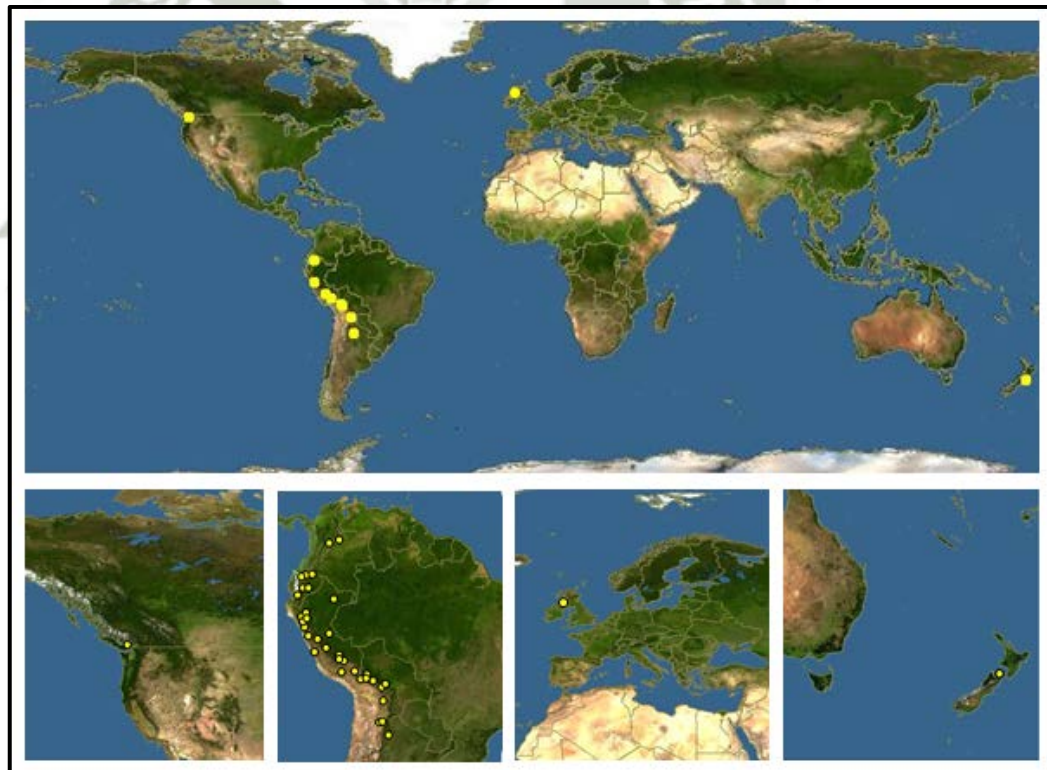


Figura 1. Distribución de cultivos de mashua en el mundo.

Fuente: (DiscoverLife, 2012)

Los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* son una fuente importante de alimentos para alrededor de 9 millones de personas que viven en altitudes de 2500 a 4000 m. a lo largo de toda la Cordillera de los Andes y representan uno de los cultivos andinos con mayor rendimiento, mejor resistencia a las heladas y mayor facilidad de crecimiento (Travis, 1999).

2.1.2 Denominaciones

La mashua (o maswa), es una palabra Quechua sin significado conocido, es el nombre común más ampliamente utilizado para la planta y el tubérculo, especialmente en el sur de Colombia, Ecuador y la zona central de Perú. Masua (o maswa) es la forma utilizada en Quechua en la región de Ayacucho. Otros términos como maxua, majua, mazuco, maswallo, mascho, son probablemente variaciones post-Colombianas bajo la influencia de la lengua española. Los Quechua-hablantes también se refieren a la mashua como añu, una palabra derivada del término Aymara isañu o isaño; en la región del Cusco, se usa el término añu, mientras que isaño es comúnmente usado en los alrededores del Lago Titicaca y el sur de Bolivia, incluyendo la región de Cochabamba. En Colombia se utiliza el término cubio, cuyo origen se desconoce pero podría derivar de la lengua pre-Colombiana, indicando así la antigüedad de este cultivo (Grau *et al.*, 2003). En la Tabla 1 se presenta una lista de denominaciones, incluyendo las menos comunes.

La presencia de por lo menos tres grupos de nombres completamente diferentes – mashua, añu y cubio – sugiere que el cultivo se estableció ampliamente antes del efecto homogeneizante de las conquistas Inca y Española. Este fenómeno apoya la idea de que o bien el cultivo fue domesticado y dispersado muy tempranamente, o que fue domesticado independientemente en las diferentes áreas de los Andes.

Tabla 1. Denominaciones comunes y poco comunes de Mashua.

Nombre	Idioma	Región/País
Allauso		Perú
Añu	Quechua	Perú
Apilla	Quechua	Bolivia
Apiñamama	Quechua	Perú
Capuchinha tuberosa	Portugués	Portugal
Capucine tubéreuse	Francés	Francia
Cubios	Español	Colombia
Galu Gallu		
Isaño	Aymara	Bolivia/Titicaca
Majua	Español	Ecuador
Mashua	Quechua	Ecuador
Mashua		Perú
Maxua	Español	Ecuador
Mashua		Perú
Navios	Español	Colombia
Navos	Español	Colombia
Ocaquisañó	Quecha	Bolivia
Pane	Guambiano	Colombia
Peruanische Knollenkresse	Alemán	Alemania
Puel	Paéz	Sur de Colombia
Sisaño	Aymara	Argentina Jujuy
Tropeolo del Perú	Italiano	Italia
Tuber nasturtium	Inglés	Reino Unido

Fuente: Recopilación realizada por Grau *et al.*, 2003.

Los tubérculos de Mashua muestran una notablemente amplia gama de colores y características en los nombres de las variedades que a menudo se refieren a ellos. En la Tabla 2 se presenta una lista de los nombres más frecuentes.

Tabla 2. Nombres de las variedades más comunes de Mashua.

Nombre	Atributos del Tubérculo
Occe-añu	Plomizo
Yana-añu	Negro
Checche-añu	Gris
Ckello-añu, K'ello-añu	Amarillo
Muru-añu	Morado
Phutilla añu	Rojo
Puca-añu	Rojo
Yana-añu	Negro
Yurac-añu	Blanco
Zanahoria-añu	Similar a una zanahoria
Zapallo-añu	Similar a una calabaza
Quillu-mashua	Amarillo
Putsu-mashua	Fondo amarillo con rayas rojas
Sucsu-mashua	Fondo amarillo con rayas rosadas
Mashua yana-saco	Negra
Mashua-chaucha	Maduración temprana
Mashua-shira	Amarilla con punto morados
Mashua-zapallo	Amarilla y roja
Mashua-zapallo	Amarilla
Sangre de Cristo (Christ's blood)	Fondo amarillo con rayas rojas
Yawar waqac (weeping tears of blood)	Fondo Amarillo con rayas rojas
Huaka hasta o Huagra hasta	Curvada y larga
K'ella añu	Olor fétido
Take-añu o taqui-añu	Buena para el almacenamiento
Kita-añu	Mashua silvestre
Añu-añu	Mashua silvestre

Fuente: Recopilación realizada por Grau *et al.*, 2003.

2.1.3 Clasificación

Tropaeolum es el género más grande de la familia Tropaeolaceae, que incluye a 86 especies distribuidas por toda Sudamérica (Sparre & Anderson 1991 cit. en Grau *et al.* 2003). La clasificación taxonómica se encuentra detallada en la Tabla 3 a continuación:

Tabla 3. Clasificación Taxonómica de la Mashua.

Clasificación Taxonómica para <i>Tropaeolum tuberosum</i>	
Reino	: Plantae (Vegetal)
Subreino	: Viridaeplantae (Plantas verdes)
Infrareino	: Streptophyta (Planta terrestre)
División	: Tracheophyta (Plantas vasculares)
Subdivisión	: Spermatophytina (Plantas de semillas, fanerógamas)
Tipo	: Angiospermae (Plantas con flor)
Clase	: Magnoliopsida
Subclase	: Rosanae
Orden	: Brassicales
Familia	: Tropaeolaceae
Género	: <i>Tropaeolum</i>
Especie	: <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pav.

Fuente: National Center for Biotechnology Information NCBI (2012), Integrated Taxonomy Information System IT IS (2012), Germoplasm Resources Information Network GRIN (2006), National Resources Conservation Service NRCS (2012).

Referente a la clasificación por especie, Grau *et al.* (2003) reconocen dos subespecies para *T. tuberosum*: la cultivada *T. tuberosum ssp. tuberosum* y la silvestre *T. tuberosum ssp. silvestre*.

2.1.4 Características del Cultivo

Las mashua es una planta anual, herbácea, glabra en todas sus partes, de crecimiento inicialmente erecto que luego varía a semiprostrada y trepadora, ocasionalmente mediante los peciolos táctiles (Arbizu & Tapia, 1992).

Su fotoperiodo corresponde a días cortos, 10-12 horas de luz para tuberizar (Tapia M. , 1979) y su período vegetativo es de 175-280 días, correspondientes a entre 6 y 9 meses (Samaniego, 2010; Grau *et al.*, 2003). Es tolerante a bajas temperaturas, soportando desde -5 hasta 22°C (Grau *et al.*, 2003). Requiere de suelos sueltos, de pH ligeramente ácido entre 5 – 6, sin embargo, también se desarrolla entre pH 5.3 – 7.5 y requiere también de fuertes lluvias en un rango entre 700 y 1600 mm. y de mucha nubosidad para un óptimo crecimiento (National Research Council, 1989). Presenta una diversidad muy marcada en cuanto a su morfología y color, variando desde crema hasta morado oscuro (Chirinos *et al.*, 2008a).

Este cultivo es muy rústico, por lo cual puede cultivarse en suelos pobres, sin uso de fertilizantes y pesticidas, y aún en estas condiciones, su rendimiento puede duplicar al de la papa (Grau *et al.*, 2003).

La mashua posee una amplia gama de fitoquímicos que protegen no sólo el cultivo mismo, sino también a los cultivos asociados, contra las plagas. Además, excepto en suelos de bajo drenaje, la mashua es susceptible a muy pocas enfermedades. Su crecimiento agresivo, la convierte en una buena cobertura terrestre, adecuada para la protección del suelo en las laderas escarpadas de los Andes. Los bajos requisitos de insumos, la tolerancia a plagas y enfermedades, la alta productividad y sus usos multipropósitos, son las características que hacen de la mashua una planta muy atractiva para la agricultura orgánica (Grau *et al.*, 2003).

2.1.5 Rendimiento

Rendimientos sobre 70000 kg/Ha han sido registrados en parcelas experimentales en Ecuador y Cusco (Hermann, 1992; Arbizu y Tapia, 1992 citados por Barrera *et al.*, 2004). El Informe Técnico Anual del INIAP, (1989) señala que la mashua fue el cultivo con mayor rendimiento y puede ser considerado como el más promisorio desde el punto de vista agronómico, aunque es el menos apetecido por los consumidores en comparación con otros tubérculos, debido principalmente a su sabor astringente. El más alto rendimiento reportado fue de 74666 kg/Ha, rendimiento que supera a cualquier otro tubérculo andino incluyendo la papa.

Resultados de un ensayo experimental para registrar la relación directa entre el número de tubérculos sembrados y el rendimiento obtenido por planta, muestran un promedio general de 1.88 kg/planta (Álvarez & Merino, 2009) e incluso 4 Kg/planta (Navas de Alvarado *et al.*, 1993) y un porcentaje de daño por plagas de apenas el 2.31%, confirmando sus propiedades contra la incidencia de plagas, enfermedades y la rusticidad del cultivo.

Pese a sus innumerables bondades, este cultivo no garantiza al pequeño agricultor contar con suficiente cantidad de alimentos durante los 6 y 8 meses de estación seca donde no existe cultivo alguno. Este cultivo es ofertado en cantidades relativamente grandes únicamente durante los dos o tres meses posteriores a la cosecha (Arbizu y Hermann, 1993).

2.1.6 Valor Nutricional

La Tabla N°4 muestra la composición química completa de tubérculos de Mashua por 100 g de porción comestible (Peso fresco).

Tabla 4. Composición química de tubérculos de mashua por 100 g. de peso fresco.

Componente	Unidades	Rango*	Promedio
Humedad	g.	79.2 - 93.8	n.a.
Proteína Cruda	g.	1.1 - 2.27	1.5
Grasas	g.	n.a.	0.7
Fibra	g.	0.5 - 1.5	0.9
Minerales (Cenizas)	g.	0.6 - 1.1	0.8
Azúcares Totales	g.	n.a.	3.5
Azúcares Reductores	g.	n.a.	2.9
Almidón	g.	7.0 - 10.5	8.9
Energía	kcal.	35-50	n.a.
Calcio	mg.	n.a.	12
Potasio	mg.	1.3 - 1.8	1.5
Hierro	mg.	n.a.	1.0
Fosforo	mg.	0.6 - 0.8	0.7
Vit. A (β -caroteno)	μ g.	n.a.	10
Tiamina	mg.	n.a.	0.10
Riboflavina	mg.	n.a.	0.12
Niacina	mg.	n.a.	0.67
Ácido Ascórbico	mg.	n.a.	77.5
Lisina	mg/g de proteína	35 - 69	n.a.
Treonina	mg/g de proteína	22 - 46	n.a.
Valina	mg/g de proteína	25 - 88	n.a.
Isoleucina	mg/g de proteína	25 - 44	n.a.
Leucina	mg/g de proteína	35 - 56	n.a.
Tirosina	mg/g de proteína	13 - 62	n.a.
Triptófano	mg/g de proteína	5 - 12	n.a.
Cisteína	mg/g de proteína	1.4 - 29	n.a.

Fuente: Recopilación de datos realizada por Grau *et al.*, 2003.

*Los rangos indican los valores mínimos y máximos previstos por uno o varios autores, trabajando con diferentes cultivares.

El contenido de agua de los tubérculos de mashua es comparativamente alto, estando en un rango de 79 a 94 % en la porción comestible o materia fresca.

La principal contribución nutricional de la mashua es su alto contenido de carbohidratos, particularmente de almidón (8.9 %), pero también de azúcares (6.4 %).

El contenido proteico en materia fresca se acerca a los valores de la papa, y en materia seca, puede variar de 6.9 a 15.9 % (Urresta, 2010; Cadima Fuentes, 2006), constituyéndose como una fuente altamente nutritiva. Los análisis de aminoácidos muestran una satisfactoria composición nutricional comparada con las recomendaciones de la OMS (Shah *et al.*, 1993; Stegemann y Shah, 1993; citados por Grau *et al.*, 2003).

Otro aspecto muy importante es el alto contenido de ácido ascórbico (77.5 mg/100 g materia fresca) en la mashua en comparación con otros tubérculos andinos (Grau *et al.*, 2003).

Adicionalmente, la mashua contiene también isotiocianatos (productos de la degradación de los glucosinolatos), también conocidos por sus propiedades anticancerígenas (Noratto *et al.*, 2004), antibióticas, insecticidas, nematocidas y diuréticas (Johns *et al.*, 1982), lo que justifica el uso extenso de mashua en la medicina tradicional andina. El sabor picante característico de la mashua es producido por el p-metoxibencil isotiocianato, compuesto que parece ser específico de *T. tuberosum ssp. tuberosum* y que puede estar acompañado de pequeñas cantidades de 2-propil isotiocianato. Valores de tiocianatos superiores a 20 mg/100 g son comúnmente encontrados en mashua cruda (Grau *et al.*, 2003). Dolores & Espín (1997) encontraron valores de 23-33 mg/100 g en accesiones de mashua de la colección ecuatoriana del INIAP.

2.1.7 Colecciones de Germoplasma, Situación Actual y Potencial del Cultivo

Al 2001 se contaba con 810 accesiones de mashua en los diferentes bancos de conservación de germoplasma a nivel mundial (Talledo *et al.*, 2001), de las cuales, según el INIA (Instituto Nacional de Innovación Agraria del Perú), las colecciones de campo del Perú, mantenidas y evaluadas en Ayacucho, Cajamarca, Huancayo, Cuzco y Puno, sobrepasan las 300 accesiones.

La mayoría de los tipos del tubérculo de mashua contienen altos niveles de isotiocianatos que les confieren un sabor picante (Grau *et al.*, 2003), esto, sumado a las pocas formas de preparación, inciden en la baja demanda del poblador urbano, quien prefiere productos novedosos de fácil preparación a medida que sus ingresos se incrementan (Caicedo y Ayala, 1993, citados por Córdoba, 2012).

Al parecer, una serie de atributos positivos, tales como rusticidad, tolerancia a plagas y alta productividad con bajos niveles de insumos no pueden compensar la actual falta de "interés del mercado". Es por ello que el potencial del cultivo ha sido pasado por alto y las oportunidades para un uso más amplio dentro y fuera de su área de distribución natural han permanecido inexploradas (Grau *et al.*, 2003).

Si se identificara un mercado más amplio y se contara con los recursos de marketing necesarios, la mashua sería una excelente candidata para la mejora del cultivo debido a la gran diversidad disponible en las colecciones de germoplasma de mashua, la facilidad de hibridación de mashua domesticada con mashua silvestre y con otras especies de *Tropaeolum*, así como el establecimiento de la semilla fecunda de mashua, lo que hace posible el mejoramiento convencional (Grau *et al.*, 2003).

2.1.8 Usos

2.1.8.1 Usos en la medicina

El contenido de antocianinas y compuestos fenólicos de la mashua es muy alto (Chirinos *et al.*, 2008a, Chirinos *et al.*, 2008b), sobre todo en los cultivares de pulpa púrpura o morada. La actividad antioxidante de la mashua es entre 2 y 5 veces más alta que la del blueberry o arándano (*Vaccinium stamineum*) (Roca & Manrique, 2005) y representa compuestos bioactivos muy importantes porque actúan como agentes protectores para prevenir el envejecimiento biológico de los tejidos (Sarni-Manchado & Cheynier, 2006).

Los glucosinolatos, importantes compuestos activos a los que se les atribuye actividad anticancerígena, se encuentran en una cantidad elevada en los tubérculos deshidratados (121 $\mu\text{mol/g}$ BS) (Valer, 2001), concentración superior a cualquier otra especie comestible hasta el momento (Ramallo *et al.*, 2004). Algunos extractos de mashua, ricos en isotiocianatos (productos de degradación de los glucosinolatos), han mostrado actividad anticancerígena sobre células cancerosas experimentales de colon y la próstata (Noratto *et al.*, 2004).

Las dietas con mashua tienen fama de tener efectos beneficiosos sobre el hígado y los riñones y de aliviar trastornos urinarios y de la próstata (Grau *et al.*, 2003). Bateman (1961) indicó que la mashua utilizada para alimentar cerdos parecía tener un efecto diurético, lo cual es coherente con efectos similares en seres humanos reconocidos por la medicina tradicional andina (Brack, 1999).

Rea (1964) reportó el uso de mashua por personas con diabetes, utilizando tanto tubérculos cocidos como el agua en que fueron hervidos. Tapia *et al.* (1996) lista información sobre los usos medicinales de mashua para el tratamiento de la amigdalitis, el dengue y la malaria, y las condiciones post-parto.

Pérez Arbeláez (1947) citado por Grau et al. (2003) indica que la mashua es útil para el tratamiento de enfermedades de la piel, tales como eczema y manchas en la piel. Sin especificar la parte de la plantas utilizada, Oblitas (1969) indica que la mashua se utiliza para inducir la menstruación y también como vermífugo, es decir, para matar o expulsar lombrices intestinales.

Entre sus numerosos efectos medicinales, la mashua es mejor conocida en los Andes por sus propiedades depresoras sobre la libido, es decir, por su supuesta capacidad para suprimir el apetito sexual y disminuir la capacidad de reproducción y la función eréctil en los hombres (Oblitas, 1969; Brack, 1999). Johns *et al.* (1982), quien revisa estas creencias populares, demostró experimentalmente que tal vez no sean infundadas, puesto que ratas macho alimentadas con tubérculos de mashua redujeron significativamente los niveles de testosterona y dihidrotestosterona (45%), sin embargo, los animales de ensayo mantuvieron su capacidad para fecundar a las hembras.

Los efectos hormonales también pueden ser responsables de los efectos atribuidos sobre la menstruación. Johns *et al.* (1982) reportó que la N, N-di-(4-metoxi-bencil) tiourea presente en mashua puede inhibir competitivamente estradiol marcado radiactivamente utilizando una preparación de receptor de estrógeno en citosol de útero bovino, lo que sugiere que la mashua puede tener actividad estrogénica.

La mashua es también utilizada como como depurativo, para curar enfermedades venéreas; y adicionalmente, detiene hemorragias y cicatriza heridas internas y externas (Cárdenas, 1989; Espinosa *et al.*, 1997).

Teniendo en cuenta los efectos reportados, es probable que las sustancias bioactivas en mashua sean las responsables de las propiedades medicinales

atribuidas, sin embargo, las investigaciones y publicaciones al respecto todavía son muy limitadas (Anexo 1).

2.1.8.2 Usos en la alimentación humana

En la alimentación humana, la mashua es consumida generalmente luego de haber sido soleada, práctica generalizada en los Andes de exponer a la luz solar directa tubérculos y raíces, con el fin de aumentar la dulzura y reducir los niveles de cianuro antes de la cocción (Dolores & Espín, 1997). Otro procedimiento común es hornear la mashua en *huatia*, un horno de barro al aire libre, preparado típicamente en tiempo de cosecha con terrones o piedras. Cárdenas (1989) indica que en el pasado reciente, era una práctica común para la clase media de La Paz, Bolivia, comer mashua cocida y congelado empapado en jarabe de caña de azúcar (*thayacha*) durante el invierno, poco común en la actualidad (Grau *et al.*, 2003).

2.8.1.3 Usos en la alimentación animal

En la alimentación animal, se utiliza la mashua para alimentar cerdos para engorde (Urresta, 2010), sin embargo, es necesario controlar la cantidad suministrada para prevenir posteriores problemas por intoxicación.

2.8.1.4 Usos en la agricultura

En la agricultura, frecuentemente se le usa como cerco del cultivo principal para prevenir el ataque de enfermedades e insectos (Roca & Manrique, 2005). La asociación con otros tubérculos andinos se explicaría precisamente por los principios de control nematocida e insecticida que posee la planta debido a la presencia de un alto rango de fitoquímicos según señala Grau *et al.* (2003).

2.2. ALIMENTOS FUNCIONALES

Sevilla & Vargas (2009) y Aguilera et al. (2008) señalan que un alimento puede ser considerado funcional si se ha demostrado de forma satisfactoria que posee un efecto beneficioso sobre una o varias funciones específicas en el organismo, más allá de los efectos nutricionales habituales, siendo esto relevante para la mejora de la salud y el bienestar y/o la reducción del riesgo de desarrollo de enfermedades; siendo esta, hasta la fecha, la definición de mayor aceptación, habiéndose emitido en 1999 por el Internacional Life Science Institute en el documento de consenso Functional Food Science in Europe (FUFOSE).

Las plantas, además de aportar nutrientes, contienen una serie de sustancias no nutritivas que intervienen en su metabolismo secundario tales como sustancias colorantes (pigmentos), aromáticas, reguladores del crecimiento, protectores naturales frente a parásitos y otros, que no tienen una función nutricional clásicamente definida, o no son considerados esenciales para la salud humana, pero que pueden tener un impacto significativo en el curso de alguna enfermedad ejerciendo un efecto protector del sistema cardiocirculatorio, reduciendo la presión sanguínea, regulando la glucemia y la colesterolemia, reduciendo el riesgo de cáncer y mejorando la respuesta defensiva inmunitaria de nuestro cuerpo, entre otros. Estas sustancias se conocen como fitoquímicos o sustancias bioactivas, que aunque no se las pueda considerar sustancias esenciales, puesto que no se requieren en nuestro metabolismo, son indispensables a largo plazo para nuestra salud. (Palencia, 2004).

Los nuevos estilos de vida han provocado que se abandonen determinados hábitos de alimentación saludables que durante años han formado parte de nuestra historia y tradición; es así que actualmente, los desequilibrios y desajustes alimentarios están relacionados con la aparición de un gran número de enfermedades (Aranceta & Serra, 2003). Los fitoquímicos presentes en alimentos funcionales de origen

vegetal son de especial interés en la industria farmacéutica para la obtención de fármacos inocuos y efectivos para el tratamiento de diversas enfermedades (Drago, *et al.*, 2006) y es en este contexto que especialmente los alimentos no refinados y no tratados como los cultivos andinos, poseedores de múltiples cualidades y atributos funcionales (Tapia & Fries, 2007) representan una prometedora área de investigación, explotación y revalorización.

El conocimiento cada vez mayor de la implicación de los alimentos funcionales en la regulación de la expresión génica, de la proliferación y función celular, de la inmunomodulación, de la ecología intestinal, del sistema de antioxidación o del metabolismo es una muestra de la trascendencia que éstos tendrán en el futuro en los hábitos alimentarios de la población, tanto infantil, como adulta o anciana. Todo ello sumado al conocimiento del genoma y la biotecnología permitirán en un corto espacio de tiempo la realización de dietas de diseño e individualizadas, *dietas optimizadas* (Tojo & Leis, 2003) orientadas al cuidado de la salud y la prevención y más aún, a la curación de enfermedades.

2.3. GLUCOSINOLATOS

Los fitoquímicos de la dieta son potentes compuestos bioactivos de origen vegetal con una amplia gama de efectos propuestos que contrarrestan el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas (Holst & Williamson, 2004).

Los glucosinolatos (GSL) son un grupo importante de fitoquímicos, presentes y a menudo abundantes en mashua. Se afirma que estos componentes activos son los responsables de muchos de los efectos fisiológicos propuestos para *Tropaeolum tuberosum* en diferentes tipos de estudios, incluyendo estudios *in vitro*, estudios en animales y humanos, y estudios epidemiológicos (Fahey *et al.*, 2001; Ortega *et al.*, 2006; Ramallo *et al.*, 2004; Noratto *et al.*, 2004; Urresta, 2010).

Los glucosinolatos, han sido parte de la vida humana durante miles de años, y en las últimas décadas, la importancia de estos metabolitos secundarios vegetales ha aumentado aún más con el descubrimiento de su potencial como agentes de prevención del cáncer, compuestos para la protección de los cultivos, y biofumigantes en la agricultura (Halkier & Ghersenson, 2006).

2.3.1. Estructura Química

Los aproximadamente 120 glucosinolatos descritos son aniones orgánicos solubles en agua y comparten una misma estructura química que consiste en un residuo de β -D-glucopiranososa unido mediante un átomo de azufre a un éster de (Z)-N-hidroximosulfato, además de un grupo R variable derivado de uno de ocho aminoácidos (Fahey *et al.*, 2001). La estructura básica, común a todos los glucosinolatos se muestra en la Figura 2.

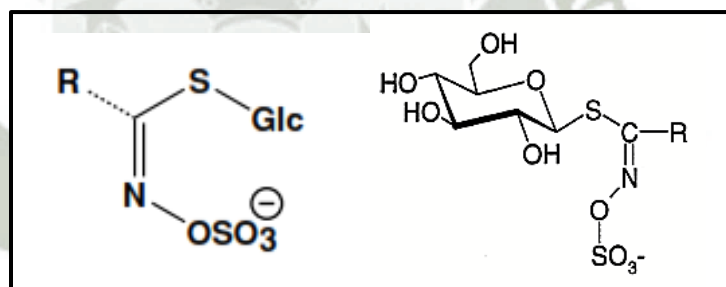


Figura 2. Fórmula semidesarrollada (izquierda) y fórmula estructural (derecha) de la estructura básica común de los glucosinolatos.

Fuente: Hafeld, 2002 (izquierda), Halkier & Ghersenson, 2006 (derecha)

Los glucosinolatos se pueden clasificar por su aminoácido precursor y los tipos de modificación en el grupo R. Compuestos derivados de Ala, Leu, Ile, Met o Val son llamados glucosinolatos alifáticos, los derivados de Fen o Tir son llamados glucosinolatos aromáticos, y los derivados de Trp son llamados glucosinolatos indólicos. Los grupos R de la mayoría de los glucosinolatos son ampliamente

modificados a partir de estos aminoácidos precursores, con la metionina experimentando una amplia gama de transformaciones (Fahey *et al.*, 2001). La mayoría de los grupos R son alargadas por uno o más restos de metileno. Ambos grupos R, alargados y no alargados, están sujetos a una gran variedad de transformaciones, incluyendo la hidroxilación, O-metilación, desaturación, glicosilación, y acilación (Halkier & Gherhenson, 2006).

2.3.2. Biosíntesis

La formación de glucosinolatos se puede dividir en tres fases separadas. En primer lugar, algunos aminoácidos alifáticos y aromáticos son alargados mediante la inserción de grupos metileno en sus cadenas laterales. En segundo lugar, el resto de aminoácido, ya sea alargado o no, es metabólicamente reconfigurado para dar la estructura del núcleo del glucosinolato. En tercer lugar, los glucosinolatos inicialmente formados son modificados por diversas transformaciones secundarias (Halkier & Gherhenson, 2006).

2.3.3. Hidrólisis

Cuando las células de la planta sufren daños durante el manejo, el procesamiento y/o la ingestión, los glucosinolatos son hidrolizados por la enzima mirosinasa o β -tioglucósido glucohidrolasa E.C. 3.2.1.147, encargada de catalizar la hidrólisis de los glucosinolatos tras producirse la ruptura celular liberando glucosa y una aglucona inestable que se reorganiza para formar una variedad compleja de productos biológicamente activos (Rask *et al.*, 2000). Los GSL y las enzimas mirosinasas se encuentran localizados en la misma célula, pero en compartimientos independientes; los GSL están almacenados en vacuolas junto al ácido L-ascórbico, mientras que las enzimas mirosinasas se encuentran en idioblastos especializados ricos en proteínas denominados células de mirosina, que se localizan en el tejido parenquimático (Márquez Lema, 2008).

Los productos de hidrólisis de los GSL incluyen isotiocyanatos, nitrilos, tiocyanatos, índoles y oxazolidin-tionas (Márquez Lema, 2008). La mayor parte de las actividades biológicas de glucosinolatos se atribuyen a las acciones de sus productos de hidrólisis (Halkier & Gherhenson, 2006), donde los isotiocyanatos e índoles poseen un mayor valor debido a sus propiedades anti-cancerígenas (Mithen *et al.*, 2000).

2.3.4. Degradación

Cuando se produce daño en la planta, los glucosinolatos son degradados a una variedad de productos de hidrólisis que son responsables de prácticamente todas las actividades biológicas de esta clase de compuestos. El proceso comienza con la hidrólisis, catalizada por la mirosinasa, del enlace tioglucósido, dando lugar a la formación de glucosa y una aglucona inestable (Bones & Rossiter, 1996; (Rask *et al.*, 2000).

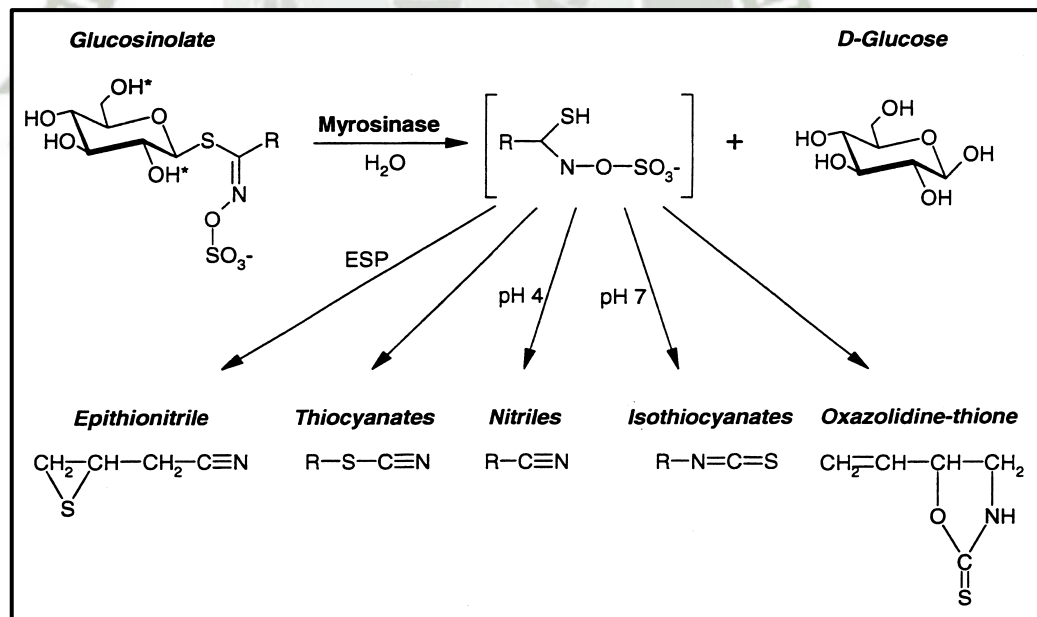


Figura 3. Hidrólisis de glucosinolatos catalizada por la enzima mirosinasa.

* Posiciones en las que la glucosa es acilada en determinados glucosinolatos.

Fuente: Rask *et al.*, 2000.

Dependiendo de la estructura de la cadena lateral y de la presencia de proteínas adicionales y cofactores, la aglicona se reorganiza para formar diferentes productos, incluidos los isotiocianatos, oxazolidin-2-tonas, nitrilos, epitionitrilos, y tiocianatos (Halkier & Gherhenson, 2006), como puede observarse en la Figura 3.

2.3.5. Productos de Hidrólisis

Los productos más comunes de la hidrólisis de los glucosinolatos son los isotiocianatos, formados a partir de la aglicona mediante una Transposición de Lossen que implica la migración de la cadena lateral de la oxima de carbono al nitrógeno adyacente. Cuando la cadena lateral del glucosinolato lleva un grupo hidroxilo en el C-2, los isotiocianatos formados son inestables y se ciclan a oxazolidin-2-tonas, una clase de sustancias conocidas por causar bocio (Cole, 1976).

En otras plantas, un porcentaje importante de productos de hidrólisis de los glucosinolatos son nitrilos (Lambrix *et al.*, 2001). La formación de nitrilos *in vitro* se ve favorecida a un pH menor a tres o en presencia de iones Fe^{2+} (Galleti *et al.*, 2001). Sin embargo, factores proteicos pueden estar implicados en la formación de nitrilos *in vivo*, como la proteína epitiespecífica (ESP).

Cuando la cadena lateral del glucosinolato tiene un doble enlace terminal, ESP promueve la reacción del átomo de azufre del enlace tioglucósido con el doble enlace para formar un anillo tirano, formando un epitionitrilo (Figura 3). El proceso se produce sólo en presencia de la mirosinasa, y no se sabe si ESP tienen habilidad catalítica por sí mismo. El reciente aislamiento de un gen de *Arabidopsis* que codifica una ESP mostró que esta proteína no sólo promueve la formación de epitionitrilos, sino también la formación de nitrilos simples a partir de una gran variedad de glucosinolatos (Lambrix *et al.*, 2001).

Otros productos de la hidrólisis incluyen a los tiocianatos, los cuales se forman únicamente desde tres glucosinolatos: bencil-, alil- y 4-metilsulfinilbutil-glucosinolato, los cuales forman cationes estables en sus cadenas laterales. Al igual que la formación de nitrilos, la producción de tiocianatos está también relacionada con factores proteicos específicos, pero estos aún no han sido identificadas (Halkier & Ghersenson, 2006).

La hidrólisis de los glucosinolatos indólicos es algo diferente de los otros tipos de glucosinolatos, debido a que los isotiocianatos inicialmente formados son inestables a pH neutro o ligeramente ácido, y se convierten en metabolitos adicionales, incluyendo indol-metanoles, conjugados de ácido ascórbico y mezclas oligoméricas (Halkier & Gershenzon, 2006).

2.3.6. Importancia de los productos de degradación de los glucosinolatos

Los glucosinolatos por sí solos no poseen actividad quimiopreventiva, son sus productos derivados (isotiocianatos o índoles) a los que se les atribuye dicha actividad. Ciertos isotiocianatos, especialmente los aromáticos, han demostrado ser potentes inhibidores de la tumorigénesis en varios tipos de cáncer y poseedores de efecto citoestático, selectivo y citotóxico en células cancerígenas humanas como la leucemia (Gamet-Payrastra *et al.*, 1998 y 2001; Liebes, 2001; Kjaer & Schuster, 1968; Harborne, 1973; citados por Gutiérrez & Montaña, 2002). Los mecanismos por los cuales los isotiocianatos actúan como inhibidores del cáncer en humanos, están encaminados a neutralizar un amplio número de carcinógenos y/o a suprimir la proliferación de células neoplásicas activas.

Los isotiocianatos causan la desintoxicación del carcinógeno antes de que se produzca la inducción de la carcinogénesis y actúan como agentes supresores para inhibir los efectos neoplásicos de los carcinógenos, posiblemente mediante

la inducción de apoptosis de células pre-cancerosas o mediante el ajuste de enzimas claves para reducir la exposición de los tejidos a daños en el ADN (Shapiro *et al.*, 1998; Stoner & Morse, 1997).

Los glucosinolatos no solamente son importantes por su acción quimiopreventiva, sino que también se les considera antioxidantes indirectos ya que a diferencia de los antioxidantes ya conocidos (directos), que neutralizan los radicales libres antes de que puedan dañar las células, estos no neutralizan los radicales libres directamente, sino mediante la modulación de la actividad de las enzimas metabolizadoras de xenobióticos (Fase I y Fase II, que activan la actividad antioxidante de larga duración). Las enzimas de la Fase I (isoenzimas del citocromo P450), aumentan la reactividad de compuestos liposolubles y como consecuencia, se producen moléculas reactivas que pueden ser más tóxicas que la molécula original; mientras que las enzimas de la Fase II (glutatió-S-transferasa, aldehído reductasa, S-metil-transferasa, etc.) aumentan la solubilidad y promueven la excreción de estos metabolitos. Por lo tanto, la inhibición de la Fase I y la inducción de enzimas de la Fase II son necesarias para la protección de las células contra el daño en el ADN por agentes cancerígenos y especies reactivas del oxígeno (ERO). Se ha demostrado que los productos de la hidrólisis de los glucosinolatos aumentan la actividad de las enzimas de la Fase II por el aumento de la transcripción de genes contenidos. (Holst y Williamson, 2004; citado por Vig *et al.*, 2009).

Finalmente, cabe mencionar que el contenido de glucosinolatos varía según la especie, el clima, el tipo de suelo y la fase de desarrollo en la que se encuentra la planta (Tapper y Reany, 1973; Guillard y Alliso, 1989; Ciska *et al.*, 2000; Bellostas *et al.*, 2004 y 2007; citado por Márquez, 2008) y tanto Ortega *et al.*, 2006 como Ramallo *et al.*, 2004 coinciden en que los tubérculos de mashua poseen un contenido de GSL superior al encontrado en otras plantas comestibles.

2.4. OPERACIONES UNITARIAS EN EL PROCESAMIENTO DE LA MASHUA Y SU INFLUENCIA EN LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS

Como ya se mencionó antes, factores intrínsecos como la mirosinasa coexistente y sus cofactores como ácido ascórbico, proteína epitioespecífica (ESP) o iones ferrosos (Bones & Rossiter, 1996) y factores extrínsecos como el pH y la temperatura (Ludikhuyze *et al.*, 2000), pueden afectar la hidrólisis de los glucosinolatos. Al respecto, los métodos de procesamiento como el soleado, el cortado, el blanqueado o el secado, ejercen influencia sobre el grado de hidrólisis de los glucosinolatos y la proporción de derivados producidos (Verkerk *et al.*, 1997).

Trabajos previos han indicado que el sistema glucosinolatos-mirosinasa es modificado durante el procesamiento debido a la inactivación parcial o total de la mirosinasa, a la degradación térmica de los glucosinolatos y de sus productos de degradación, a la pérdida de cofactores enzimáticos, a la lixiviación de los glucosinolatos y de sus derivados en el medio de cocción, o a la volatilización de los derivados o productos de degradación (Dekker *et al.*, 2000). El grado de pérdida probablemente dependa de la duración y el tipo de tratamiento térmico, el grado de desintegración del material y de la matriz vegetal en sí (Rosa & Heaney, 1993).

La transformación o procesamiento y la conservación, son particularmente importantes en las regiones montañosas de los Andes donde los años son muy variables, con cosechas a veces abundantes y otras veces pobres (Tapia & Fries, 2007), sin embargo, no existe ningún trabajo de investigación previo sobre los efectos del procesamiento en el contenido de glucosinolatos y/o actividad mirosinasa en *Tropaeolum tuberosum*.

2.4.1 Cortado

Durante el procesamiento, la disrupción del tejido de la planta pone en contacto a los glucosinolatos con la mirosinasa de las vacuolas intra- e inter-celulares para iniciar su hidrólisis (Ciska & Kozłowska, 2001, Rungapamestry *et al.*, 2006), dando lugar a reacciones de descomposición diferentes. En este contexto, procesos como el cortado de los alimentos tienen un notable efecto en la hidrólisis de glucosinolatos por la mirosinasa u otras reacciones químicas. (Jongen W.M.F., 1996; citado por Verkerk *et al.*, 1997).

La col, para ser utilizada en el ámbito culinario (ensaladas, cocción o fermentación) usualmente es cortada en rodajas o tajadas, donde a pesar de la liberación de mirosinasa durante el cortado, Verkerk *et al.*, (1997) reporta el incremento de algunos glucosinolatos, como los indol-glucosinolatos, particularmente el glucobrassicin mostró un incremento de 4 veces su contenido después del cortado. Una posible explicación para este fenómeno es que el cortado de la col desencadena un mecanismo de defensa que también se produce debido a heridas por insectos o babosas. Koritsas *et al.*, (1991) citado por Verkerk *et al.*, (1997) también observó un aumento de los indol-glucosinolatos, glucobrassicin y neoglucobrassicin, después de la lesión provocada o la infestación en plantas de colza intactas.

La hipótesis de la acumulación de glucosinolatos inducida por el estrés es apoyada por Bennett & Wallsgrave (1994) y Verkerk *et al.* (2001). Ambos grupos reportaron también mayores niveles de glucosinolatos, debido al impacto ambiental y al picado o cortado como parte del procesamiento.

Chen & Andreasson (2001) destacan la posibilidad de que la razón del incremento sea a causa de una “biosíntesis de novo” de los glucosinolatos frente a situaciones de estrés.

Es entonces que el cortado resultaría ser una operación unitaria favorable, puesto que una mayor cantidad de glucosinolatos y subsecuentemente de sus productos de descomposición resultaría en un incremento beneficioso de las propiedades anticarcinogénicas de la mashua.

2.4.2 Soleado

Tapia y Fries (2007), sostienen que algunos de los procesos de transformación tienen el objetivo de provocar cambios en la composición de nutrientes: un ejemplo es el soleado de ocas y mashuas, lo que induce la transformación de parte de los almidones en azúcares.

Al respecto, Dolores & Espín (1997) señalan que la práctica generalizada andina de exponer los tubérculos y raíces a la luz solar directa, es también utilizada para la mashua a fin de aumentar la dulzura y reducir los niveles de cianuro antes de cocinarla. Sin embargo, Samaniego (2010) contradictoriamente sostiene que si el soleado excede los 4 días, la consistencia y el sabor se modifican, echándose a perder.

2.4.3 Tratamiento Térmico por Blanqueado

Esta operación se realiza con la finalidad de terminar la limpieza del producto, inhibir la acción enzimática, fijar y conservar el color, disminuir la carga microbiana, eliminar olores y sabores desagradables y mejorar las condiciones del material para la deshidratación puesto que con esta etapa se rompen las paredes celulares del material vegetal, lo que facilita el proceso de evaporación (Urresta, 2010).

El blanqueado puede desnaturalizar parcial o completamente la mirosinasa, destruir los cofactores de esta, como el ácido ascórbico o la proteína epitioespecífica y/o reducir la concentración de glucosinolatos a través de degradación térmica o enzimática o por lixiviación (Dekker *et al.*, 2000). Consecuentemente, las concentraciones de glucosinolatos y actividad mirosinasa residuales, de cofactores de la mirosinasa y las condiciones del medio de hidrólisis, como el pH y la temperatura durante el blanqueado (Ludikhuyze *et al.*, 2000), pueden afectar la naturaleza y proporción de los metabolitos de los glucosinolatos producidos durante el blanqueado, las siguientes etapas de procesado y la posterior ingestión del tubérculo.

2.5.3.1 Blanqueado por Microondas

Se cree que el tratamiento por microondas es una alternativa eficiente en la cocción de vegetales debido a la baja cantidad de agua requerida para su cocción (Oerlemans *et al.*, 2006). Sin embargo, de acuerdo con Vallejo *et al.* (2002), el tratamiento de blanqueado por microondas en brócoli resultó en un 40% de pérdida de Vitamina C y un 74% de pérdida de glucosinolatos. En contraste con estos resultados, Verkerk y Dekker (2004) reportaron un incremento del 78% en el contenido de glucosinolatos totales extraídos de la col luego de la cocción al microondas por 4.8 minutos a 900 W.

2.5.3.2 Blanqueado por Ebullición

La ebullición causa que los isotiocianatos se hidrolicen eliminando el cianuro y mejorando el sabor. (Cortés, 1981 citado por Grau *et al.*, 2003). Los glucosinolatos y algunos de sus productos de descomposición son solubles en agua y durante la ebullición, una proporción de estos compuestos se filtra en el agua de cocción (Rosa & Heaney, 1993). Estas

pérdidas de glucosinolatos pueden ser aún mayores al 50%, sin embargo parecen diferir entre cultivares, entre especies y dentro de ellas.

2.4.4 Tratamiento Térmico por Secado

Todos los pueblos tuvieron y tienen la preocupación por tener suficientes reservas de alimentos para los momentos de escasez de comida. La ocurrencia de esas épocas requiere tener reservas de alimentos secos que puedan guardarse por un tiempo prolongado: como granos y harinas y también como tubérculos y raíces procesados y/o secados (Tapia & Fries, 2007).

Los cultivos del mundo andino son estacionales, es decir que durante un periodo del año se acumula su producción. En estos casos, el almacenamiento y la transformación de las raíces y tubérculos son una necesidad y es en este contexto donde la deshidratación y el secado constituyen un medio útil para este objetivo (Fairlie *et al.*, 1999).

La deshidratación del material vegetal, es una de las formas más antiguas de conservación vegetal (Greensmith, 1998), y suele utilizarse no sólo para la preservación de vegetales, sino también como preparación previa para su posterior utilización en alimentos o producción de drogas. La ventaja de esta etapa del procesamiento es que contribuye a que retener la calidad nutricional del producto fresco, prolongar la vida útil y así incrementar su practicidad.

Mrkic *et al.* (2010) reportó que el secado a 50 y 60 °C con una velocidad de 2.25 m.s⁻¹ fueron más favorables en cuanto a la retención de glucosinolatos, mientras que 100 °C causó pérdidas significativas.

2.5. CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA PERFORMANCE (HPLC)

Desde la incorporación de modernos detectores a la salida de la columna y el acoplamiento de sistemas de integración, la técnica de HPLC ofrece la posibilidad de realizar análisis cuantitativos. Los sofisticados sistemas de integración proporcionan resultados de forma rápida y relativamente sencilla. Sin embargo, la decisión final sólo puede ser tomada por el usuario experto en cromatografía, quien analizará toda la información contenida en el cromatograma.

El pico cromatográfico representa una Gaussiana, que es una distribución de las moléculas que eluyen a lo largo del tiempo. La cuantificación del pico conlleva la evaluación del número de moléculas de cada soluto (cada pico) y, por tanto, la cantidad o concentración de la misma. El análisis cuantitativo se basa en la comparación de la altura, o el área, del pico del analito con la de uno o más patrones inyectados bajo las mismas condiciones cromatográficas. El uso de uno u otro dependerá de las características de la banda obtenida, altura en el caso de picos muy agudos y, normalmente, área. Siempre y cuando la resolución (R_S) sea adecuada, el área del pico es el parámetro cuantitativo fundamental. Ésta se mide, bien triangulando el pico, o mediante un sistema de integración digital electrónico en línea con un ordenador (Díaz *et al.*, 2011).

2.5.1 Calibración indirecta, relativa o método del patrón interno

En este método, el patrón elegido no puede ser un analito de la muestra. Este patrón se añade a la muestra a analizar en una concentración conocida; de ahí el nombre de patrón interno. Este patrón interno debe cumplir una serie de requisitos: eluir cerca de los picos de interés, estar resuelto de ellos, ser de naturaleza química similar a los analitos de interés y no reaccionar con ellos y debe existir en estado puro (Díaz *et al.*, 2011).



**CAPÍTULO III: DISEÑO
EXPERIMENTAL DE INVESTIGACIÓN**

3.1. CAMPO DE VERIFICACIÓN

3.1.1. Lugar de ejecución

La investigación se llevó a cabo en el Instituto de Biotecnología (IBT), Laboratorio de Biotecnología Industrial de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).

3.1.2. Ubicación espacial

El Instituto de Biotecnología (IBT) se encuentra ubicado en la Av. La Molina s/n, distrito de La Molina, en la ciudad de Lima.

3.1.3. Unidades de estudio

Cada variedad propuesta en esta investigación se convierte en una unidad de estudio. A cada unidad de estudio se le aplicarán 32 y 20 tratamientos, para la variedad amarilla y la variedad morada respectivamente.

3.2. MATERIALES

3.2.1 Material biológico

Se empleará mashua amarilla procedente del mercado municipal de la ciudad de Huancayo y del mercado mayorista de la ciudad de Lima.

Se empleará mashua morada (genotipo DP 0224) procedente de la ciudad de Huancayo, departamento de Junín (3259 m.s.n.m.) proporcionada por el Centro Internacional de la Papa - CIP.

En el Anexo 2 se muestran las dos variedades de mashua utilizadas como materia prima en la presente investigación.

3.2.2 Material de laboratorio

3.2.2.1 Material de vidrio

- Beakers de 50 y 100 mL.
- Embudos
- Erlenmeyers
- Fiolas de 5, 10, 25, 50, 100, 250 y 500 mL.
- Frascos color caramelo de 10, 30 y 50 mL.
- Matraz aforado
- Placas petri
- Probetas de 5, 10, 25, 50, 100, 250 y 500 mL.
- Pipetas de 1, 2, 5 y 10 mL.
- Tubos de ensayo convencionales y con tapa rosca
- Viales para HPLC
- Etc.

3.2.2.2 Equipos y aparatos

- Agitador Vortex (VELP scientifica Modelo F202A0175, Italia)
- Balanza analítica (OHAUS Modelo AR2140, EEUU)
- Balanza de Presión (BL6 Sartorius, EEUU)
- Baño María (GFL Modelo 1083, Alemania)
- Bomba de vacío (Vacuubrand Modelo ME2C, Alemania)
- Congeladora (Electrolux, Perú)
- Centrífuga (Rotofix 32 Hettich Zentrifugen, Alemania)
- Cocina eléctrica (Practika, Perú)
- Equipo de Filtración
- Estufa (TZ4T Autonics)

- Estufa de vacío (VWR 1400 E-2, EEUU)
- Horno microondas (Samsung Modelo N° AME 610B, Corea del Sur)
- Licuadora (Oster, EEUU)
- Módulo de Separación HPLC Waters 2695 equipado con autoinyector, con sistema acoplado 2996 PDA y Software Empower
- Potenciómetro (Thermo Scientific Orion Modelo 410, EEUU)
- Refrigerador (LG, Perú)
- Secador de cabina (Fravill, Alemania)
- Selladora (Sealer Modelo KF-300 H, EEUU)
- Sonicador (Branson Modelo 3510, EEUU)
- Speed Vac System (Labconco, EEUU)

3.2.2.3 Otros materiales

- Micropipetas de 5-50 μL , 100-1000 μL y 500-5000 μL (Transferpette)
- Papel filtro (Whatman)
- Tamiz N° 18 (0.85)
- Termómetro (Labexco)
- Tubos de centrifuga (Hettich)
- Tubos eppendorf (Eppendorf)
- Tubos Falcom de 15 y 50 mL. (Falcom)
- Vasos de centrifuga (Hettich)
- Columna XBridge™ Shield RP 18, 5 μm , columna de 4.6 x 250 mm (Waters)
- Filtros Millex – GV con membrana PVDF de 0.22 μm de poro, 13 mm de diámetro (Millipore)
- Olla INOX

3.2.2.4 Reactivos

- Acetato de sódio (HiMedia)
- Etanol absoluto (Yohisa)
- Fosfato diácido de potasio (KH_2PO_4) (Merck)
- Fosfato monoácido de potasio (K_2HPO_4) (Merck)
- Gel DEAE SephadexTM A-25 (GE Healthcare)
- Hidróxido de Sódio (Merck)
- Metanol grado HPLC (Fermont)
- Nitrógeno líquido (UNALM)
- Sinigrin (Sigma Aldrich)
- Sulfatase from *Helix pomatia*, EC 3.1.6.1 (Sigma Aldrich)

3.2.3 Software

- Statgraphics Centurion XV versión 15.2 (StatPoint Inc., Warrenton, Virginia, EEUU)
- Microsoft Office Excel Professional Plus 2010 (Microsoft Corporation, Redmon, Whashington, EEUU)

3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental elaborado para este proyecto de investigación se muestra en las Figuras 4 y 5.

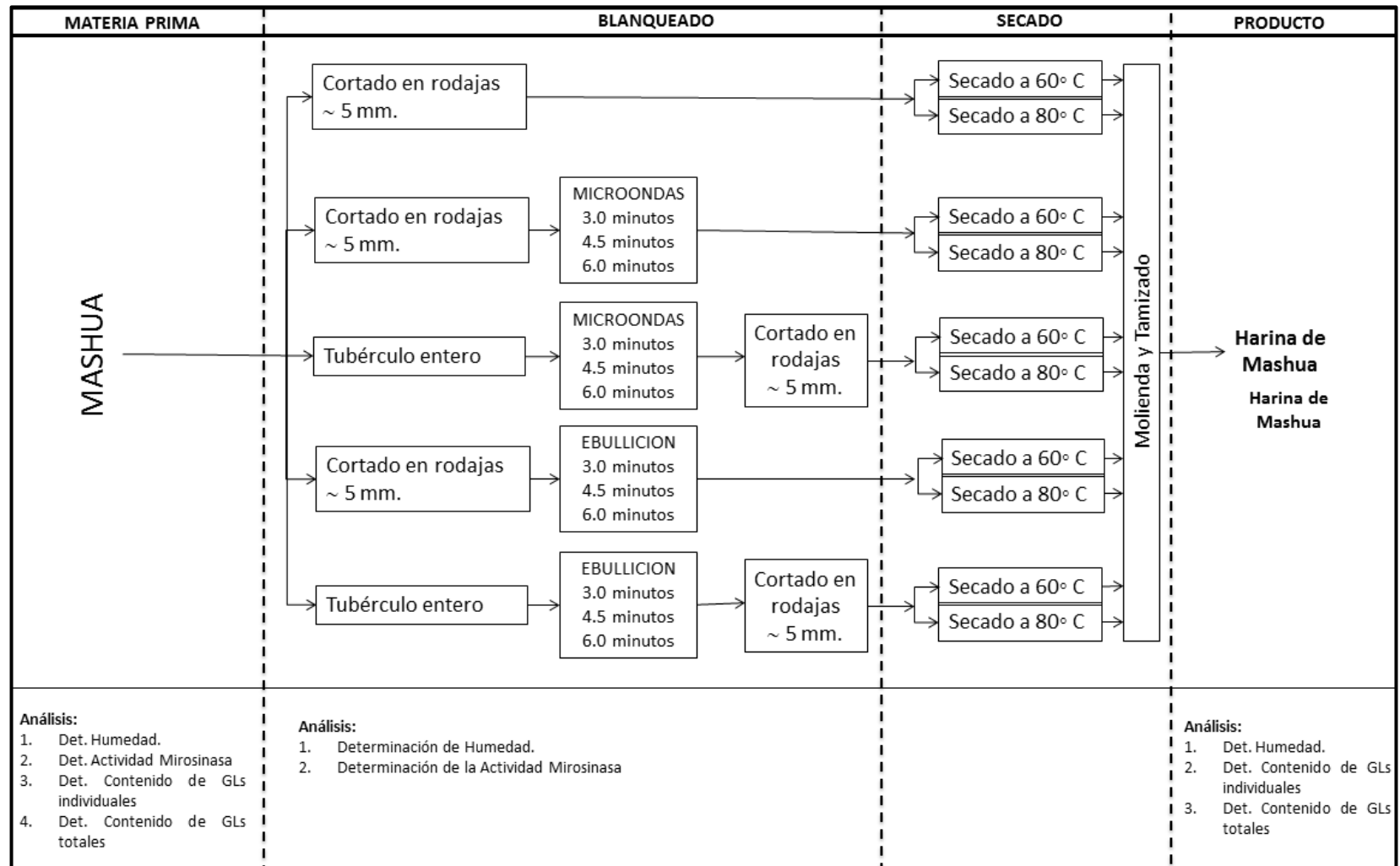


Figura 4. Diagrama de Flujo correspondiente al diseño experimental para mashua, variedad amarilla.

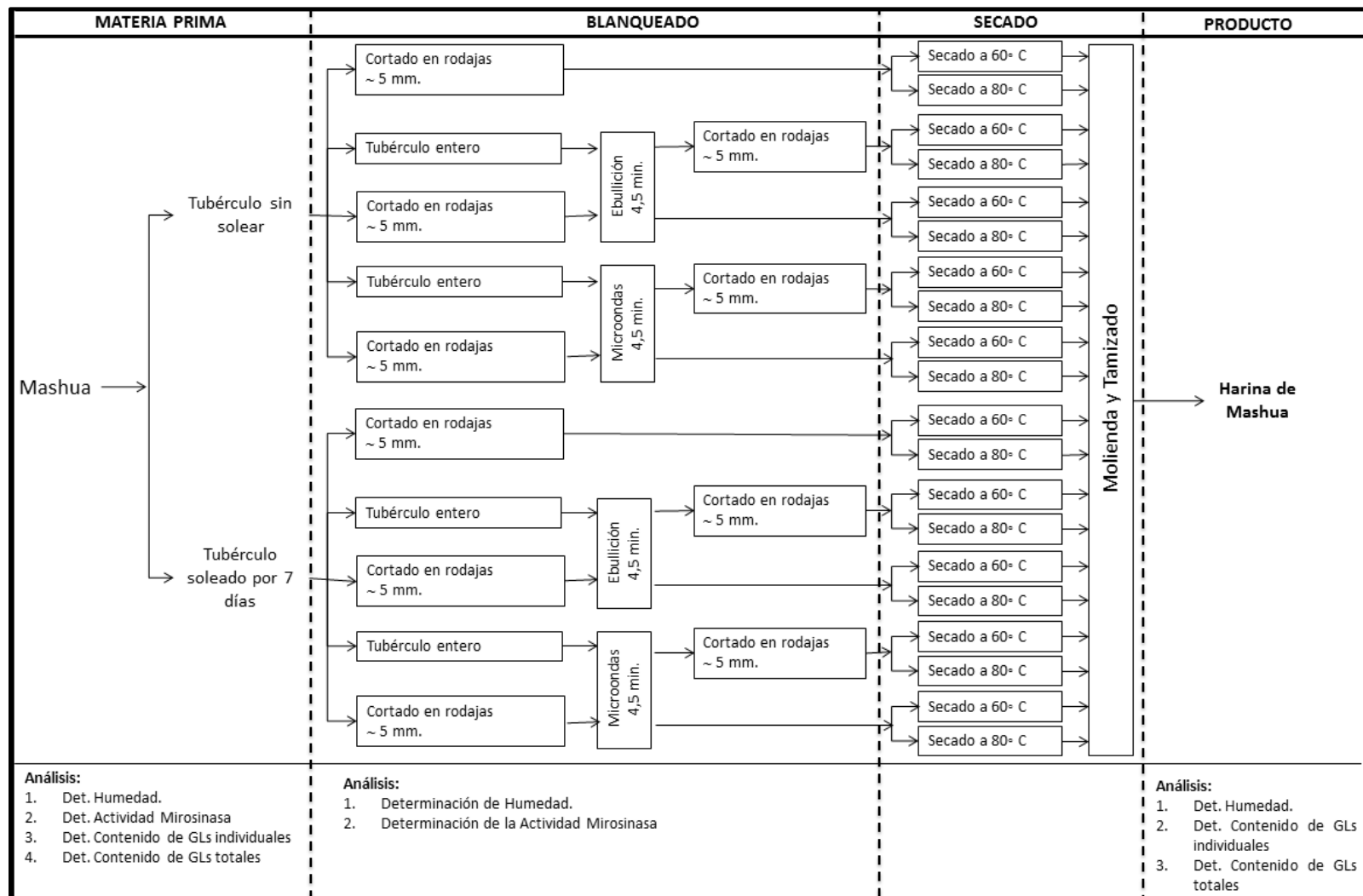


Figura 5. Diagrama de Flujo correspondiente al diseño experimental para mashua, variedad morada.

3.3.1 Preparación de las muestras

3.3.1.1 Mashua Amarilla

Los tubérculos de mashua amarilla recién comprados en el mercado municipal de la ciudad de Huancayo y el mercado mayorista de la ciudad de Lima fueron transportadas al Laboratorio de Biotecnología Industrial del IBT (Instituto de Biotecnología) en la ciudad de Lima.

3.3.1.2 Mashua Morada

Los tubérculos de mashua morada recién cosechados fueron separados en dos grupos, uno de los cuales se mantuvo en el campo experimental del CIP (Centro Internacional de la Papa) en la ciudad de Huancayo para el proceso de soleado (a 3259 m.s.n.m.) durante 7 días, extendiendo los tubérculos en el campo y exponiéndolos al sol durante el día, y cubriéndolos por la noche con un manto de plástico para protegerlos del daño de las heladas. Transcurridos los 7 días, ambos grupos fueron transportados al Laboratorio de Biotecnología Industrial del IBT (Instituto de Biotecnología) en la ciudad de Lima.

3.3.1.3 Caracterización inicial de ambas variedades

Los tubérculos, tanto de la variedad amarilla como de la morada, fueron lavados con agua potable para eliminar los restos de tierra adheridos y se seleccionaron para el análisis aquellos que no presentaran ningún tipo de deterioro. Se tomó una muestra significativa al azar, tanto de la variedad amarilla como de la morada (soleada y sin solear) y se llevó a cabo la determinación de humedad y materia seca, actividad mirosinasa y contenido de glucosinolatos individuales y totales.

Los tubérculos de mashua restantes fueron sometidos a los tratamientos de blanqueado y secado detallados en los siguientes apartados.

3.3.2 Estudio de la Influencia del Procesamiento en la Actividad Mirosinasa de Mashua Amarilla y Mashua Morada

El escaldado o blanqueado es una operación básica de pre tratamiento, aplicada principalmente con el objetivo de destruir las enzimas que pueden ocasionar alteraciones en el alimento a lo largo del tiempo, o en procesos posteriores.

3.3.2.1 Mashua amarilla

Ebullición: 500 ± 10 g. de tubérculos enteros sin pelar seleccionados al azar fueron sometidos a blanqueado en agua en ebullición, bajo una proporción de 2:1 (agua desionizada : tubérculos), durante 3.0, 4.5 y 6.0 minutos. Del mismo modo, 500 ± 10 g. de tubérculos cortados en rodajas de 5 mm de espesor aproximado seleccionados al azar fueron sometidos al mismo tratamiento bajo las mismas condiciones.

Microondas: 500 ± 10 g. de tubérculos enteros sin pelar seleccionados al azar fueron sometidos a blanqueado en horno microondas de 1000 watts de potencia, bajo una proporción de 2:1 (agua desionizada : tubérculos), durante 3.0, 4.5 y 6.0 minutos. Del mismo modo, 500 ± 10 g. de tubérculos cortados en rodajas de 5 mm de espesor aproximado seleccionados al azar fueron sometidos a los mismos tratamientos bajo las mismas condiciones.

Se evaluó la influencia del momento de corte, el tratamiento de blanqueado y el tiempo de blanqueado en la actividad mirosinasa.

3.3.2.2 Mashua morada

Ebullición: 500 ± 10 g. de tubérculos enteros sin pelar seleccionados al azar fueron sometidos a blanqueado en agua en ebullición, bajo una proporción de 2:1 (agua desionizada : tubérculos), durante 4.5 minutos. Del mismo modo, 500 ± 10 g. de tubérculos cortados en rodajas de 5 mm de espesor aproximado seleccionados al azar fueron sometidos al mismo tratamiento bajo las mismas condiciones.

Microondas: 500 ± 10 g. de tubérculos enteros sin pelar seleccionados al azar fueron sometidos a blanqueado en horno microondas de 1000 watts de potencia, bajo una proporción de 2:1 (agua desionizada : tubérculos), durante 4.5 minutos. Del mismo modo, 500 ± 10 g. de tubérculos cortados en rodajas de 5 mm de espesor aproximado seleccionados al azar fueron sometidos a los mismos tratamientos bajo las mismas condiciones.

Se evaluó la influencia del soleado, el momento de corte y el tratamiento de blanqueado en la actividad mirosinasa.

Cada muestra blanqueada fue dividida en dos subgrupos, uno de los cuales fue sometido a molienda, previa congelación con nitrógeno líquido y almacenado a -20°C en bolsas de polietileno de alta densidad herméticamente cerradas y protegidas de la luz hasta el momento de su análisis; mientras que el otro fue sometido a secado, como se detalla en el siguiente apartado. Todos los tratamientos fueron realizados por duplicado.

Se llevó a cabo la determinación de humedad, materia seca, y actividad mirosinasa remanente en las muestras procesadas.

3.3.3 Estudio de la Influencia del Procesamiento en el contenido de Glucosinolatos Totales e Individuales de Mashua Amarilla y Mashua Morada

El secado es una operación cuyo objetivo fundamental es aumentar el tiempo de conservación del producto, gracias a una reducción del contenido de agua.

Previo al secado, las muestras correspondientes a los tubérculos enteros blanqueados de ambas variedades, fueron cortadas en rodajas de 5 mm de espesor aprox. Seguidamente, cada muestra procedente del tratamiento de blanqueado fue dividida nuevamente en dos subgrupos, uno de los cuales fue sometido a secado a 60°C y el otro, a 80°C, hasta obtener, en ambos casos, una humedad final de 5-7 %. Adicionalmente, una muestra control no blanqueada de cada variedad fue sometida a los mismos tratamientos de secado bajo las mismas condiciones. Se utilizó un secador de cabina con control de temperatura y velocidad de aire de 1.5 m/s. Todos los tratamientos se realizaron por duplicado.

Posterior al secado, las muestras procesadas de ambas variedades, fueron molidas y pasadas por un tamiz N°18 de 0.85 mm para finalmente ser almacenadas a -20 °C en bolsas de polietileno de alta densidad herméticamente cerradas y protegidas de la luz hasta su análisis.

Se llevó a cabo la determinación de humedad, materia seca, y contenido de glucosinolatos totales e individuales.

Para el caso de la variedad amarilla, se evaluó la influencia del momento de corte, el tratamiento de blanqueado, el tiempo de blanqueado y la temperatura de secado en el contenido de glucosinolatos totales e individuales.

Para el caso de la variedad morada, se evaluó la influencia del soleado, el momento de corte, el tratamiento de blanqueado y la temperatura de secado en el contenido de glucosinolatos totales e individuales.

3.3.4 Comparación entre variedades del contenido de Glucosinolatos y la Actividad Mirosinasa

Este acápite tuvo por objetivo contrastar las variables dependientes e independientes respecto a los resultados obtenidos para mashua morada y mashua amarilla y establecer las condiciones de procesamiento óptimas y favorables que conserven los compuestos bioactivos y maximicen su valor agregado.

3.4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.4.1 Determinación de humedad y materia seca

Se empleó el método gravimétrico porcentual de la A.O.A.C. (1990), en el cual un peso determinado de muestra es secado en estufa al vacío a 70°C hasta obtener un peso constante. El contenido de humedad se calcula por diferencia de pesos y la materia seca se calcula por diferencia del porcentaje de humedad respecto a 100%.

3.4.2 Determinación del contenido de Glucosinolatos por HPLC

Se utilizó el método descrito por Verkerk & Dekker (2004), con ligeras modificaciones.

3.4.2.1 Extracción de Glucosinolatos

Se pesó 2 gr. de harina de mashua o 0.5 gr. de mashua fresca y se diluyó en 20 mL de metanol 100% grado HPLC a 80°C. Se llevó la mezcla a

baño maría con agitación constante por 30 minutos a 75°C, se dejó enfriar y se centrifugó a 4000 rpm durante 15 minutos. Se recuperó el sobrenadante (S1) y se diluyó la torta en 15 ml de metanol 70% a 80°C, se llevó nuevamente a baño maría con agitación constante por 30 minutos a 75°C, se dejó enfriar, se centrifugó a 4000 rpm durante 15 minutos y se recuperó el sobrenadante (S2). Se homogenizaron las fracciones S1 y S2, se midió el volumen obtenido y se almacenó con nitrógeno (gas) en congelación.

3.4.2.2 Purificación y Desulfatación

El extracto de glucosinolatos se purificó en una columna de gel de intercambio aniónico, DEAE Sephadex A-25 cuyo grupo de intercambio iónico es el dietilaminoetil. Previamente, la columna fue lavada con etanol (aprox. 2 ml) y luego con agua Milli-Q (aprox. 4 ml) dejando un menisco considerable. Se adicionó el gel previamente desgasificado (aprox. 5 cc) y se lavó con agua Milli-Q (aprox. 3 ml) dejando un pequeño menisco. Se inyectó el extracto de glucosinolatos obtenido del punto 3.4.2.1 y se dejó reposar durante 5 minutos, se eluyó el extracto y se lavó con buffer acetato de sodio 20 mM (aprox. 2.5 ml) dejando un menisco muy pequeño. Se agregó 100 µl de enzima sulfatasa (preparada según el método de Graser *et al.*, 2001) y se incubó por un periodo de 16 a 18 horas a temperatura ambiente. Al día siguiente, los desulfoglucosinolatos fueron eluidos con 4 ml de agua milli-Q filtrada y desgasificada. El eluato se concentró al vacío utilizando el Speed Vac, se midió el volumen del concentrado y se filtró la solución con un filtro millipore de 0.22 µm.

La preparación del gel y la preparación de la enzima sulfatasa se encuentran detalladas en los Anexos 3 y 4, respectivamente.

3.4.2.3 Análisis por HPLC

Los desulfoglucosinolatos fueron analizados utilizando cromatografía líquida de alta performance. El módulo de separación HPLC Waters 2695 (Waters, Milford, MA) equipado con un autoinyector, un detector de arreglo de fotodiodos (PAD) 2996 y software Empower, una columna XBridge™ C18 (5 µm) de fase reversa (4.6 x 250 mm), y una precolumna de 4.6 x 2.0 mm fueron utilizados para la separación a 28°C con una velocidad de flujo de 0.8 ml/min. La elusión de los desulfoglucosinolatos de la columna HPLC fue realizada por un sistema de gradiente de agua desionizada (solvente A) y acetonitrilo/agua (20:80, v/v, solvente B). El tiempo total de corrida fue de 35 minutos con un gradiente de 98% de A por 1 minuto, luego 35 minutos a 75% de A, y en 1 minuto se regresa a 98% de A y finalmente se reequilibra la columna por 10 minutos. El eluyente fue monitoreado por el PAD entre 200 y 400 nm (a intervalos de 2 nm). Los desulfoglucosinolatos fueron identificados por comparación de tiempos de retención y características de los espectros UV de desulfoglucosinolatos de estándares puros de sinigrin y glucotropaeolin, patrones de glucosinolatos de colza BCR-367 (Lisinger *et al.*, 2001) y extractos purificados de brócoli (*Brassica Oleracea cv. Sebastian*), maca (*Lepidium meyenii* Walp.) y mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón). La detección se realizó a una longitud de onda de 229 nm. Las concentraciones molares de los glucosinolatos individuales y los factores de respuesta relativos (Anexo 5, Tabla 35), fueron utilizados para corregir las diferencias de absorbancia entre el estándar interno (Sinigrin) y los demás componentes del extracto. La curva de calibración del Sinigrin se muestra en el Anexo 23 y la fórmula utilizada para la cuantificación se encuentra detallada en el Anexo 24. Finalmente, los glucosinolatos fueron expresados como µmol.g⁻¹BS.

3.4.3 Determinación de la Actividad Mirosinasa por HPLC

Se utilizó el método descrito por Verkerk & Dekker (2004), con algunas modificaciones.

3.4.3.1 Preparación del Extracto Enzimático

Se pesó 2.5 g. de mashua fresca y se trituró utilizando una licuadora comercial con 25 ml de buffer fosfato 50 mM pH 6.5 a temperatura ambiente. Se incubó el extracto obtenido durante dos horas en baño maría a 40°C y luego se centrifugó a 4000 rpm por 20 minutos, se conservó el sobrenadante y se enrasó la solución a 25 ml con el mismo buffer fosfato.

3.4.3.2 Reacción Enzimática

A 3 ml del extracto enzimático preparado en el punto 3.4.3.1 se le añade 1 ml de Sinigrin 6 mM. Se incubó esta solución a 40°C en baño maría durante 20 minutos, inmediatamente después, se detuvo la reacción añadiendo 5 ml de Metanol 100% a 80°C e incubando en baño maría a 75°C por 10 minutos. Seguidamente se enrasó esta solución a 10 ml usando metanol 100% y se conservó en congelación a -20°C.

La hidrólisis del Sinigrin por la Mirosinasa puede observarse en el Anexo 22, Figura 42.

3.4.3.3 Purificación y Desulfatación

Se procedió de la misma forma que el punto 3.4.2.2, la diferencia está en que para esta determinación se obtiene desulfosinigrin, a comparación del ensayo anterior donde se obtiene desulfoglucoalyssin,

desulfoglucosinalbin, desulfo4OHglucobrassicin, desulfoglucotropaeolin y desulfoglucoaubrietin.

3.4.3.4 Análisis por HPLC

Se procedió de la misma forma que el punto 3.4.2.3. Se midió la cantidad de desulfosinigrin remanente luego de la reacción. La fórmula utilizada para la cuantificación se encuentra detallada en el Anexo 24. La actividad enzimática se expresó en nmol de sustrato consumido/g muestra en base seca en un minuto (nmol/gBS.min).

3.5. METODOLOGÍA ESTADÍSTICA

El análisis estadístico fue llevado a cabo usando el paquete estadístico Statgraphics Centurion XV versión 15.2 (StatPoint Inc., Warrenton, Virginia, EEUU). Se analizó el efecto del soleado (variedad morada), el momento de corte (ambas variedades), el tratamiento de blanqueado (ambas variedades) y el tiempos de blanqueado (variedad amarilla) en la actividad mirosinasa residual de la mashua; y se analizó el efecto de la temperatura de secado aunado a las variables ya mencionadas en el contenido de glucosinolatos individuales y totales de las variedades de mashua estudiadas. Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, seguido por la prueba post-hoc de múltiples rangos de Duncan. Los resultados son expresados como la media \pm error estándar de la media (EE) de muestras por duplicado en el caso de la mashua morada y por cuadruplicado en el caso de la mashua amarilla. Las diferencias fueron consideradas significativas a $P < 0.05$.



CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 RESULTADOS

4.1.1. Identificación y Cuantificación de Glucosinolatos en Mashua Fresca, Sin Procesamiento

4.1.1.1 Identificación de Glucosinolatos

Cinco diferentes glucosinolatos fueron identificados en dos variedades o ecotipos coloreados de Mashua. (Figura 6).

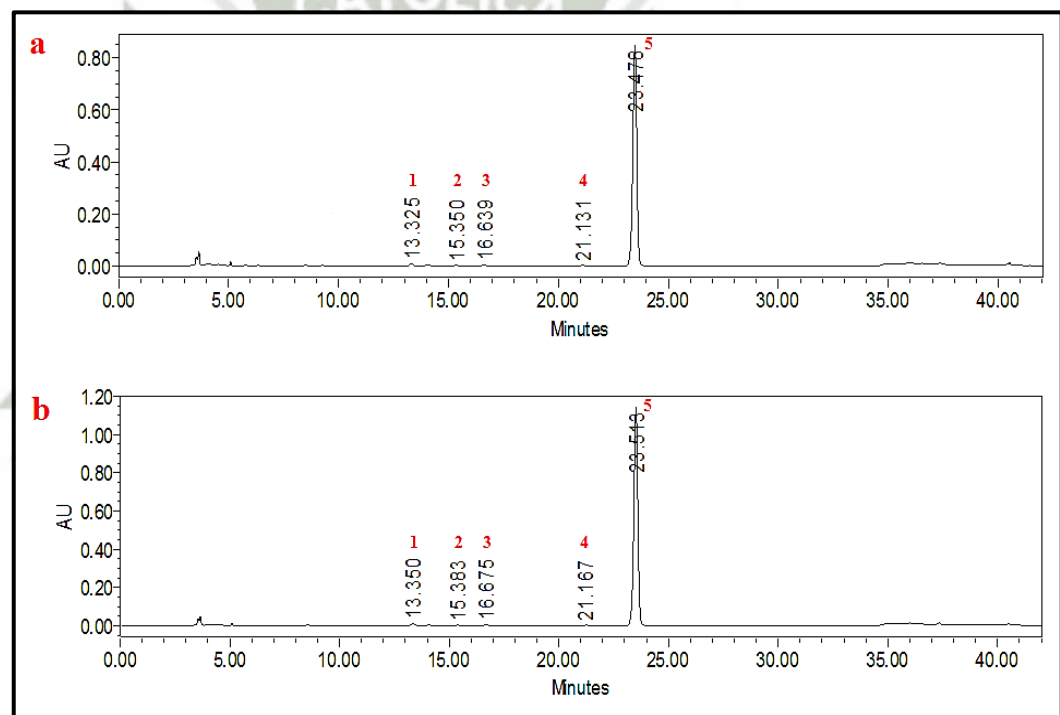


Figura 6. Perfil HPLC de glucosinolatos para los ecotipos amarillo y morado de mashua cosechada (fresca). (a) Amarilla y (b) Morada.

Estos glucosinolatos corresponden a tres de naturaleza aromática: 4-hydroxybenzyl (glucosinalbin), benzyl (glucotropaeolin), y 4-methoxybenzyl (glucoaubrietin); uno de naturaleza alifática: 5-methylsulfinylpentyl

(glucoalyssin) y uno de naturaleza indólica: 4-hydroxy-3-indolylmethyl (4-hydroxyglucobrassicin) (Tabla 5) (Anexo 5 y 6).

Tabla 5. Glucosinolatos identificados en los ecotipos amarillo y morado de mashua cosechada (fresca).

Pico	Nombre Sistemático	Nombre Trivial	Naturaleza
1	5-Metilsulfinilpentil glucosinolato	Glucoalyssin	Alifática
2	4-Hidroxibencil glucosinolato	Glucosinalbin	Aromática
3	4-Hidroxi-3-indolilmetil glucosinolato	4-Hydroxyglucobrassicin	Indólica
4	Bencil glucosinolato	Glucotropaeolin	Aromática
5	4-Metoxibencil glucosinolato	Glucoaubrietin	Aromática

Fuente: Pubchem Compound – National Center for Biotechnology Information.

4.1.1.2 Cuantificación de Glucosinolatos

A. Variedad Amarilla

El contenido de glucosinolatos totales para *Tropaeolum tuberosum* (Ruiz & Pavón), variedad amarilla fue de $74.22 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS (EE 2.24), correspondiente a $8.49 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BF (EE 1.04).

La suma de glucosinolatos aromáticos representó en promedio el 98.6% ($73.17 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS, EE 2.45) del contenido total de glucosinolatos, de los cuales, el glucoaubrietin fue el más abundante con $73.07 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS (EE 2.44), representando aproximadamente el 98.4 % del contenido total de GSL. El contenido de glucosinolatos alifáticos (Glucoalyssin) representó el 1.3% ($0.95 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS, EE 0.22) y de glucosinolatos indólicos (4-Hydroxyglucobrassicin), el 0.1% ($0.11 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS, EE 0.00) del contenido total de glucosinolatos (Tabla 6).

El rango de concentraciones de glucosinolatos, expresado como $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ BS en mashua fresca, variedad amarilla, es mostrado en la Figura 7.

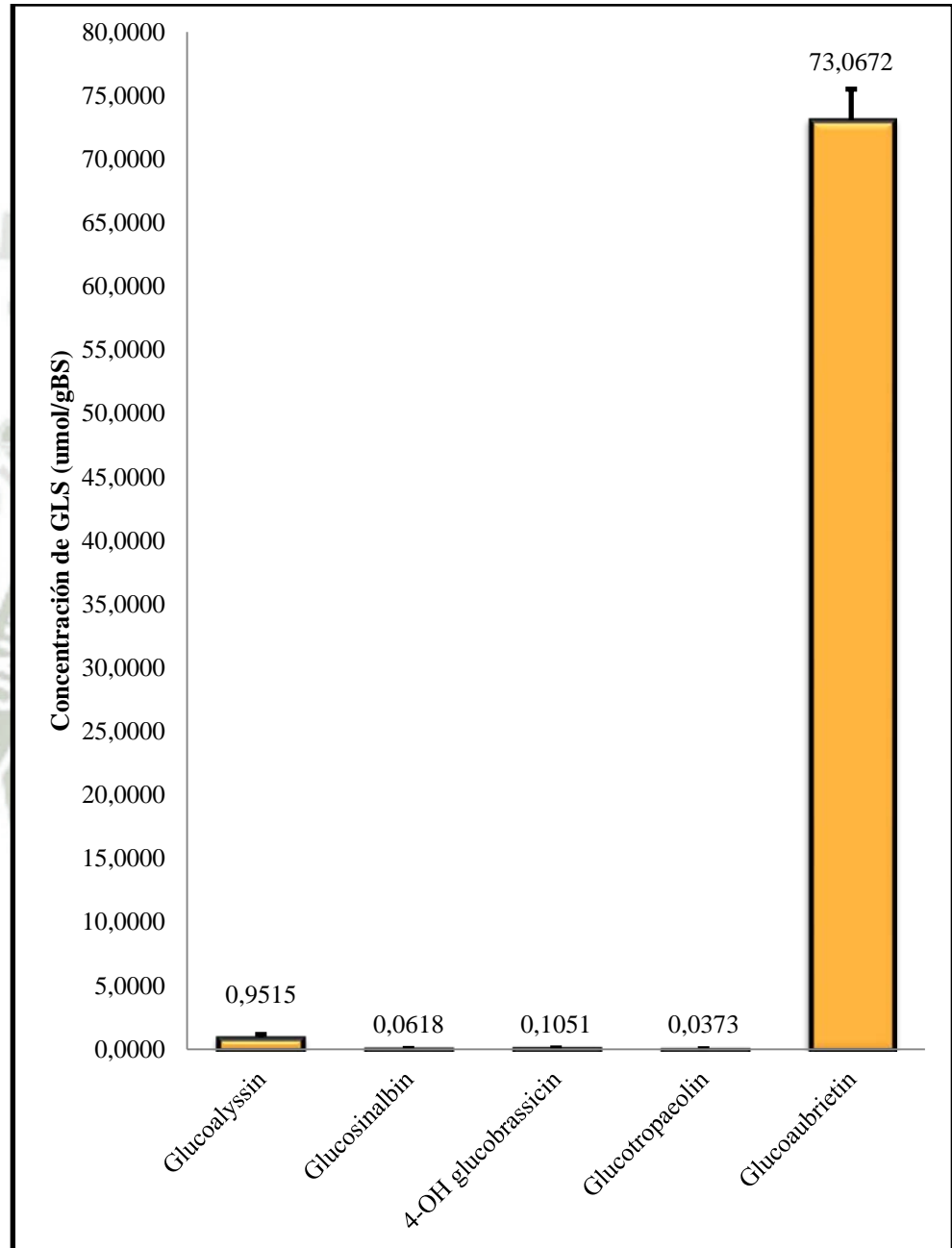


Figura 7. Perfil de glucosinolatos (GSL) en Mashua fresca, variedad amarilla. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

Fuente: Microsoft Office Excel 2010

Tabla 6. Contenido de Glucosinolatos Individuales en Mashua cruda (fresca), variedad amarilla.

	Naturaleza	Concentración ($\mu\text{mol g}^{-1}$ BS)	Porcentaje respecto al total (%)
<i>Glucoalyssin</i>	Alifática	0.95 ± 0.22	1.28
<i>Glucosinalbin</i>	Aromática	0.06 ± 0.00	0.08
<i>4-OH glucobrassicin</i>	Indólica	0.11 ± 0.00	0.14
<i>Glucotropaeolin</i>	Aromática	0.04 ± 0.00	0.05
<i>Glucoaubrietin</i>	Aromática	73.07 ± 2.44	98.44
GSL totales		74.22 ± 2.24	

Fuente: Statgraphics Centurion XV y Microsoft Office Excel 2010.

Los resultados están expresados como la media \pm error estándar de la media (n=4).

B. Variedad Morada

El contenido de glucosinolatos totales para *Tropaeolum tuberosum* (Ruiz & Pavón), variedad morada fue de $110.60 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS (EE 1.87), correspondiente a $14.05 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BF (EE 0.24).

La suma de glucosinolatos aromáticos representó en promedio el 95.7% ($105.88 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS, EE 1.69) del contenido total de glucosinolatos, de los cuales, el glucoaubrietin fue el más abundante con $105.49 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS (EE 1.66), representando aproximadamente el 95.4 % del contenido total de GSL. El contenido de glucosinolatos alifáticos (Glucoalyssin) representó el 4.2 % ($4.60 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS, EE 0.17) y de glucosinolatos indólicos (4-Hydroxyglucobrassicin), el 0.1% ($0.13 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS, EE 0.01) del contenido total de glucosinolatos (Tabla 7).

El rango de concentraciones de glucosinolatos, expresado como $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS en mashua fresca, variedad morada, es mostrado en la Figura 8.

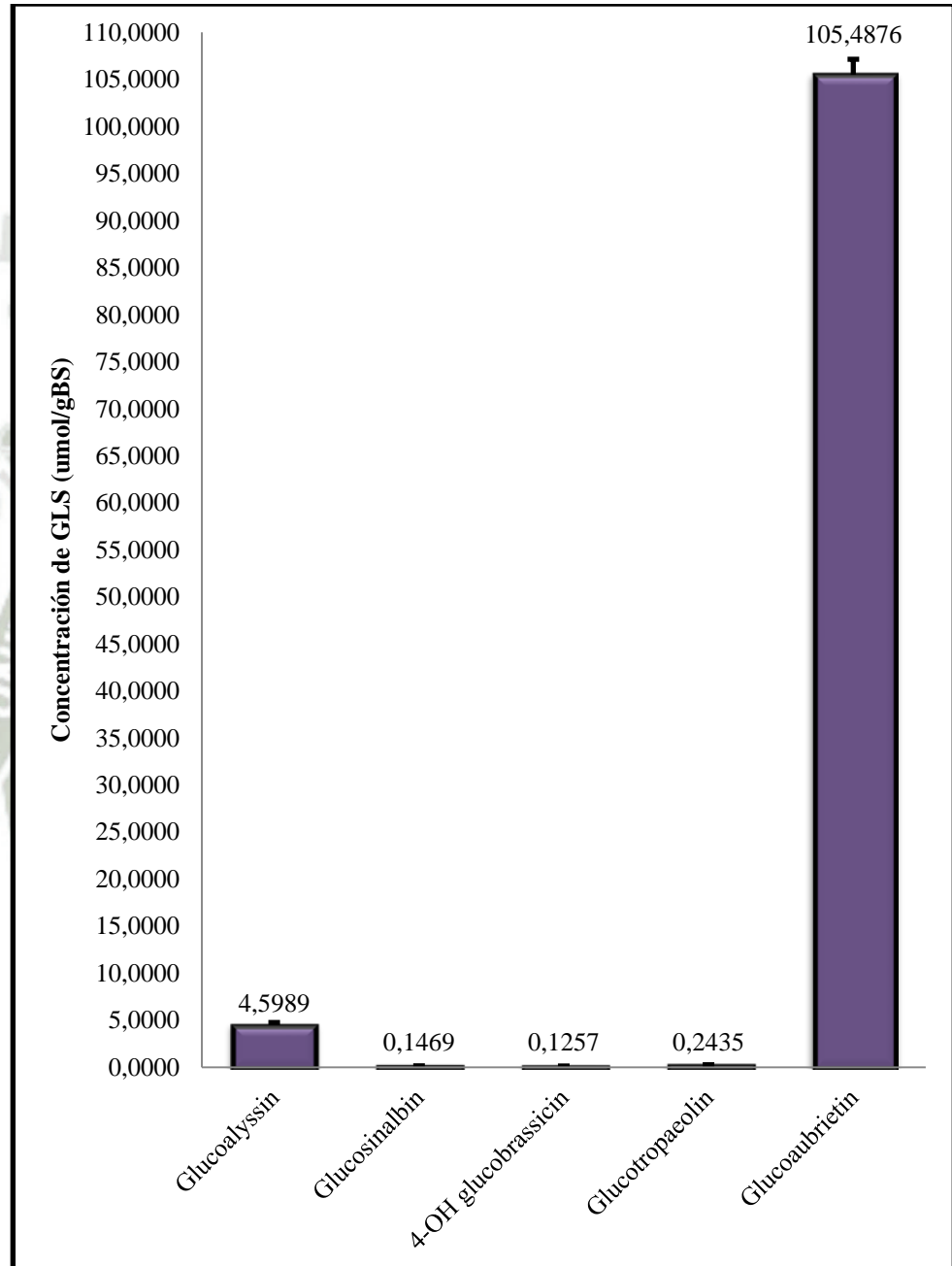


Figura 8. Perfil de glucosinolatos (GSL) en Mashua fresca, variedad morada. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

Fuente: Microsoft Office Excel 2010

Tabla 7. Contenido de Glucosinolatos Individuales en Mashua cruda (fresca), variedad morada.

	Naturaleza	Concentración ($\mu\text{mol g}^{-1}$ BS)	Porcentaje respecto al total (%)
<i>Glucoalyssin</i>	Alifática	4.60 ± 0.17	4.16
<i>Glucosinalbin</i>	Aromática	0.15 ± 0.01	0.13
<i>4-OH glucobrassicin</i>	Indólica	0.13 ± 0.01	0.11
<i>Glucotropaeolin</i>	Aromática	0.24 ± 0.03	0.22
<i>Glucoaubrietin</i>	Aromática	105.49 ± 1.66	95.38
<i>GSL totales</i>		110.60 ± 1.87	

Fuente: Statgraphics Centurion XV y Microsoft Office Excel 2010.

Los resultados están expresados como la media \pm error estándar de la media (n=2).

4.1.2. Influencia del Procesamiento en el Contenido de Glucosinolatos Totales e Individuales para la Variedad Amarilla

Se evaluó el efecto de cuatro factores: el tratamiento de blanqueado (ebullición y microondas), el estado del tubérculo al momento del blanqueado (entero y cortado en rodajas), el tiempo de blanqueado (0, 3, 4.5 y 6 minutos) y la temperatura de secado (60 y 80°C).

Los valores de concentración de glucosinolatos ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS) obtenidos en el producto terminado (harina de mashua), luego del procesamiento, fueron analizados inicialmente mediante un análisis de varianza multifactorial para determinar el efecto individual de cada factor, así como para tener una idea preliminar de las interacciones entre factores y seguidamente, mediante un análisis de varianza de una vía, aplicando la prueba de Duncan para reportar las

diferencias entre las medias de los 32 diferentes tratamientos estudiados para esta variedad.

4.1.2.1 Glucosinolatos Totales para la Variedad Amarilla

El contenido de glucosinolatos totales para la variedad amarilla fue significativamente afectado por el tratamiento de blanqueado, el estado del tubérculo, el tiempo de blanqueado, la temperatura de secado y las interacciones entre estos cuatro factores ($P > 0.05$), como puede observarse amplia y detalladamente en el Anexo 10, Tabla 39.

Mediante una prueba de múltiples rangos, aplicando el procedimiento de comparación múltiple de Duncan se determinó si existen diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de un mismo factor para los cuatro factores evaluados (Tabla 8).

En términos generales, existe diferencia estadísticamente significativa entre el tratamiento de blanqueado por ebullición y el tratamiento de blanqueado por microondas ($P > 0.05$), siendo la ebullición el nivel donde se registran los mayores contenidos de glucosinolatos totales, lo cual puede apreciarse también en el gráfico de dispersión y gráfico de medias mostrados en el Anexo 11, Figura 16A.

Existe también diferencia estadísticamente significativa entre el estado del tubérculo ($P > 0.05$), donde en términos generales, los tubérculos que llegaron cortados en rodajas al tratamiento de blanqueado registraron los mayores contenidos de glucosinolatos totales, lo cual se muestra también en el gráfico de dispersión y gráfico de medias mostrados en el Anexo 11, Figura 16B.

Referente al tiempo de blanqueado, no existe diferencia estadísticamente significativa entre los tiempos 4.5 y 6 minutos, pero sí existe diferencia estadísticamente significativa entre los demás contrastes ($P > 0.05$), los mayores

contenidos de glucosinolatos totales se registran con 4.5 y 6 minutos de blanqueado, lo cual se confirma con el gráfico de dispersión y gráfico de medias mostrados en el Anexo 11, Figura 16C.

Finalmente, con respecto a la temperatura de secado, existe diferencia estadísticamente significativa entre el secado a 60°C y el secado a 80°C ($P > 0.05$), donde los mayores contenidos de glucosinolatos, en promedio, se obtienen secando la mashua a 60°C, lo cual se confirma con los gráficos de dispersión y gráficos de medias mostrados en el Anexo 11, Figura 16D.

Tabla 8. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de glucosinolatos totales en harina de mashua, variedad amarilla.

Factor	Nivel	Media
Tratamiento de Blanqueado	Microondas	19.2565 ^a
	Ebullición	37.3829 ^b
Estado del Tubérculo	Entero	23.7258 ^a
	Cortado	32.9136 ^b
Tiempo de Blanqueado	0.0 min	22.8681 ^b
	3.0 min	20.7905 ^a
	4.5 min	34.6613 ^c
	6.0 min	34.9589 ^c
Temperatura de Secado	60 °C	31.6551 ^b
	80 °C	24.9843 ^a

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia.

* La medias de los niveles para un mismo bloque (factor) que compartan el mismo superíndice no son estadísticamente diferentes ($P > 0.05$).

Las interacciones entre los factores pueden observarse gráficamente en el Anexo 12, Figura 22.

Dado que en el análisis anterior la contribución de cada factor se midió desestimando los efectos de los demás factores, fue necesario considerar las diferencias entre todos y cada uno de los tratamientos, incluyendo todas las etapas de procesamiento hasta obtener el producto final, es decir, la harina de mashua. La Tabla 9 muestra el contenido de glucosinolatos totales en harina de mashua, variedad amarilla, luego de que esta fuera sometida a los 32 diferentes tratamientos de blanqueado y secado.

El blanqueado por microondas generó reducciones significativas ($P > 0.05$) en el contenido de glucosinolatos totales desde 53.47 hasta 98.15%, mientras que el blanqueado por ebullición generó incrementos significativos de hasta 25.94%, reducciones no significativas desde 2.05% hasta reducciones significativas ($P > 0.05$) de 85.37%, según el tratamiento.

El secado a 60°C generó reducciones significativas ($P > 0.05$) desde 20.53 hasta 98.15%, mientras que el secado a 80°C generó incrementos significativos de hasta 25.94% y reducciones significativas ($P > 0.05$) de hasta 92.16%, según el tratamiento.

Los mayores valores de contenido de glucosinolatos totales fueron obtenidos para tubérculos cortados, blanqueados por ebullición durante 6 minutos y secados a 80°C ($93.48 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), con un incremento significativo del 25.94% ($P > 0.05$) y para tubérculos cortados, blanqueados por ebullición durante 4.5 minutos y secados a 80°C ($72.70 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), siendo este último estadísticamente igual ($P > 0.05$) al valor de contenido de glucosinolatos totales en mashua fresca sin procesamiento.

Los menores valores de contenido de glucosinolatos totales fueron obtenidos para tubérculos cortados, blanqueados por microondas durante 6 minutos y secados a 60°C ($1.37 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS) y a 80°C ($5.90 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), con una disminución significativa del 98.15 y 92.02%, respectivamente ($P > 0.05$).

Tabla 9. Contenido de Glucosinolatos Totales ($\mu\text{mol/gBS}$) para *Tropaeolum Tuberosum*, Variedad Amarilla.

			74.22 ± 2.24^G	74.22 ± 2.24^F
		Inicial		
		Blanqueado	Secado ($^{\circ}\text{C}$)	
Tratamiento	Estado del Tubérculo	Tiempo (min)	60	80
Ebullición	Entero	0	33.38 ± 3.29^{CDb}	8.96 ± 0.14^{ABa}
		3	11.15 ± 0.29^{Ba}	10.86 ± 1.41^{ABCa}
		4.5	26.78 ± 0.98^{Ca}	37.65 ± 1.34^{Eb}
		6	51.54 ± 1.92^{Eb}	41.45 ± 1.01^{Ea}
	Cortado	0	33.38 ± 3.29^{CDb}	8.96 ± 0.14^{ABa}
		3	26.93 ± 1.38^{Ca}	30.75 ± 1.62^{Da}
		4.5	51.17 ± 1.30^{Ea}	72.70 ± 3.79^{Fb}
		6	58.99 ± 4.19^{Fa}	93.48 ± 2.99^{Gb}
Microondas	Entero	0	36.42 ± 3.13^{Db}	12.72 ± 0.68^{BCa}
		3	32.22 ± 1.92^{CDb}	5.82 ± 0.43^{Aa}
		4.5	31.96 ± 1.58^{CDb}	11.75 ± 0.05^{BCa}
		6	11.16 ± 2.12^{Ba}	15.78 ± 0.54^{Ca}
	Cortado	0	36.42 ± 3.13^{Db}	12.72 ± 0.68^{BCa}
		3	34.53 ± 0.12^{Db}	14.05 ± 2.70^{BCa}
		4.5	29.08 ± 2.03^{CDb}	16.19 ± 1.07^{Ca}
		6	1.37 ± 0.02^{Aa}	5.90 ± 0.37^{Aa}

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia.

*Se reportan los resultados como las medias \pm el error estándar de la media (n=4).

**Las medias dentro de una misma columna con el mismo superíndice en letra mayúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) cuando se someten a la prueba de Duncan, las medias dentro de la misma fila con el mismo superíndice en letra minúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p > 0.05$), cuando se someten a la prueba de Duncan.

4.1.2.2 Glucosinolatos Individuales para la Variedad Amarilla

A. Glucoalyssin

El contenido de glucoalyssin, el único glucosinolato alifático presente en la variedad amarilla, fue significativamente afectado por el tratamiento de blanqueado, el estado del tubérculo y el tiempo de blanqueado ($P > 0.05$), la temperatura de secado no tuvo un efecto significativo pero sí las interacciones entre dos y tres factores ($P > 0.05$), como puede observarse amplia y detalladamente en el Anexo 10, Tabla 40.

Mediante una prueba de múltiples rangos, aplicando el procedimiento de comparación múltiple de Duncan se determinó si existen diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de un mismo factor para los cuatro factores evaluados (Tabla 10).

Al igual que para el contenido de glucosinolatos totales, existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos de blanqueado, el estado del tubérculo y el tiempo de blanqueado ($P > 0.05$), siendo la ebullición, el cortado en rodajas y los tiempos de 4.5 y 6 minutos, respectivamente, los tratamientos donde se registran los mayores contenidos de glucoalyssin, lo cual puede apreciarse en los gráficos de dispersión y gráficos de medias mostrados en el Anexo 11, Figura 17A, 17B y 17C.

Sin embargo, con respecto a la temperatura de secado, a diferencia del contenido de glucosinolatos totales, no existe diferencia estadísticamente significativa entre el secado a 60°C y el secado a 80°C ($P > 0.05$), lo cual se confirma con los gráficos de dispersión y gráficos de medias mostrados en el Anexo 11, Figura 17D.

Tabla 10. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de glucoalyssin en harina de mashua, variedad amarilla.

Factor	Nivel	Media
Tratamiento de Blanqueado	Microondas	0.0764 ^a
	Ebullición	0.5128 ^b
Estado del Tubérculo	Entero	0.2277 ^a
	Cortado	0.3615 ^b
Tiempo de Blanqueado	0.0 min	0.1884 ^a
	3.0 min	0.1684 ^a
	4.5 min	0.3962 ^b
	6.0 min	0.4253 ^b
Temperatura de Secado	60 °C	0.2954 ^a
	80 °C	0.2938 ^a

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia.

* Las medias de los niveles para un mismo bloque (factor) que compartan el mismo superíndice no son estadísticamente diferentes ($P > 0.05$).

Las interacciones entre los factores pueden observarse gráficamente en el Anexo 12, Figura 23.

El análisis anterior midió la contribución de cada factor sobre el contenido de glucoalyssin desestimando los efectos de los demás factores, por lo que fue necesario considerar las diferencias entre todos y cada uno de los tratamientos. La Tabla 11 muestra el contenido de glucoalyssin en harina de mashua, variedad amarilla, luego de que esta fuera sometida a los 32 diferentes tratamientos de blanqueado y secado.

Tabla 11. Contenido de Glucoalyssin ($\mu\text{mol/gBS}$) para *Tropaeolum Tuberosum*, Variedad Amarilla.

Inicial			$1.34 \pm 0.02^{\text{H}}$	$1.34 \pm 0.02^{\text{F}}$
Blanqueado			Secado ($^{\circ}\text{C}$)	
Tratamiento	Estado del Tubérculo	Tiempo (min)	60	80
Ebullición	Entero	0.0	$0.38 \pm 0.04^{\text{Eb}}$	$0.07 \pm 0.00^{\text{Aba}}$
		3.0	$0.15 \pm 0.01^{\text{BCa}}$	$0.15 \pm 0.02^{\text{Ba}}$
		4.5	$0.43 \pm 0.02^{\text{Ea}}$	$0.62 \pm 0.03^{\text{Db}}$
		6.0	$0.62 \pm 0.05^{\text{Fa}}$	$0.60 \pm 0.03^{\text{Da}}$
	Cortado	0.0	$0.38 \pm 0.04^{\text{Eb}}$	$0.07 \pm 0.00^{\text{Aba}}$
		3.0	$0.36 \pm 0.03^{\text{DEa}}$	$0.41 \pm 0.02^{\text{Ca}}$
		4.5	$0.66 \pm 0.04^{\text{Fa}}$	$1.16 \pm 0.16^{\text{Eb}}$
		6.0	$0.85 \pm 0.11^{\text{Ga}}$	$1.30 \pm 0.06^{\text{Fb}}$
Inicial			$0.57 \pm 0.01^{\text{F}}$	$0.57 \pm 0.01^{\text{D}}$
Blanqueado			Secado ($^{\circ}\text{C}$)	
Tratamiento	Estado del Tubérculo	Tiempo (min)	60	80
Microondas	Entero	0.0	$0.23 \pm 0.07^{\text{CDb}}$	$0.08 \pm 0.00^{\text{Aba}}$
		3.0	$0.10 \pm 0.02^{\text{ABCa}}$	$0.01 \pm 0.02^{\text{Aba}}$
		4.5	$0.15 \pm 0.07^{\text{BCa}}$	$0.01 \pm 0.00^{\text{Aba}}$
		6.0	$0.02 \pm 0.01^{\text{ABa}}$	$0.02 \pm 0.01^{\text{Aba}}$
	Cortado	0.0	$0.23 \pm 0.07^{\text{CDb}}$	$0.08 \pm 0.00^{\text{Aba}}$
		3.0	$0.11 \pm 0.00^{\text{ABCb}}$	$0.05 \pm 0.03^{\text{Aba}}$
		4.5	$0.06 \pm 0.01^{\text{ABa}}$	$0.07 \pm 0.02^{\text{Aba}}$
		6.0	ND	$6.00\text{E-}04 \pm 0.00^{\text{A}}$

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia.

*Se reportan los resultados como las medias \pm el error estándar de la media (n=4).

**Las medias dentro de una misma columna con el mismo superíndice en letra mayúscula no presentan diferencia estadística significativa ($P > 0.05$) cuando se someten a la prueba de Duncan, las medias dentro de la misma fila con el mismo superíndice en letra minúscula no presentan diferencia estadística significativa ($P > 0.05$), cuando se someten a la prueba de Duncan.

El blanqueado por microondas generó reducciones significativas ($P > 0.05$) en el contenido de glucoalyssin desde 73.72 hasta 100%, es decir, la pérdida total de este glucosinolato, mientras que el blanqueado por ebullición generó reducciones no significativas desde 2.99% hasta reducciones significativas ($P > 0.05$) de 88.92%, según el tratamiento.

El secado a 60°C generó reducciones significativas ($P > 0.05$) desde 36.39 hasta 100%, mientras que el secado a 80°C generó reducciones no significativas de 2.99% y reducciones significativas ($P > 0.05$) de hasta 99.89%, según el tratamiento.

Los mayores valores de contenido de glucoalyssin, al igual que para los glucosinolatos totales, fueron obtenidos para tubérculos cortados, blanqueados por ebullición durante 6 minutos y secados a 80°C ($1.30 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), siendo estadísticamente igual ($P > 0.05$) al valor de contenido de alyssin en mashua fresca sin procesamiento; y para tubérculos cortados, blanqueados por ebullición durante 4.5 minutos y secados a 80°C ($1.16 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), con una ligera pero significativa disminución del 13.43% ($P > 0.05$).

Reducciones abruptas fueron obtenidas con el blanqueado por microondas, que conllevaron incluso a la desaparición del glucoalyssin para tubérculos cortados, blanqueados por microondas durante 6 minutos y secados a 60°C y a una pérdida significativa del 99.89% ($P > 0.05$) para tubérculos cortados, blanqueados por microondas durante 6 minutos y secados a 80°C ($6.00\text{E-}04 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS). Cabe mencionar que pese a que los dos tratamientos mencionados representan las pérdidas más dramáticas, situaciones similares fueron observadas en todos los tratamientos de blanqueado por microondas y secado a 80°C y en casi todos los tratamientos de blanqueado por microondas y secado a 60°C .

B. 4-Hydroxyglucobrassicin

El contenido de 4-hydroxyglucobrassicin, el único glucosinolato indólico presente en la variedad amarilla, fue significativamente afectado por el tratamiento de blanqueado, el estado del tubérculo, el tiempo de blanqueado, la temperatura de secado y las interacciones entre estos cuatro factores ($P > 0.05$), como puede observarse amplia y detalladamente en el Anexo 10, Tabla 42.

Mediante una prueba de múltiples rangos, aplicando el procedimiento de comparación múltiple de Duncan se determinó si existen diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de un mismo factor para los cuatro factores evaluados (Tabla 12).

Tabla 12. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de 4-hydroxyglucobrassicin en harina de mashua, variedad amarilla.

Factor	Nivel	Media
Tratamiento de Blanqueado	Microondas	0.0216 ^a
	Ebullición	0.0587 ^b
Estado del Tubérculo	Entero	0.0313 ^a
	Cortado	0.0490 ^b
Tiempo de Blanqueado	0.0 min	0.0293 ^a
	3.0 min	0.0284 ^a
	4.5 min	0.0506 ^b
	6.0 min	0.0523 ^b
Temperatura de Secado	60 °C	0.0450 ^b
	80 °C	0.0353 ^a

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia.

* La medias de los niveles para un mismo bloque (factor) que compartan el mismo superíndice no son estadísticamente diferentes ($P > 0.05$).

Al igual que para el contenido de glucosinolatos totales, existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos de blanqueado, el estado del tubérculo, el tiempo de blanqueado y la temperatura de secado ($P > 0.05$), siendo la ebullición, el cortado en rodajas, los tiempos de 4.5 y 6 minutos y la temperatura de 60°C , respectivamente, los tratamientos donde se registran los mayores contenidos de 4-hydroxyglucobrassicin, lo cual puede apreciarse en los gráficos de dispersión y gráficos de medias mostrados en el Anexo 11, Figura 19A, 19B, 19C y 19D.

Las interacciones entre los factores pueden observarse gráficamente en el Anexo 12, Figura 25.

El análisis anterior midió la contribución de cada factor sobre el contenido de 4-hydroxyglucobrassicin desestimando los efectos de los demás factores, por lo que fue necesario considerar las diferencias entre todos y cada uno de los tratamientos. La Tabla 13 muestra el contenido de 4-hydroxyglucobrassicin en harina de mashua, variedad amarilla, luego de que esta fuera sometida a los 32 diferentes tratamientos de blanqueado y secado.

El blanqueado por microondas generó reducciones significativas ($P > 0.05$) en el contenido de 4-hydroxyglucobrassicin desde 54.06% hasta 100%, es decir, la pérdida total de este glucosinato, mientras que el blanqueado por ebullición generó incrementos significativos de hasta 39.18% ($P > 0.05$) y reducciones significativas de hasta 88.38% ($P > 0.05$), según el tratamiento.

El secado a 60°C generó desde reducciones no significativas ($P > 0.05$) de 4.63% hasta reducciones significativas del 100% ($P > 0.05$), mientras que el secado a 80°C generó incrementos significativos ($P > 0.05$) de hasta 39.18% y reducciones significativas ($P > 0.05$) de hasta 98.20%, según el tratamiento.

Tabla 13. Contenido de 4-Hydroxyglucobrassicin ($\mu\text{mol/gBS}$) para *Tropaeolum Tuberosum*, Variedad Amarilla.

Inicial			0.10 ± 0.00^G	0.10 ± 0.00^G
Blanqueado			Secado ($^{\circ}\text{C}$)	
Tratamiento	Estado del Tubérculo	Tiempo (min)	60	80
Ebullición	Entero	0.0	0.05 ± 0.01^{Db}	0.01 ± 0.00^{Aba}
		3.0	0.01 ± 0.00^{Aa}	0.01 ± 0.00^{BCDa}
		4.5	0.04 ± 0.00^{BCDa}	0.06 ± 0.00^{EFb}
		6.0	0.09 ± 0.00^{EFb}	0.06 ± 0.00^{Fa}
	Cortado	0.0	0.05 ± 0.01^{Db}	0.01 ± 0.00^{Aba}
		3.0	0.05 ± 0.00^{CDa}	0.06 ± 0.00^{Ea}
		4.5	0.08 ± 0.00^{Ea}	0.12 ± 0.00^{Hb}
		6.0	0.10 ± 0.01^{FGa}	0.14 ± 0.00^{Ib}
Inicial			0.11 ± 0.00^G	0.11 ± 0.00^G
Blanqueado			Secado ($^{\circ}\text{C}$)	
Tratamiento	Estado del Tubérculo	Tiempo (min)	60	80
Microondas	Entero	0.0	0.05 ± 0.01^{BCDb}	0.01 ± 0.00^{BCDa}
		3.0	0.04 ± 0.00^{BCb}	$1.95\text{E-}03 \pm 0.00^{Aa}$
		4.5	0.04 ± 0.00^{BCb}	0.01 ± 0.00^{BCa}
		6.0	0.01 ± 0.00^{Aa}	0.02 ± 0.00^{Da}
	Cortado	0.0	0.05 ± 0.01^{BCDb}	0.01 ± 0.00^{BCDa}
		3.0	0.05 ± 0.00^{Db}	0.01 ± 0.01^{BCDa}
		4.5	0.03 ± 0.00^{Bb}	0.02 ± 0.00^{CDa}
		6.0	ND	$2.45\text{E-}03 \pm 0.00^A$

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia.

*Se reportan los resultados como las medias \pm el error estándar de la media (n=4).

**Las medias dentro de una misma columna con el mismo superíndice en letra mayúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) cuando se someten a la prueba de Duncan, las medias dentro de la misma fila con el mismo superíndice en letra minúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p > 0.05$), cuando se someten a la prueba de Duncan.

Los mayores valores de contenido de 4-hydroxyglucobrassicin fueron obtenidos para tubérculos cortados, blanqueados por ebullición durante 6 minutos y secados a 80°C (0.14 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), con un incremento significativo del 39.18% ($P>0.05$) y para tubérculos cortados, blanqueados por ebullición durante 4.5 minutos y secados a 80°C (0.12 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), con un incremento significativo del 21.68% ($P>0.05$), respecto al valor de contenido de 4-hydroxyglucobrassicin en mashua fresca sin procesamiento.

Los menores valores de contenido de 4-hydroxyglucobrassicin fueron obtenidos para tubérculos cortados, blanqueados por microondas durante 6 minutos y secados a 60°C (ausencia del glucosinolato), a 80°C (2.45E-03 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS) y para tubérculos enteros, blanqueados por microondas durante 3 minutos y secados a 80°C (1.95E-03 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), con una disminución significativa del 100, 97.75 y 98.20%, respectivamente ($P>0.05$).

C. Glucosinalbin

El contenido de glucosinalbin, uno de los tres glucosinolatos aromáticos presentes en la variedad amarilla, fue significativamente afectado por el tratamiento de blanqueado, el estado del tubérculo y el tiempo de blanqueado ($P > 0.05$), la temperatura de secado no tuvo un efecto significativo pero sí algunas de las interacciones entre factores ($P > 0.05$), como puede observarse amplia y detalladamente en el Anexo 10, Tabla 41.

Mediante una prueba de múltiples rangos, aplicando el procedimiento de comparación múltiple de Duncan se determinó si existen diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de un mismo factor para los cuatro factores evaluados (Tabla 14).

Tabla 14. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de glucosinalbin en harina de mashua, variedad amarilla.

Factor	Nivel	Media
Tratamiento de Blanqueado	Microondas	0.0098 ^a
	Ebullición	0.0520 ^b
Estado del Tubérculo	Entero	0.0270 ^a
	Cortado	0.0348 ^b
Tiempo de Blanqueado	0.0 min	0.0145 ^a
	3.0 min	0.0235 ^a
	4.5 min	0.0473 ^b
	6.0 min	0.0383 ^b
Temperatura de Secado	60 °C	0.0327 ^a
	80 °C	0.0291 ^a

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia.

* La medias de los niveles para un mismo bloque (factor) que compartan el mismo superíndice no son estadísticamente diferentes ($P > 0.05$).

Al igual que para el contenido de glucosinolatos totales, existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos de blanqueado, el estado del tubérculo y el tiempo de blanqueado ($P > 0.05$), siendo la ebullición, el cortado en rodajas y los tiempos de 4.5 y 6 minutos, respectivamente, los tratamientos donde se registran los mayores contenidos de glucosinalbin, lo cual puede apreciarse en los gráficos de dispersión y gráficos de medias mostrados en el Anexo 11, Figura 18A, 18B y 18C.

Sin embargo, con respecto a la temperatura de secado, a diferencia del contenido de glucosinolatos totales, no existe diferencia estadísticamente significativa entre el secado a 60°C y el secado a 80°C ($P > 0.05$), lo cual se confirma con los

gráficos de dispersión y gráficos de medias mostrados en el Anexo 11, Figura 18D.

Las interacciones entre los factores pueden observarse gráficamente en el Anexo 12, Figura 24.

El análisis anterior midió la contribución de cada factor sobre el contenido de glucosinalbin desestimando los efectos de los demás factores, por lo que fue necesario considerar las diferencias entre todos y cada uno de los tratamientos. La Tabla 15 muestra el contenido de glucosinalbin en harina de mashua, variedad amarilla, luego de que esta fuera sometida a los 32 diferentes tratamientos de blanqueado y secado.

El blanqueado por microondas generó reducciones significativas ($P > 0.05$) en el contenido de glucosinalbin desde 51.08 hasta 100%, es decir, la pérdida total de este glucosinolato, mientras que el blanqueado por ebullición generó incrementos significativos de hasta 137.37% ($P > 0.05$) y reducciones significativas de hasta 58.02% ($P > 0.05$), según el tratamiento.

El secado a 60°C generó incrementos significativos ($P > 0.05$) de hasta 27.43% y reducciones significativas de hasta 100% ($P > 0.05$), mientras que el secado a 80°C generó incrementos significativos ($P > 0.05$) de hasta 137.37% y reducciones significativas ($P > 0.05$) de hasta 100%, según el tratamiento.

Los mayores valores de contenido de glucosinalbin, al igual que para los glucosinolatos totales, fueron obtenidos para tubérculos cortados, blanqueados por ebullición durante 6 minutos y secados a 80°C ($0.12 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ BS) y para tubérculos cortados, blanqueados por ebullición durante 4.5 minutos y secados a 80°C ($0.14 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ BS), con un incremento significativo de 102.98 y 137.37% ($P > 0.05$), respectivamente, frente al contenido de glucosinalbin en mashua fresca, sin procesamiento.

Tabla 15. Contenido de Glucosinalbin ($\mu\text{mol/gBS}$) para *Tropaeolum Tuberosum*, Variedad Amarilla.

Inicial			0.06 ± 0.01 ^{EF}	0.06 ± 0.01 ^B
Blanqueado			Secado ($^{\circ}\text{C}$)	
Tratamiento	Estado del Tubérculo	Tiempo (min)	60	80
Ebullición	Entero	0.0	0.03 ± 0.00 ^{ABCDE}	ND
		3.0	0.02 ± 0.01 ^{ABCDa}	0.04 ± 0.02 ^{Aba}
		4.5	0.07 ± 0.02 ^{Fa}	0.07 ± 0.02 ^{Ba}
		6.0	0.07 ± 0.02 ^{Fa}	0.06 ± 0.01 ^{Ba}
	Cortado	0.0	0.03 ± 0.00 ^{ABCDE}	ND
		3.0	0.05 ± 0.02 ^{CDEa}	0.02 ± 0.01 ^{Aa}
		4.5	0.06 ± 0.01 ^{EFa}	0.14 ± 0.03 ^{Ca}
		6.0	0.06 ± 0.01 ^{DEFa}	0.12 ± 0.01 ^{Ca}
Inicial			0.07 ± 0.00 ^F	0.07 ± 0.00 ^B
Blanqueado			Secado ($^{\circ}\text{C}$)	
Tratamiento	Estado del Tubérculo	Tiempo (min)	60	80
Microondas	Entero	0.0	0.03 ± 0.01 ^{ABCDEa}	$1.80\text{E-}03 \pm 0.00$ ^{Aa}
		3.0	0.02 ± 0.00 ^{AB}	ND
		4.5	0.02 ± 0.01 ^{ABCDa}	$8.50\text{E-}04 \pm 0.00$ ^{Aa}
		6.0	$1.03\text{E-}03 \pm 0.00$ ^{ABa}	0.01 ± 0.00 ^{Aa}
	Cortado	0.0	0.03 ± 0.01 ^{ABCDa}	$1.80\text{E-}03 \pm 0.00$ ^{Aa}
		3.0	0.03 ± 0.00 ^{BCDa}	0.01 ± 0.00 ^{Aa}
		4.5	0.01 ± 0.00 ^{ABa}	0.01 ± 0.00 ^{Aa}
		6.0	ND	ND

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia.

*Se reportan los resultados como las medias \pm el error estándar de la media (n=4).

**Las medias dentro de una misma columna con el mismo superíndice en letra mayúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) cuando se someten a la prueba de Duncan, las medias dentro de la misma fila con el mismo superíndice en letra minúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p > 0.05$), cuando se someten a la prueba de Duncan.

Reducciones abruptas fueron obtenidas con el blanqueado por microondas, que conllevaron incluso a la desaparición del glucosinalbin para tubérculos cortados, blanqueados por microondas durante 6 minutos y secados a 60°C y a 80°C y para tubérculos enteros, blanqueados también por microondas durante 3 minutos y secados a 80°C. Cabe mencionar que pese a que los tres tratamientos mencionados representan las pérdidas más dramáticas (ausencia total de glucosinalbin), situaciones similares fueron observadas en todos los tratamientos de blanqueado por microondas.

D. Glucotropaeolin

El contenido de glucotropaeolin, uno de los tres glucosinatos aromáticos presentes en la variedad amarilla, fue significativamente afectado por el tratamiento de blanqueado, el estado del tubérculo, el tiempo de blanqueado, la temperatura de secado y las interacciones entre estos cuatro factores ($P > 0.05$), como puede observarse amplia y detalladamente en el Anexo 10, Tabla 43.

Mediante una prueba de múltiples rangos, aplicando el procedimiento de comparación múltiple de Duncan se determinó si existen diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de un mismo factor para los cuatro factores evaluados (Tabla 16).

Al igual que para el contenido de glucosinatos totales, existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos de blanqueado, el estado del tubérculo, el tiempo de blanqueado y la temperatura de secado ($P > 0.05$), siendo la ebullición, el cortado en rodajas, 6 minutos de tiempo de blanqueado y 60°C de temperatura de secado, respectivamente, los tratamientos donde se registran los mayores contenidos de glucotropaeolin, lo cual puede apreciarse en los

gráficos de dispersión y gráficos de medias mostrados en el Anexo 11, Figura 20A, 20B, 20C y 20D.

Tabla 16. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de glucotropaeolin en harina de mashua, variedad amarilla.

Factor	Nivel	Media
Tratamiento de Blanqueado	Microondas	0.0000 ^a
	Ebullición	0.0180 ^b
Estado del Tubérculo	Entero	0.0057 ^a
	Cortado	0.0123 ^b
Tiempo de Blanqueado	0.0 min	0.0000 ^a
	3.0 min	0.0018 ^a
	4.5 min	0.0152 ^b
	6.0 min	0.0190 ^c
Temperatura de Secado	60 °C	0.0063 ^a
	80 °C	0.0117 ^b

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia.

* La medias de los niveles para un mismo bloque (factor) que compartan el mismo superíndice no son estadísticamente diferentes ($P > 0.05$).

Las interacciones entre los factores pueden observarse gráficamente en el Anexo 12, Figura 26.

El análisis anterior midió la contribución de cada factor sobre el contenido de glucotropaeolin desestimando los efectos de los demás factores, por lo que fue necesario considerar las diferencias entre todos y cada uno de los tratamientos. La Tabla 17 muestra el contenido de glucotropaeolin en harina de mashua, variedad amarilla, luego de que esta fuera sometida a los 32 diferentes tratamientos de blanqueado y secado.

Tabla 17. Contenido de Glucotropaeolin ($\mu\text{mol/gBS}$) para *Tropaeolum Tuberosum*, Variedad Amarilla.

Inicial			0.03 ± 0.00 ^{DE}	0.03 ± 0.00 ^{BC}
Blanqueado			Secado ($^{\circ}\text{C}$)	
Tratamiento	Estado del Tubérculo	Tiempo (min)	60	80
Ebullición	Entero	0.0	ND	ND
		3.0	ND	ND
		4.5	0.01 ± 0.00 ^{ABa}	0.03 ± 0.00 ^{Ba}
	Cortado	6.0	0.02 ± 0.01 ^{CDa}	0.03 ± 0.01 ^{Ba}
		0.0	ND	ND
		3.0	0.01 ± 0.01 ^{ABa}	$4.33\text{E-}03 \pm 0.00$ ^{Aa}
Microondas	Cortado	4.5	0.03 ± 0.00 ^{DEa}	0.05 ± 0.01 ^{Da}
		6.0	0.02 ± 0.01 ^{BCa}	0.08 ± 0.00 ^{Ea}
		0.0	0.04 ± 0.00 ^E	0.04 ± 0.00 ^{CD}
Inicial			0.04 ± 0.00 ^E	0.04 ± 0.00 ^{CD}
Blanqueado			Secado ($^{\circ}\text{C}$)	
Tratamiento	Estado del Tubérculo	Tiempo (min)	60	80
Ebullición	Entero	0.0	ND	ND
		3.0	ND	ND
		4.5	ND	ND
	Cortado	6.0	ND	ND
		0.0	ND	ND
		3.0	ND	ND
Microondas	Cortado	4.5	ND	ND
		6.0	ND	ND
		0.0	ND	ND

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia.

*Se reportan los resultados como las medias \pm el error estándar de la media (n=4).

**Las medias dentro de una misma columna con el mismo superíndice en letra mayúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p>0.05$) cuando se someten a la prueba de Duncan, las medias dentro de la misma fila con el mismo superíndice en letra minúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p>0.05$), cuando se someten a la prueba de Duncan.

El blanqueado por microondas, en todos sus tratamientos, generó la pérdida total de glucotropaeolin, mientras que el blanqueado por ebullición generó incrementos significativos de hasta 132.08% ($P > 0.05$) y reducciones significativas de hasta 100% ($P > 0.05$), según el tratamiento.

El secado a 60°C generó desde reducciones no significativas ($P > 0.05$) de 2.12% hasta reducciones significativas de hasta 100% ($P > 0.05$), mientras que el secado a 80°C generó incrementos significativos ($P > 0.05$) de hasta 132.08% y reducciones significativas ($P > 0.05$) de hasta 100%, según el tratamiento.

Los mayores valores de contenido de glucotropaeolin, al igual que para los glucosinolatos totales, fueron obtenidos para tubérculos cortados, blanqueados por ebullición durante 6 minutos y secados a 80°C ($0.08 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS) y para tubérculos cortados, blanqueados por ebullición durante 4.5 minutos y secados a 80°C ($0.05 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), con un incremento significativo de 132.08 y 40.98% ($P > 0.05$), respectivamente, frente al contenido de glucotropaeolin en mashua fresca, sin procesamiento.

Reducciones abruptas que implicaron la desaparición total del glucotropaeolin fueron obtenidas en todos los tratamientos, a excepción únicamente de los tubérculos cortados blanqueados por ebullición durante 4.5 y 6 minutos y para tubérculos enteros blanqueados por ebullición durante 6 minutos.

E. Glucoaubrietin

El contenido de glucoaubrietin, glucosinolato aromático más abundante e importante en mashua amarilla, fue significativamente afectado por el tratamiento de blanqueado, el estado del tubérculo, el tiempo de blanqueado, la

temperatura de secado y las interacciones entre estos cuatro factores ($P > 0.05$), como puede observarse amplia y detalladamente en el Anexo 10, Tabla 44.

Mediante una prueba de múltiples rangos, aplicando el procedimiento de comparación múltiple de Duncan se determinó si existen diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de un mismo factor para los cuatro factores evaluados (Tabla 18).

Tabla 18. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de glucoaubrietin en harina de mashua, variedad amarilla.

Factor	Nivel	Media
Tratamiento Blanqueado	Microondas	19.1488 ^a
	Ebullición	36.7414 ^b
Estado del Tubérculo	Entero	23.4340 ^a
	Cortado	32.4561 ^b
Tiempo de Blanqueado	0.0 min.	22.6359 ^b
	3.0 min.	20.5684 ^a
	4.5 min.	34.1520 ^c
	6.0 min.	34.4240 ^c
Temperatura de Secado	60 °C	31.2757 ^b
	80 °C	24.6145 ^a

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia.

* La medias de los niveles para un mismo bloque (factor) que compartan el mismo superíndice no son estadísticamente diferentes ($P > 0.05$).

Al igual que para el contenido de glucosinolatos totales, existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos de blanqueado, el estado del tubérculo, el tiempo de blanqueado y la temperatura de secado ($P > 0.05$), siendo la ebullición, el cortado en rodajas, los tiempos de 4.5 y 6 minutos y la

temperatura de 60°C, respectivamente, los tratamientos donde se registran los mayores contenidos de glucoaubrietin, lo cual puede apreciarse en los gráficos de dispersión y gráficos de medias mostrados en el Anexo 11, Figura 21A, 21B, 21C y 21D. Las interacciones entre los factores pueden observarse gráficamente en el Anexo 12, Figura 27.

El análisis anterior midió la contribución de cada factor sobre el contenido de glucoaubrietin desestimando los efectos de los demás factores, por lo que fue necesario considerar las diferencias entre todos y cada uno de los tratamientos. La Tabla 19 muestra el contenido de glucoaubrietin en harina de mashua, variedad amarilla, luego de que esta fuera sometida a los 32 diferentes tratamientos de blanqueado y secado.

El blanqueado por microondas generó reducciones significativas ($P > 0.05$) en el contenido de glucoaubrietin desde 55.47 hasta 98.22%, mientras que el blanqueado por ebullición generó incrementos significativos de hasta 33.06% y reducciones significativas de hasta ($P > 0.05$) de 84.56%, según el tratamiento.

El secado a 60°C generó reducciones significativas ($P > 0.05$) desde 16.02 hasta 98.22%, mientras que el secado a 80°C generó incrementos significativos de hasta 33.06% y reducciones significativas ($P > 0.05$) de hasta 92.47%, según el tratamiento.

Los mayores valores de contenido de glucoaubrietin fueron obtenidos para tubérculos cortados, blanqueados por ebullición durante 6 minutos y secados a 80°C ($91.84 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), con un incremento significativo del 33.06% ($P > 0.05$) y para tubérculos cortados, blanqueados por ebullición durante 4.5 minutos y secados a 80°C ($71.23 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), siendo este último estadísticamente igual ($P > 0.05$) al valor de contenido de glucoaubrietin en mashua fresca sin procesamiento.

Tabla 19. Contenido de Glucoaubrietin ($\mu\text{mol/gBS}$) para *Tropaeolum Tuberosum*, Variedad Amarilla.

Inicial			$69.02 \pm 0.40^{\text{H}}$	$69.02 \pm 0.40^{\text{G}}$
Blanqueado		Secado ($^{\circ}\text{C}$)		
Tratamiento	Estado del Tubérculo	Tiempo (min)	60	80
Ebullición	Entero	0.0	$32.92 \pm 3.24^{\text{CDEb}}$	$8.88 \pm 0.14^{\text{ABa}}$
		3.0	$10.97 \pm 0.30^{\text{Ba}}$	$10.66 \pm 1.41^{\text{BCa}}$
		4.5	$26.22 \pm 0.97^{\text{Ca}}$	$36.88 \pm 1.31^{\text{Fb}}$
		6.0	$50.74 \pm 1.85^{\text{Fb}}$	$40.70 \pm 0.96^{\text{Fa}}$
	Cortado	0.0	$32.92 \pm 3.24^{\text{CDEb}}$	$8.88 \pm 0.14^{\text{ABa}}$
		3.0	$26.46 \pm 1.33^{\text{Ca}}$	$30.25 \pm 1.60^{\text{Ea}}$
		4.5	$50.33 \pm 1.29^{\text{Fa}}$	$71.23 \pm 3.62^{\text{Gb}}$
		6.0	$57.96 \pm 4.06^{\text{Ga}}$	$91.84 \pm 3.01^{\text{Ib}}$
Inicial			$77.11 \pm 0.94^{\text{I}}$	$77.11 \pm 0.94^{\text{H}}$
Blanqueado		Secado ($^{\circ}\text{C}$)		
Tratamiento	Estado del Tubérculo	Tiempo (min)	60	80
Microondas	Entero	0.0	$36.12 \pm 3.05^{\text{Eb}}$	$12.62 \pm 0.68^{\text{BCDa}}$
		3.0	$32.07 \pm 1.89^{\text{CDEb}}$	$5.80 \pm 0.42^{\text{Aa}}$
		4.5	$31.76 \pm 1.51^{\text{CDEb}}$	$11.73 \pm 0.05^{\text{BCDa}}$
		6.0	$11.14 \pm 2.11^{\text{Ba}}$	$15.74 \pm 0.54^{\text{Da}}$
	Cortado	0.0	$36.12 \pm 3.05^{\text{Eb}}$	$12.62 \pm 0.68^{\text{BCDa}}$
		3.0	$34.34 \pm 0.12^{\text{DEb}}$	$13.98 \pm 2.66^{\text{CDa}}$
		4.5	$28.97 \pm 2.03^{\text{CDb}}$	$16.10 \pm 1.05^{\text{Da}}$
		6.0	$1.37 \pm 0.02^{\text{Aa}}$	$5.90 \pm 0.37^{\text{Aa}}$

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia.

*Se reportan los resultados como las medias \pm el error estándar de la media (n=4).

**Las medias dentro de una misma columna con el mismo superíndice en letra mayúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) cuando se someten a la prueba de Duncan, las medias dentro de la misma fila con el mismo superíndice en letra minúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p > 0.05$), cuando se someten a la prueba de Duncan.

Los menores valores de contenido de glucoaubrietin fueron obtenidos para tubérculos cortados, blanqueados por microondas durante 6 minutos y secados a 60°C ($1.37 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS) y a 80°C ($5.90 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), con una disminución significativa del 98.22 y 92.35%, respectivamente ($P > 0.05$).

4.1.3. Influencia del Procesamiento en el Contenido de Glucosinolatos Totales e Individuales para la Variedad Morada

Se evaluó el efecto de cuatro factores: el tratamiento previo (soleado y sin soleado), el tratamiento de blanqueado (ebullición y microondas), el estado del tubérculo al momento del blanqueado (entero y cortado en rodajas) y la temperatura de secado (60 y 80°C).

Los valores de concentración de glucosinolatos ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS) obtenidos en el producto terminado (harina de mashua), luego del procesamiento, fueron analizados inicialmente, al igual que con la variedad amarilla, mediante un análisis de varianza multifactorial para determinar el efecto individual de cada factor, así como para tener una idea preliminar de las interacciones entre factores y seguidamente, mediante un análisis de varianza de una vía, aplicando la prueba de Duncan para reportar las diferencias entre las medias de los 20 diferentes tratamientos estudiados para esta variedad.

4.1.3.1 Glucosinolatos Totales para la Variedad Morada

El contenido de glucosinolatos totales para la variedad morada fue significativamente afectado por el tratamiento previo, el tratamiento de blanqueado y el estado del tubérculo ($P > 0.05$), la temperatura de secado no tuvo un efecto significativo pero sí algunas de las interacciones entre factores ($P > 0.05$), como puede observarse amplia y detalladamente en el Anexo 13, Tabla 45.

Mediante una prueba de múltiples rangos, aplicando el procedimiento de comparación múltiple de Duncan se determinó si existen diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de un mismo factor para los cuatro factores evaluados (Tabla 20).

Tabla 20. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de glucosinolatos totales en harina de mashua, variedad morada.

Factor	Nivel	Media
Tratamiento Previo	Soleado	48.4015 ^a
	Sin Soleado	64.9026 ^b
Tratamiento de Blanqueado	Microondas	29.1428 ^a
	Ebullición	84.1613 ^b
Estado del Tubérculo	Entero	61.3351 ^b
	Cortado	51.9691 ^a
Temperatura de Secado	60 °C	55.7072 ^a
	80 °C	57.5970 ^a

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia.

* La medias de los niveles para un mismo bloque (factor) que compartan el mismo superíndice no son estadísticamente diferentes ($P > 0.05$).

En términos generales, existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos previos, los estados del tubérculo al momento del blanqueado y los tratamientos de blanqueado ($P > 0.05$), siendo los tubérculos sin soleado, los tubérculos enteros y aquellos blanqueados por ebullición, respectivamente, los tratamientos donde se registran los mayores contenidos de glucosinolatos totales, lo cual se aprecia también en los gráficos de dispersión y gráficos de medias mostrados en el Anexo 14, Figura 28A, 28B y 28C.

Sin embargo, respecto a la temperatura de secado, no existe diferencia estadísticamente significativa entre el secado a 60°C y el secado a 80°C ($P >$

0.05), lo cual se confirma con los gráficos de dispersión y gráficos de medias mostrados en el Anexo 14, Figura 28D.

Las interacciones entre los factores pueden observarse gráficamente en el Anexo 15, Figura 33.

Dado que en el análisis anterior la contribución de cada factor se midió desestimando los efectos de los demás factores, fue necesario considerar las diferencias entre todos y cada uno de los tratamientos. La Tabla 21 muestra el contenido de glucosinolatos totales en harina de mashua, variedad morada, luego de que esta fuera sometida a los 20 diferentes tratamientos de blanqueado y secado.

Para tubérculos frescos, es decir, sin soleado, el blanqueado por microondas generó reducciones significativas en el contenido de glucosinolatos totales desde 32.96 hasta 90.67% ($P > 0.05$), mientras que el blanqueado por ebullición generó incrementos no significativos de 0.05% ($P > 0.05$) y reducciones significativas de hasta 39.42% ($P > 0.05$), según el tratamiento.

Para tubérculos soleados, el blanqueado por microondas generó reducciones significativas en el contenido de glucosinolatos totales desde 49.65 hasta 84.11% ($P > 0.05$), mientras que el blanqueado por ebullición generó desde reducciones no significativas de 7.99% ($P > 0.05$) hasta reducciones significativas de hasta 32.37% ($P > 0.05$), según el tratamiento.

El secado a 60°C generó desde incrementos no significativos de 2.21% ($P > 0.05$) hasta reducciones significativas de hasta 90.67% ($P > 0.05$), mientras que el secado a 80°C generó desde incrementos no significativos de 0.05% ($P > 0.05$) hasta reducciones significativas de hasta 88.15% ($P > 0.05$), según el tratamiento.

Tabla 21. Contenido de Glucosinolatos Totales ($\mu\text{mol/gBS}$) para *Tropaeolum Tuberosum*, Variedad Morada.

		Inicial		91.60 ± 1.09 ^{EF}	91.60 ± 1.09 ^D
		Blanqueado		Secado ($^{\circ}\text{C}$)	
Tratamiento	Tratamiento de Blanqueado	Estado del Tubérculo	60	80	
			Previo:	Ebullición	Entero
Soleado	Microondas	Cortado	76.23 ± 1.37 ^{DEa}	62.48 ± 2.83 ^{Ba}	
		Entero	46.12 ± 4.95 ^{Cb}	16.20 ± 2.09 ^{Aa}	
		Cortado	25.41 ± 1.13 ^{ABa}	14.55 ± 4.05 ^{Aa}	
	Sin Blanqueado		93.23 ± 0.50 ^{EFb}	67.48 ± 4.72 ^{Ba}	
		Inicial		110.60 ± 1.87 ^G	110.60 ± 1.87 ^E
		Blanqueado		Secado ($^{\circ}\text{C}$)	
Tratamiento	Tratamiento de Blanqueado	Estado del Tubérculo	60	80	
			Previo: Sin	Ebullición	Entero
Soleado	Microondas	Cortado	103.01 ± 1.38 ^{FGa}	110.66 ± 9.6 ^{Ea}	
		Entero	33.31 ± 2.27 ^{BCa}	74.14 ± 7.02 ^{BCb}	
		Cortado	10.32 ± 1.44 ^{Aa}	13.10 ± 2.38 ^{Aa}	
	Sin Blanqueado		113.04 ± 12.27 ^{Gb}	84.44 ± 5.22 ^{CDa}	

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia.

*Se reportan los resultados como las medias \pm el error estándar de la media ($n=2$).

**Las medias dentro de una misma columna con el mismo superíndice en letra mayúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p>0.05$) cuando se someten a la prueba de Duncan, las medias dentro de la misma fila con el mismo superíndice en letra minúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p>0.05$) cuando se someten a la prueba de Duncan.

Los mayores valores de contenido de glucosinolatos totales fueron obtenidos para tubérculos sin soleado, sin blanqueado y secados directamente a 60°C (113.04 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), y para tubérculos sin soleado, cortados, blanqueados por ebullición y secados a 80°C (110.66 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), siendo estos valores estadísticamente iguales ($P > 0.05$) al valor de contenido de glucosinolatos totales en mashua fresca sin procesamiento.

Los menores valores de contenido de glucosinolatos totales fueron obtenidos para tubérculos sin soleado, cortados, blanqueados por microondas y secados a 60°C (10.32 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS) y a 80°C (13.10 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), con una disminución significativa del 90.67 y 88.15%, respectivamente ($P > 0.05$).

4.1.3.2 Glucosinolatos Individuales para la Variedad Morada

A. Glucoalyssin

El contenido de glucoalyssin, el único glucosinolato alifático presente en la variedad morada, fue significativamente afectado por el tratamiento de blanqueado y el estado del tubérculo ($P > 0.05$), el tratamiento previo y la temperatura de secado no tuvo un efecto significativo pero sí algunas de las interacciones entre factores ($P > 0.05$), como puede observarse amplia y detalladamente en el Anexo 13, Tabla 46.

Mediante una prueba de múltiples rangos, aplicando el procedimiento de comparación múltiple de Duncan se determinó si existen diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de un mismo factor para los cuatro factores evaluados (Tabla 22).

Tabla 22. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de glucoalyssin en harina de mashua, variedad morada.

Factor	Nivel	Media
Tratamiento Previo	Soleado	1.3723 ^a
	Sin Soleado	1.6055 ^a
Tratamiento de Blanqueado	Microondas	0.7410 ^a
	Ebullición	2.2368 ^b
Estado del Tubérculo	Entero	1.6120 ^b
	Cortado	1.3658 ^a
Temperatura de Secado	60 °C	1.4885 ^a
	80 °C	1.4893 ^a

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia.

* La medias de los niveles para un mismo bloque (factor) que compartan el mismo superíndice no son estadísticamente diferentes ($P > 0.05$).

En términos generales, existe diferencia estadísticamente significativa entre los estados del tubérculo al momento del blanqueado y los tratamientos de blanqueado ($P > 0.05$), siendo los tubérculos enteros y aquellos blanqueados por ebullición, respectivamente, los tratamientos donde se registran los mayores contenidos de glucoalyssin, lo cual se aprecia también en los gráficos de dispersión y gráficos de medias mostrados en el Anexo 14, Figura 29A y 29B.

Sin embargo, respecto al tratamiento previo y a la temperatura de secado, no existe diferencia estadísticamente significativa entre tubérculos soleados y no soleados ni entre el secado a 60°C y el secado a 80°C ($P > 0.05$), lo cual se confirma con los gráficos de dispersión y gráficos de medias mostrados en el Anexo 14, Figura 29C y 29D.

Las interacciones entre los factores pueden observarse gráficamente en el Anexo 15, Figura 34.

Dado que en el análisis anterior la contribución de cada factor se midió desestimando los efectos de los demás factores, fue necesario considerar las diferencias entre todos y cada uno de los tratamientos. La Tabla 23 muestra el contenido de glucoalyssin en harina de mashua, variedad morada, luego de que esta fuera sometida a los 20 diferentes tratamientos de blanqueado y secado.

Para tubérculos frescos, es decir, sin soleado, el blanqueado por microondas generó reducciones significativas en el contenido de glucoalyssin desde 66.05 hasta 94.99% ($P > 0.05$), mientras que el blanqueado por ebullición generó reducciones significativas desde 47.76% ($P > 0.05$) hasta 69.27% ($P > 0.05$), según el tratamiento.

Para tubérculos soleados, el blanqueado por microondas generó reducciones significativas en el contenido de glucoalyssin desde 60.34 hasta 86.50% ($P > 0.05$), mientras que el blanqueado por ebullición generó reducciones significativas desde 33.44% ($P > 0.05$) hasta reducciones significativas de hasta 51.63% ($P > 0.05$), según el tratamiento.

El secado a 60°C generó desde reducciones significativas desde 33.44% hasta 94.99% ($P > 0.05$), mientras que el secado a 80°C generó reducciones significativas desde 39.36% ($P > 0.05$) hasta 93.22% ($P > 0.05$), según el tratamiento.

Los mayores valores de contenido de glucoalyssin fueron obtenidos para tubérculos sin soleado, sin blanqueado y secados directamente a 60°C (2.57 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), y para tubérculos soleados, enteros, blanqueados por ebullición y secados a 60°C (2.63 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), con una disminución significativa de 44.03 y 33.44% ($P > 0.05$), respectivamente, frente al contenido de glucoalyssin en mashua fresca, sin procesamiento.

Tabla 23. Contenido de Glucoalyssin ($\mu\text{mol/gBS}$) para *Tropaeolum tuberosum*, Variedad Morada.

		Inicial		3.95 ± 0.10^F	3.95 ± 0.10^F
		Blanqueado		Secado ($^{\circ}\text{C}$)	
Tratamiento	Tratamiento de Blanqueado	Estado del Tubérculo	60	80	
			Previo:	Ebullición	Entero
Soleado	Microondas	Cortado	2.55 ± 0.27^{Ea}	1.91 ± 0.05^{BCDa}	
		Entero	1.57 ± 0.67^{CDb}	0.60 ± 0.04^{Aa}	
		Cortado	0.66 ± 0.02^{Aba}	0.53 ± 0.15^{Aa}	
	Sin Blanqueado		2.55 ± 0.23^{Ea}	2.13 ± 0.25^{CDEa}	
		Inicial		4.60 ± 0.17^F	4.60 ± 0.17^G
		Blanqueado		Secado ($^{\circ}\text{C}$)	
Tratamiento	Tratamiento de Blanqueado	Estado del Tubérculo	60	80	
			Previo: Sin	Ebullición	Entero
Soleado	Microondas	Cortado	2.40 ± 0.23^{DEa}	2.33 ± 0.12^{DEa}	
		Entero	0.46 ± 0.05^{Aa}	1.56 ± 0.04^{Bb}	
		Cortado	0.23 ± 0.01^{Aa}	0.31 ± 0.02^{Aa}	
	Sin Blanqueado		2.57 ± 0.39^{Eb}	1.79 ± 0.05^{BCa}	

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia.

*Se reportan los resultados como las medias \pm el error estándar de la media ($n=2$).

**Las medias dentro de una misma columna con el mismo superíndice en letra mayúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p>0.05$) cuando se someten a la prueba de Duncan, las medias dentro de la misma fila con el mismo superíndice en letra minúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p>0.05$) cuando se someten a la prueba de Duncan.

Los menores valores de contenido de glucoalyssin fueron obtenidos para tubérculos sin soleado, cortados, blanqueados por microondas y secados a 60°C (0.23 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS) y a 80°C (0.31 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), con una disminución significativa del 94.99 y 93.22%, respectivamente ($P > 0.05$).

B. 4-Hydroxyglucobrassicin

El contenido de 4-hydroxyglucobrassicin, el único glucosinolato indólico presente en la variedad morada, fue significativamente afectado por el tratamiento previo, el tratamiento de blanqueado y el estado del tubérculo ($P > 0.05$), la temperatura de secado no tuvo un efecto significativo pero sí algunas de las interacciones entre factores ($P > 0.05$), como puede observarse amplia y detalladamente en el Anexo 13, Tabla 48.

Mediante una prueba de múltiples rangos, aplicando el procedimiento de comparación múltiple de Duncan se determinó si existen diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de un mismo factor para los cuatro factores evaluados (Tabla 24).

En términos generales, existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos previos, los estados del tubérculo al momento del blanqueado y los tratamientos de blanqueado ($P > 0.05$), siendo los tubérculos sin soleado, los tubérculos enteros y aquellos blanqueados por ebullición, respectivamente, los tratamientos donde se registran los mayores contenidos de 4-hydroxyglucobrassicin, lo cual se aprecia también en los gráficos de dispersión y gráficos de medias mostrados en el Anexo 14, Figura 31A, 31B y 31C.

Sin embargo, respecto a la temperatura de secado, no existe diferencia estadísticamente significativa entre el secado a 60°C y el secado a 80°C ($P >$

0.05), lo cual se confirma con los gráficos de dispersión y gráficos de medias mostrados en el Anexo 14, Figura 31D.

Tabla 24. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de 4-hydroxyglucobrassicin en harina de mashua, variedad morada.

Factor	Nivel	Media
Tratamiento Previo	Soleado	0.0706 ^a
	Sin Soleado	0.0889 ^b
Tratamiento de Blanqueado	Microondas	0.0345 ^a
	Ebullición	0.1249 ^b
Estado del Tubérculo	Entero	0.0868 ^b
	Cortado	0.0726 ^a
Temperatura de Secado	60 °C	0.0797 ^a
	80 °C	0.0798 ^a

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia.

* La medias de los niveles para un mismo bloque (factor) que compartan el mismo superíndice no son estadísticamente diferentes ($P > 0.05$).

Las interacciones entre los factores pueden observarse gráficamente en el Anexo 15, Figura 36.

Dado que en el análisis anterior la contribución de cada factor se midió desestimando los efectos de los demás factores, fue necesario considerar las diferencias entre todos y cada uno de los tratamientos. La Tabla 25 muestra el contenido de 4-hydroxyglucobrassicin en harina de mashua, variedad morada, luego de que esta fuera sometida a los 20 diferentes tratamientos de blanqueado y secado.

Tabla 25. Contenido de 4-Hydroxyglucobrassicin ($\mu\text{mol/gBS}$) para *Tropaeolum Tuberosum*, Variedad Morada.

		Inicial		0.11 ± 0.00 ^{DE}	0.11 ± 0.00 ^{BC}
		Blanqueado		Secado (°C)	
Tratamiento	Tratamiento de Blanqueado	Estado del Tubérculo	60	80	
			Previo: Soleado	Ebullición	Entero
		Cortado	0.13 ± 0.01 ^{EFGb}	0.09 ± 0.01 ^{Ba}	
	Microondas	Entero	0.06 ± 0.01 ^{Cb}	0.01 ± 0.00 ^{Aa}	
		Cortado	0.03 ± 0.00 ^{Aba}	0.01 ± 0.01 ^{Aa}	
	Sin Blanqueado		0.12 ± 0.00 ^{EFb}	0.09 ± 0.01 ^{Ba}	
		Inicial		0.13 ± 0.01 ^{EF}	0.13 ± 0.01 ^C
		Blanqueado		Secado (°C)	
Tratamiento	Tratamiento de Blanqueado	Estado del Tubérculo	60	80	
			Previo: Sin Soleado	Ebullición	Entero
		Cortado	0.15 ± 0.00 ^{FGa}	0.15 ± 0.01 ^{Da}	
	Microondas	Entero	0.04 ± 0.00 ^{BCa}	0.10 ± 0.01 ^{BCb}	
		Cortado	0.01 ± 0.00 ^{Aa}	0.01 ± 0.00 ^{Aa}	
	Sin Blanqueado		0.16 ± 0.02 ^{Gb}	0.11 ± 0.01 ^{BCa}	

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia.

*Se reportan los resultados como las medias \pm el error estándar de la media (n=2).

**Las medias dentro de una misma columna con el mismo superíndice en letra mayúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) cuando se someten a la prueba de Duncan, las medias dentro de la misma fila con el mismo superíndice en letra minúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) cuando se someten a la prueba de Duncan.

Para tubérculos frescos, es decir, sin soleado, el blanqueado por microondas generó desde reducciones no significativas de 17.95% ($P > 0.05$) hasta reducciones significativas de 93.84% ($P > 0.05$) en el contenido de 4-hydroxyglucobrassicin, mientras que el blanqueado por ebullición generó incrementos significativos en el contenido de 4-hydroxyglucobrassicin de hasta 24.55% ($P > 0.05$) y reducciones significativas de hasta 25.86% ($P > 0.05$), según el tratamiento.

Para tubérculos soleados, el blanqueado por microondas generó reducciones significativas en el contenido de 4-hydroxyglucobrassicin desde 46.05 hasta 88.32% ($P > 0.05$), mientras que el blanqueado por ebullición generó incrementos no significativos de hasta 21.02% y reducciones no significativas de hasta 19.85% ($P > 0.05$), según el tratamiento.

El secado a 60°C generó incrementos significativos de hasta 24.94% y reducciones significativas de hasta 93.84% ($P > 0.05$), mientras que el secado a 80°C generó incrementos significativos de hasta 24.54% y reducciones significativas de hasta 89.89% ($P > 0.05$), según el tratamiento.

Los mayores valores de contenido de 4-hydroxyglucobrassicin fueron obtenidos para tubérculos sin soleado, sin blanqueado y secados directamente a 60°C ($0.16 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), y para tubérculos sin soleado, enteros, blanqueados por ebullición y secados a 80°C ($0.16 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), con un incremento significativo de 24.94 y 24.55% ($P > 0.05$), respectivamente, frente al contenido de 4-hydroxyglucobrassicin en mashua fresca, sin procesamiento.

Los menores valores de contenido de 4-hydroxyglucobrassicin fueron obtenidos para tubérculos sin soleado, cortados, blanqueados por microondas y secados a 60°C ($0.008 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS) y a 80°C ($0.013 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), con una disminución significativa del 93.84 y 89.89%, respectivamente ($P > 0.05$).

C. Glucosinalbin

El contenido de glucosinalbin, uno de los tres glucosinolatos aromáticos presentes en la variedad morada fue significativamente afectado solo por el tratamiento de blanqueado ($P > 0.05$); el tratamiento previo, el estado del tubérculo y la temperatura de secado no tuvieron un efecto significativo pero sí algunas de las interacciones entre factores ($P > 0.05$), como puede observarse amplia y detalladamente en el Anexo 13, Tabla 47.

Mediante una prueba de múltiples rangos, aplicando el procedimiento de comparación múltiple de Duncan se determinó si existen diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de un mismo factor para los cuatro factores evaluados (Tabla 26).

Tabla 26. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de glucosinalbin en harina de mashua, variedad morada.

Factor	Nivel	Media
Tratamiento Previo	Soleado	0.0735 ^a
	Sin Soleado	0.0663 ^a
Tratamiento de Blanqueado	Microondas	0.0401 ^a
	Ebullición	0.0997 ^b
Estado del Tubérculo	Entero	0.0778 ^a
	Cortado	0.0620 ^a
Temperatura de Secado	60 °C	0.0641 ^a
	80 °C	0.0757 ^a

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia.

* La medias de los niveles para un mismo bloque (factor) que compartan el mismo superíndice no son estadísticamente diferentes ($P > 0.05$).

En términos generales, existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos de blanqueado ($P > 0.05$), siendo la ebullición, el tratamiento donde se registran los mayores contenidos de glucosinalbin, lo cual se aprecia también en los gráficos de dispersión y gráficos de medias mostrados en el Anexo 14, Figura 30.

Sin embargo, respecto al tratamiento previo, al estado del tubérculo al momento del blanqueado y a la temperatura de secado, no existe diferencia estadísticamente significativa entre tubérculos soleados y no soleados, entre tubérculos enteros y cortados, ni entre el secado a 60°C y el secado a 80°C ($P > 0.05$), lo cual se confirma con los gráficos de dispersión y gráficos de medias mostrados en el Anexo 14, Figura 30B, 30C y 30D.

Las interacciones entre los factores pueden observarse gráficamente en el Anexo 15, Figura 35.

Dado que en el análisis anterior la contribución de cada factor se midió desestimando los efectos de los demás factores, fue necesario considerar las diferencias entre todos y cada uno de los tratamientos. La Tabla 27 muestra el contenido de glucosinalbin en harina de mashua, variedad morada, luego de que esta fuera sometida a los 20 diferentes tratamientos de blanqueado y secado.

Para tubérculos frescos, es decir, sin soleado, el blanqueado por microondas generó desde reducciones no significativas de 40.37% ($P > 0.05$) hasta reducciones significativas de hasta 99.22% ($P > 0.05$) en el contenido de glucosinalbin, mientras que el blanqueado por ebullición generó desde reducciones no significativas de 19.16% ($P > 0.05$) hasta reducciones significativas de hasta 58.10% ($P > 0.05$), según el tratamiento.

Tabla 27. Contenido de Glucosinabin ($\mu\text{mol/gBS}$) para *Tropaeolum Tuberosum*, Variedad Morada.

		Inicial		0.09 ± 0.00^E	0.09 ± 0.00^{BCD}
		Blanqueado		Secado ($^{\circ}\text{C}$)	
Tratamiento	Tratamiento de Blanqueado	Estado del Tubérculo	60	80	
			Previo:	Ebullición	Entero
Soleado	Microondas	Entero	0.05 ± 0.00^C Da	0.09 ± 0.06 BCDa	
		Cortado	0.11 ± 0.00^E Fa	0.09 ± 0.02 BCDa	
	Sin Blanqueado		0.10 ± 0.00^{Ea}	0.07 ± 0.00 ABCa	
		Inicial		0.15 ± 0.01^{GH}	0.15 ± 0.01^D
		Blanqueado		Secado ($^{\circ}\text{C}$)	
Tratamiento	Tratamiento de Blanqueado	Estado del Tubérculo	60	80	
			Previo: Sin	Ebullición	Entero
Soleado	Microondas	Entero	0.03 ± 0.00^{BCa}	0.09 ± 0.01 BCDb	
		Cortado	0.11 ± 0.00^{EFa}	0.12 ± 0.02 CDa	
	Sin Blanqueado		$1.2\text{E-}03 \pm 0.00^{Aa}$	$4.9\text{E-}03 \pm 0.00^{Aa}$	
	Sin Blanqueado		0.16 ± 0.02^{Hb}	0.09 ± 0.01 BCDa	

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia.

*Se reportan los resultados como las medias \pm el error estándar de la media (n=2).

**Las medias dentro de una misma columna con el mismo superíndice en letra mayúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p>0.05$) cuando se someten a la prueba de Duncan, las medias dentro de la misma fila con el mismo superíndice en letra minúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p>0.05$) cuando se someten a la prueba de Duncan.

Para tubérculos soleados, el blanqueado por microondas generó desde reducciones no significativas de 2.16% ($P>0.05$) hasta reducciones significativas de hasta 80.16% ($P>0.05$), mientras que el blanqueado por ebullición generó incrementos significativos de hasta 38.94% ($P>0.05$) y reducciones no significativas de hasta 36.57% ($P>0.05$), según el tratamiento.

El secado a 60°C generó desde incrementos no significativos de 5.89% hasta reducciones significativas de hasta 99.22% ($P>0.05$), mientras que el secado a 80°C generó desde reducciones no significativas de 19.16% ($P>0.05$) hasta reducciones significativas de hasta 96.66% ($P>0.05$), según el tratamiento.

Los mayores valores de contenido de glucosinalbin fueron obtenidos para tubérculos sin soleado, sin blanqueado y secados directamente a 60°C ($0.16 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), y para tubérculos soleados, enteros, blanqueados por ebullición y secados a 60°C ($0.13 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), con un incremento no significativo de 5.88% y un incremento significativo de 38.94% ($P>0.05$), respectivamente, frente al contenido de glucosinalbin en mashua fresca, sin procesamiento.

Los menores valores de contenido de glucosinalbin fueron obtenidos para tubérculos sin soleado, cortados, blanqueados por microondas y secados a 60°C ($1.2\text{E}-03 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS) y a 80°C ($4.9\text{E}-03 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), con una disminución significativa del 99.22 y 96.66%, respectivamente ($P>0.05$).

D. Glucotropaeolin

Todos los tratamientos conllevaron a la pérdida o desaparición total de glucotropaeolin, uno de los tres glucosinolatos aromáticos presentes (aunque en bajas cantidades) en la variedad morada de mashua fresca.

E. Glucoaubrietin

El contenido de glucoaubrietin, glucosinolato aromático más abundante e importante en mashua morada fue significativamente afectado por el tratamiento previo, el tratamiento de blanqueado y el estado del tubérculo ($P > 0.05$), la temperatura de secado no tuvo un efecto significativo pero sí algunas de las interacciones entre factores ($P > 0.05$), como puede observarse amplia y detalladamente en el Anexo 13, Tabla 49.

Mediante una prueba de múltiples rangos, aplicando el procedimiento de comparación múltiple de Duncan se determinó si existen diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de un mismo factor para los cuatro factores evaluados (Tabla 28).

Tabla 28. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de glucoaubrietin en harina de mashua, variedad morada.

Factor	Nivel	Media
Tratamiento Previo	Soleado	46.6519 ^a
	Sin Soleado	63.3752 ^b
Tratamiento de Blanqueado	Microondas	28.3271 ^a
	Ebullición	81.7000 ^b
Estado del Tubérculo	Entero	59.5584 ^b
	Cortado	50.4687 ^a
Temperatura de Secado	60 °C	54.0741 ^a
	80 °C	55.9530 ^a

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia.

* La medias de los niveles para un mismo bloque (factor) que compartan el mismo superíndice no son estadísticamente diferentes ($P > 0.05$).

En términos generales, existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos previos, los estados del tubérculo al momento del blanqueado y los tratamientos de blanqueado ($P > 0.05$), siendo los tubérculos sin soleado, los tubérculos enteros y aquellos blanqueados por ebullición, respectivamente, los tratamientos donde se registran los mayores contenidos de glucoaubrietin, lo cual puede apreciarse también en los gráficos de dispersión y gráficos de medias mostrados en el Anexo 14, Figura 32A, 32B y 32C.

Sin embargo, respecto a la temperatura de secado, no existe diferencia estadísticamente significativa entre el secado a 60°C y el secado a 80°C ($P > 0.05$), lo cual se confirma con los gráficos de dispersión y gráficos de medias mostrados en el Anexo 14, Figura 32D.

Las interacciones entre los factores pueden observarse gráficamente en el Anexo 15, Figura 37.

Dado que en el análisis anterior la contribución de cada factor se midió desestimando los efectos de los demás factores, fue necesario considerar las diferencias entre todos y cada uno de los tratamientos. La Tabla 29 muestra el contenido de glucoaubrietin en harina de mashua, variedad morada, luego de que esta fuera sometida a los 20 diferentes tratamientos de blanqueado y secado.

Para tubérculos frescos, es decir, sin soleado, el blanqueado por microondas generó reducciones significativas en el contenido de glucoaubrietin desde 31.37 hasta 90.44% ($P > 0.05$), mientras que el blanqueado por ebullición generó incrementos no significativos de 2.44% ($P > 0.05$) y reducciones significativas de hasta 37.98% ($P > 0.05$), según el tratamiento.

Para tubérculos soleados, el blanqueado por microondas generó reducciones significativas en el contenido de glucoaubrietin desde 49.03 hasta 83.98% ($P > 0.05$), mientras que el blanqueado por ebullición generó desde reducciones no significativas de 6.68% ($P > 0.05$) hasta reducciones significativas de hasta 31.89% ($P > 0.05$), según el tratamiento.

Tabla 29. Contenido de Glucoaubrietin ($\mu\text{mol/gBS}$) para *Tropaeolum Tuberosum*, Variedad Morada.

		Inicial		87.21 ± 0.97 ^{EFG}	87.21 ± 0.97 ^D
		Blanqueado		Secado ($^{\circ}\text{C}$)	
Tratamiento	Tratamiento de Blanqueado	Estado del Tubérculo	60	80	
			Previo:	Ebullición	Entero
Soleado	Microondas	Cortado	73.43 ± 1.64 ^{DEa}	60.40 ± 2.75 ^{Ba}	
		Entero	44.44 ± 4.27 ^{Cb}	15.49 ± 2.00 ^{Aa}	
		Cortado	24.70 ± 1.14 ^{Aba}	13.97 ± 3.93 ^{Aa}	
	Sin Blanqueado		90.45 ± 0.27 ^{FGHb}	65.18 ± 4.97 ^{Ba}	
		Inicial		105.49 ± 1.66 ^{HI}	105.49 ± 1.66 ^E
		Blanqueado		Secado ($^{\circ}\text{C}$)	
Tratamiento	Tratamiento de Blanqueado	Estado del Tubérculo	60	80	
			Previo: Sin	Ebullición	Entero
Soleado	Microondas	Cortado	100.35 ± 1.62 ^{GHIa}	108.06 ± 9.45 ^{Ea}	
		Entero	32.78 ± 2.21 ^{BCa}	72.39 ± 7.05 ^{BCb}	
		Cortado	10.08 ± 1.43 ^{Aa}	12.77 ± 2.36 ^{Aa}	
	Sin Blanqueado		110.16 ± 11.84 ^{lb}	82.45 ± 5.14 ^{CDa}	

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia.

*Se reportan los resultados como las medias \pm el error estándar de la media (n=2).

**Las medias dentro de una misma columna con el mismo superíndice en letra mayúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) cuando se someten a la prueba de Duncan, las medias dentro de la misma fila con el mismo superíndice en letra minúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) cuando se someten a la prueba de Duncan.

El secado a 60°C generó desde incrementos no significativos de 4.42% ($P>0.05$) hasta reducciones significativas de hasta 90.44% ($P>0.05$), mientras que el secado a 80°C generó desde incrementos no significativos de 2.44% ($P>0.05$) hasta reducciones significativas de hasta 87.90% ($P>0.05$), según el tratamiento.

Los mayores valores de contenido de glucoaubrietin fueron obtenidos para tubérculos sin soleado, sin blanqueado y secados directamente a 60°C (110.16 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), y para tubérculos sin soleado, cortados, blanqueados por ebullición y secados a 80°C (108.06 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), siendo estos valores estadísticamente iguales ($P>0.05$) al valor de contenido de glucoaubrietin en mashua fresca sin procesamiento.

Los menores valores de contenido de glucoaubrietin fueron obtenidos para tubérculos sin soleado, cortados, blanqueados por microondas y secados a 60°C (10.08 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS) y a 80°C (12.77 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), con una disminución significativa del 90.44 y 87.89%, respectivamente ($P>0.05$).

4.1.4. Influencia del Procesamiento en la Actividad Mirosinasa

4.1.4.1 Variedad Amarilla

Se evaluó el efecto del blanqueado (inactivación enzimática) por medio de tres factores: el tratamiento de blanqueado (ebullición y microondas), el estado del tubérculo al momento del blanqueado (entero y cortado en rodajas) y el tiempo de blanqueado (3, 4.5 y 6 minutos).

La actividad mirosinasa en mashua amarilla procesada fue significativamente influenciada por el tratamiento de blanqueado ($P>0.05$), el tiempo de blanqueado

($P > 0.05$) y la interacción entre estos dos factores ($P > 0.05$); mas no por el estado del tubérculo al momento del blanqueado (Anexo 16, Tabla 50).

La actividad mirosinasa residual luego de cada tratamiento, se muestra en la Tabla 30.

Tabla 30. Influencia del procesamiento en la actividad mirosinasa (nmol/gBS.min) para *Tropaeolum tuberosum*, variedad amarilla.

Tratamiento	Blanqueado		Actividad Mirosinasa (nmol/gBS.min)
	Estado del Tubérculo	Tiempo (min)	
Ebullición	Entero	3.0	5563.69 ^C
		4.5	2766.40 ^B
		6.0	387.10 ^A
	Cortado	3.0	4853.95 ^C
		4.5	2012.31 ^B
		6.0	0.00 ^A
Microondas	Entero	3.0	566.38 ^A
		4.5	0.00 ^A
		6.0	0.00 ^A
	Cortado	3.0	440.13 ^A
		4.5	0.00 ^A
		6.0	0.00 ^A
Inicial			11263.80 ^D

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia

*Las medias dentro de una misma columna con el mismo superíndice en letra mayúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) cuando se someten a la prueba de Duncan ($n=2$).

La mirosinasa en mashua blanqueada por ebullición mostró, para tubérculos enteros, una disminución inicial significativa de 50.6% en su actividad después de 3 minutos de blanqueado y una reducción abrupta de 96.6% después de 6

minutos, comparada con mashua fresca, sin blanqueado ($P>0.05$); para tubérculos cortados, se observó una disminución inicial significativa de 56.9% después de 3 minutos y pérdida total de actividad luego de 6 minutos de blanqueado ($P>0.05$) (Figura 9).

En el caso de mashua blanqueada por microondas, tanto para tubérculos enteros como para tubérculos cortados, la mirosinasa mostró una reducción abrupta de 95.0 y 96.1% ($P>0.05$), respectivamente, luego de 3 minutos y pérdida total de actividad para los tiempos subsecuentes hasta 6 minutos (Figura 9).

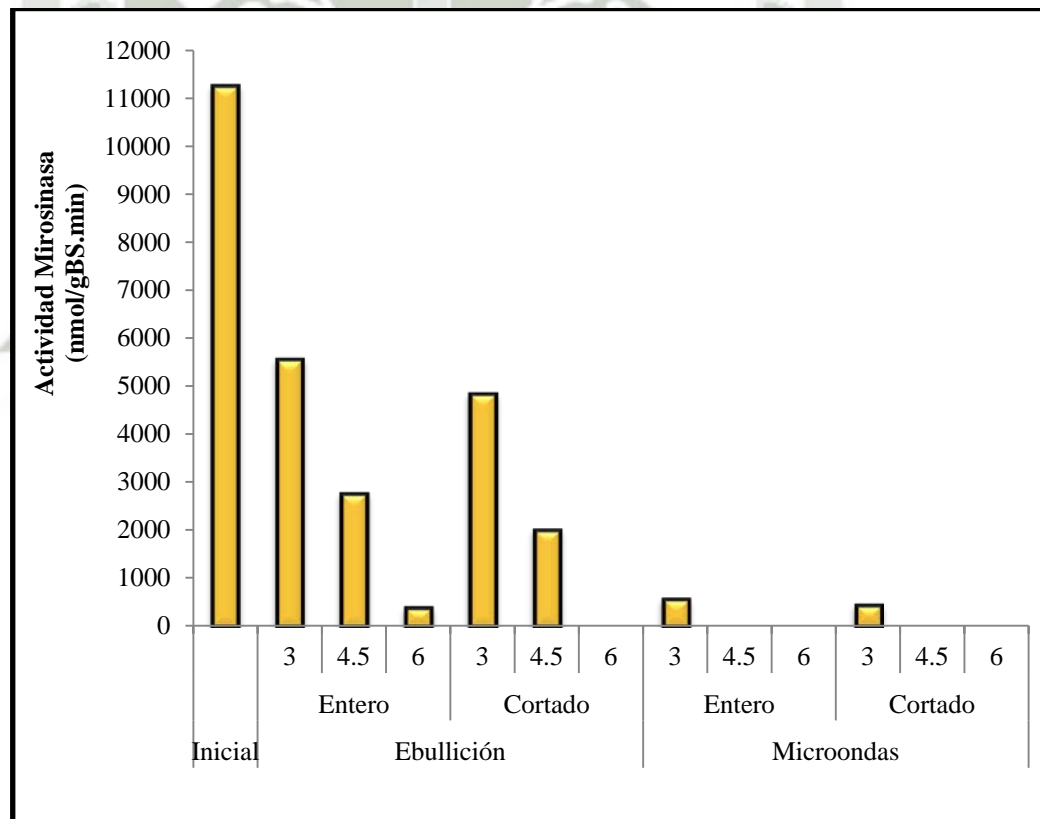


Figura 9. Actividad mirosinasa promedio, expresada como nmol/gBS.min en mashua amarilla para cada etapa del procesamiento.

Fuente: Microsoft Office Excel 2010

4.1.4.2 Variedad Morada

Se evaluó el efecto del blanqueado (inactivación enzimática) por medio de tres factores: el tratamiento previo (tubérculos soleados y tubérculos sin solear), el tratamiento de blanqueado (ebullición y microondas) y el estado del tubérculo al momento del blanqueado (entero y cortado en rodajas).

La actividad mirosinasa en mashua morada procesada fue significativamente influenciada por el tratamiento previo ($P>0.05$), el tratamiento de blanqueado ($P>0.05$), el estado del tubérculo al momento del blanqueado ($P>0.05$) y la interacción entre estos tres factores ($P>0.05$) (Anexo 19, Tabla 51).

Tabla 31. Influencia del procesamiento en la actividad mirosinasa (nmol/gBS.min) para *Tropaeolum tuberosum*, variedad morada.

Tratamiento Previo	Blanqueado		Actividad Mirosinasa (nmol/gBS.min)
	Tratamiento de Blanqueado	Estado del Tubérculo	
Soleado	Ebullición	Entero	666.26 ^{AB}
		Cortado	0.00 ^A
	Microondas	Entero	0.00 ^A
		Cortado	0.00 ^A
Sin Soleado	Ebullición	Entero	1527.05 ^B
		Cortado	1159.43 ^B
	Microondas	Entero	0.00 ^A
		Cortado	0.00 ^A
INICIAL			12719.80 ^C

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia

*Las medias dentro de una misma columna con el mismo superíndice en letra mayúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p>0.05$) cuando se someten a la prueba de Duncan ($n=2$).

La actividad mirosinasa residual luego de cada tratamiento, se muestra en la Tabla 31.

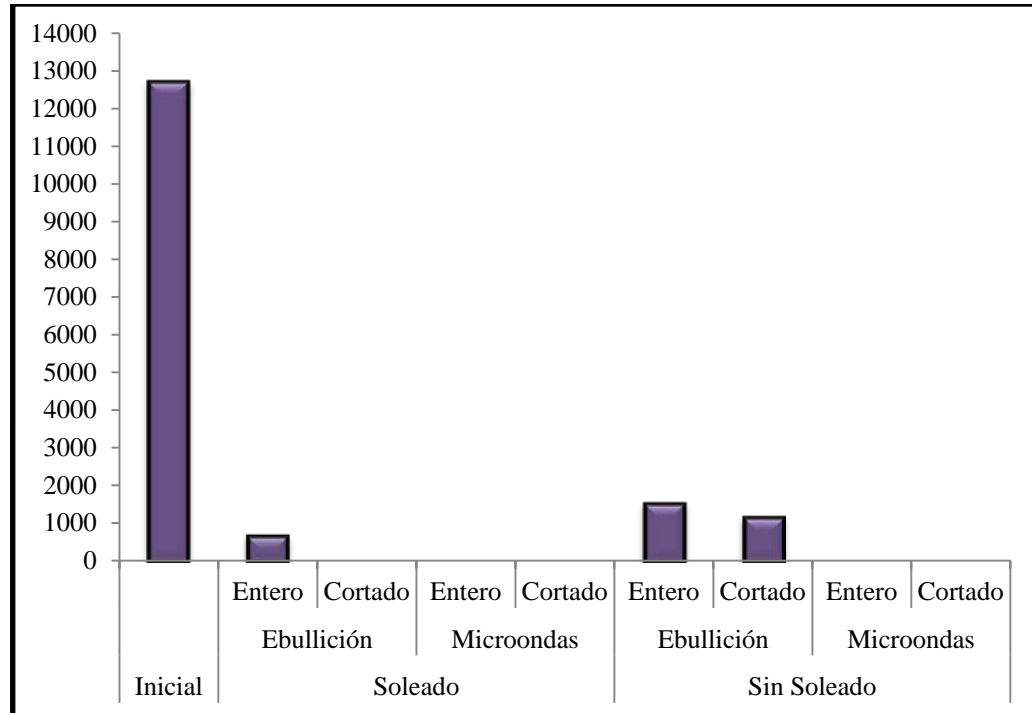


Figura 10. Actividad mirosinasa promedio, expresada como nmol/gBS.min en mashua morada para cada etapa del procesamiento.

Fuente: Microsoft Office Excel 2010

La mirosinasa en mashua blanqueada por ebullición mostró, para tubérculos soleados, una disminución significativa abrupta de 94.8% en su actividad cuando el tubérculo ingresó entero al tratamiento de blanqueado, y una pérdida total de actividad cuando el tubérculo ingresó cortado en rodajas, comparada con mashua fresca, sin blanqueado ($P > 0.05$); para tubérculos sin solear, se observó también disminuciones significativas abruptas de 88 y 90.9% tanto para tubérculos enteros como cortados en rodajas, respectivamente ($P > 0.05$) (Figura 10).

En el caso de mashua blanqueada por microondas, tanto para tubérculos enteros como para tubérculos cortados, soleados o sin solear, la mirosinasa mostró una pérdida total de su actividad catalítica (Figura 9).

4.1.5. Comparación entre variedades

4.1.5.1 Contenido de glucosinatos

Se encontró diferencias significativas ($p > 0.05$) entre la variedad amarilla y la variedad morada en el contenido de glucosinatos totales y en el contenido de glucosinatos individuales, a excepción del 4-hidroxi glucobrassicin, que no presentó diferencias estadísticas significativas entre ambas variedades, en todos los demás casos, la variedad morada presentó concentraciones de glucosinatos mayores a las encontradas en la variedad amarilla (Tabla 32).

Tabla 32. Contenido de glucosinatos en mashua fresca para las dos variedades estudiadas.

Nombre Trivial	Naturaleza	Amarilla ($\mu\text{mol/gBS}$)	Morada ($\mu\text{mol/gBS}$)
Glucoalyssin	Alifática	0.95 ± 0.22^a	4.60 ± 0.17^b
Glucosinalbin	Aromática	0.06 ± 0.00^a	0.15 ± 0.01^b
4-Hydroxyglucobrassicin	Indólica	0.11 ± 0.00^a	0.13 ± 0.01^a
Glucotropaeolin	Aromática	0.04 ± 0.00^a	0.24 ± 0.03^b
Glucoaubrietin	Aromática	73.07 ± 2.44^a	105.49 ± 1.66^b
TOTAL		74.22 ± 2.24^a	110.60 ± 1.87^b

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia

*Las medias dentro de una misma fila con el mismo superíndice en letra minúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) cuando se someten a la prueba de Duncan ($n=4$).

Los tratamientos que retuvieron las mayores y las menores concentraciones de contenido de glucosinolatos totales e individuales, para *Tropaeolum tuberosum* variedad amarilla y variedad morada, se muestran en la Tabla 33.

Tabla 33. Tratamientos que alcanzaron las mayores y menores concentraciones de glucosinolatos totales e individuales para las dos variedades estudiadas.

	Mayores concentraciones		Menores concentraciones	
	V. Amarilla	V. Morada	V. Amarilla	V. Morada
GSL totales	BC6' _80	F_60	MC6' _60	FMC_60
	BC4.5' _80	FBC_80	MC6' _80	FMC_80
Glucoalyssin	BC6' _80	SBE_60	MC6' _60	FMC_60
	BC4.5' _80	F_60	MC6' _80	FMC_80
Glucosinalbin	BC4.5' _80	F_60	MC6' _60	FMC_60
	BC6' _80	SBE_60	MC6' _80	FMC_80
4-OHGlucobrassicin	BC6' _80	F_60	MC6' _60	FMC_60
	BC4.5' _80	FBE_80	ME3' _80	FMC_80
Glucotropaeolin	BC6' _80	---	Todo M	---
	BC4.5' _80			
Glucoaubrietin	BC6' _80	F_60	MC6' _60	FMC_60
	BC4.5' _80	FBC_80	MC6' _80	FMC_80

Fuente: Registro de Investigación

*Códigos: B: Ebullición; M: Microondas; C: Tubérculos cortados; E: Tubérculos enteros; 4.5' y 6': tiempo de blanqueado en minutos; 60 y 80: temperatura de secado en °C; F: tubérculos frescos, sin soleado.

Tanto glucosinolatos totales como individuales coincidieron en que la mayor retención, e incluso incremento significativo ($P > 0.05$) de la concentración se logró con tubérculos cortados, blanqueados por ebullición durante 6 minutos y secados a 80°C en el caso de la variedad amarilla; y para tubérculos sin soleado, sin blanqueado y secados a 60°C en el caso de la variedad morada. En la contraparte, las mayores pérdidas de glucosinolatos fueron registradas para

tubérculos cortados, blanqueados por microondas durante 6 minutos y secados a 60°C en el caso de la variedad amarilla; y para tubérculos sin soleado, cortados, blanqueados por microondas y secados a 60°C.

Las mayores tasas de pérdida de glucosinolatos a lo largo de los diferentes tratamientos estudiados fueron registradas para glucotropaeolin (bencil glucosinolato) y glucoalyssin (metilsulfinilpentil glucosinolato).

4.1.5.2 Actividad Mirosinasa

No se encontró diferencias significativas ($p > 0.05$) entre la variedad amarilla y la variedad morada en estado fresco, sin procesamiento, en lo que respecta a la actividad mirosinasa (Tabla 34).

Tabla 34. Actividad mirosinasa inicial en mashua fresca para las dos variedades estudiadas.

Variedad	Actividad Mirosinasa (nmol/gBS.min)
Amarilla	11263.8 ^a
Morada	12719.8 ^a

Fuente: Statgraphics Centurion XV, Edición Propia

*Las medias dentro de una misma columna con el mismo superíndice en letra minúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) cuando se someten a la prueba de Duncan.

4.2 DISCUSION

4.2.1. Identificación y Cuantificación de Glucosinolatos en Mashua Fresca, Sin Procesamiento

4.2.1.1 Identificación de Glucosinolatos

Los desulfoglucosinolatos fueron identificados por comparación de tiempos de retención y características de los espectros UV de desulfoglucosinolatos de estándares puros de sinigrin y glucotropaeolin, patrones de glucosinolatos de colza BCR-367 (Lisinger *et al.*, 2001) y extractos purificados de brócoli (*Brassica Oleracea cv. Sebastian*), maca (*Lepidium meyenii* Walp.) y mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón).

Los desulfoglucosinolatos fueron identificados por comparación de tiempos de retención y características de los espectros UV de desulfoglucosinolatos de extractos purificados de maca (*Lepidium meyenii* Walp.) (Yábar *et al.*, 2011), la cual comparte 4 de los 5 glucosinolatos identificados en este trabajo (glucoalyssin, glucosinalbin, 4-hydroxylucobrassicin, glucotropaeolin) y de mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón) (Campos, 2011) con la cuál coincide en los 5 glucosinolatos identificados. Cabe mencionar que los análisis realizados tanto por Yábar *et al.* (2011) como por Campos (2011) se llevaron a cabo en condiciones idénticas y en el mismo laboratorio en el que se desarrolló la presente investigación.

A. Identificación de Glucoalyssin

Glucoalyssin fue previamente reportado en *Tropaeolum tuberosum* por Campos (2011). La presencia de Glucoalyssin fue confirmada por comparación de tiempos de retención (Anexo 7) y espectros UV (Anexo 8) con investigaciones previas en brócoli (Cieslik *et al.*, 2007), maca (Yábar *et*

al., 2011) y en mashua (Campos, 2011) que comparten el mismo glucosinolato alifático, observando similitud en la migración y en los tiempos de retención del perfil cromatográfico, y espectros de absorción idénticos con una cresta de máxima absorción a 226.4 nm y otra de menor absorción a 277.2 nm.

B. Identificación de Glucosinalbin

Glucosinalbin fue previamente reportado por Fahey *et al.*, (2001) en la familia Tropaeolaceae, y específicamente en *Tropaeolum tuberosum* por Ortega *et al.* (2006). La presencia de Glucosinalbin fue confirmada por comparación de tiempos de retención (Anexo 7) y espectros UV (Anexo 8) con investigaciones previas en maca (Yábar *et al.*, 2011) y en mashua (Campos, 2011) que comparten el mismo glucosinolato aromático, observando similitud en la migración y en los tiempos de retención del perfil cromatográfico, y espectros de absorción similares con una cresta de máxima absorción entre 274 y 280 nm.

C. Identificación de 4-Hydroxyglucobrassicin

4-Hydroxyglucobrassicin fue previamente reportado en *Tropaeolum tuberosum* por Campos (2011). La presencia de 4-Hydroxyglucobrassicin fue confirmada usando los patrones de glucosinolatos típicos en muestras de colza. El material certificado de referencia utilizado fue colza BCR-367R (Lisinger *et al.*, 2001). También se realizó la comparación de los tiempos de retención (Anexo 7) y espectros UV (Anexo 8) con investigaciones previas en maca (Yábar *et al.*, 2011) y en mashua (Campos, 2011) que comparten el mismo glucosinolato indólico, observando similitud en la migración y en los tiempos de retención del perfil cromatográfico, y espectros de absorción idénticos con una cresta de máxima absorción a 281.9 nm.

D. Identificación de Glucotropaeolin

Glucotropaeolin fue previamente reportado en mashua por Johns (1981), Fahey *et al.* (2001) y Ortega *et al.* (2006). La presencia de Glucotropaeolin fue confirmada utilizando un estándar externo de Glucotropaeolin puro (Merck Co.).

E. Identificación de Glucoaubrietin

Glucoaubrietin es el glucosinolato más importante y abundante encontrado en mashua. Este compuesto fue previamente reportado por Fahey *et al.*, (2001) en la familia Tropaeolaceae y más específicamente en *Tropaeolum tuberosum* por Johns (1981), Johns & Towers (1981), Johns *et al.* (1982) y Ramallo *et al.* (2004). La presencia de Glucoaubrietin fue confirmada por comparación con los resultados obtenidos por Ramallo *et al.* (2004) (Anexo 9) quien encontró perfiles de HPLC similares para 6 variedades diferentes de mashua (3 amarillas, 2 moradas y 1 anaranjada) e identificó mediante Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas los productos de descomposición del glucoaubrietin (4-metoxibencil isotiocianato y trazas de 4-metoxibenceno acetonitrilo) confirmando la presencia del 4-metoxibencil glucosinolato, (glucoaubrietin). Tanto en los ensayos de Ramallo *et al.* (2004) como en la presente investigación, este glucosinolato aparece pasados los 20 minutos de tiempo de retención, posee la misma migración que el glucosinolato equivalente encontrado en maca por Piacente *et al.* (2002) y coincide con el espectro de absorción para glucoaubrietin encontrado en mashua por Campos (2011), (Anexo 8).

Kjær *et al.* (1978) y Fahey *et al.* (2001) reportaron ocho glucosinolatos para la familia Tropaeolaceae: etil glucosinolato (glucolepidiin), 1-metiletil glucosinolato (glucoputranjivin), 1-metilpropil glucosinolato (glucocochlearin),

2-metilpropil glucosinolato (identificación tentativa), 2-hidroxi-2-metilpropil glucosinolato (glucoconringiin), bencil glucosinolato (glucotropaeolin), 4-hidroxibencil glucosinolato (glucosinalbin) y 4-metoxibencil glucosinolato (glucoaubrietin); 3 de los cuales se reportaron como presentes en *Tropaeolum tuberosum*: glucotropaeolin, glucoputranjivin y glucocochlearin.

Ramallo *et al.* (2004) estudió el contenido de glucosinolatos en 6 variedades de *Tropaeolum tuberosum* (3 amarillas, 2 moradas y 1 anaranjada) procedentes de Bolivia e identificó y cuantificó mediante HPLC la presencia de p-metoxibencil glucosinolato (glucoaubrietin) como único glucosinolato presente en mashua.

Ortega *et al.* (2006) identificó y cuantificó mediante HPLC los glucosinolatos presentes en 442 accesiones peruanas de mashua cultivada y 39 accesiones de sus parientes silvestres y reportó la presencia de tres glucosinolatos aromáticos: 4-hidroxibencil glucosinolato (glucosinalbin), bencil glucosinolato (glucotropaeolin) y m-metoxibencil glucosinolato (glucolimnathin), distribuidos en 6 fenotipos de agrupación diferentes.

Arias (2011) analizó 65 accesiones de mashua procedentes de Colombia mediante cromatografía en capa fina, análisis espectrofotométrico y HPLC e identificó tentativamente dos glucosinolatos: p-hidroxibencilglucosinolato (glucosinalbin) y 2-feniletil glucosinolato (gluconasturtiin).

Valer (2001) identificó y cuantificó cuatro glucosinolatos en diferentes órganos (hojas, tallos, tubérculos y raíces) de mashua, variedad morada: 4-hidroxibencil glucosinolato (glucosinalbin), metoxi-hidroxibencil glucosinolato (identificación tentativa), bencil glucosinolato (glucotropaeolin) y 4-metoxibencil glucosinolato (glucoaubrietin).

Campos (2011) estudió la optimización de la extracción de glucosinolatos a partir de harina de mashua, variedad amarilla, e identificó y cuantificó mediante HPLC los mismos cinco glucosinolatos encontrados en la presente investigación: 5-metilsulfinilpentil glucosinolato (glucoalyssin), 4-hidroxibencil glucosinolato (glucosinalbin), 4-hidroxi-3-indolilmetil glucosinolato (4-hydroxyglucobrassicin), bencil glucosinolato (glucotropaeolin) y 4-metoxibencil glucosinolato (glucoaubrietin).

Finalmente se deduce que los glucosinolatos de naturaleza aromática son los que se encuentran con mayor frecuencia en mashua, sin embargo, la presencia o ausencia de determinado glucosinolato va a depender de los genes y el ambiente de la variedad con la que se quiera trabajar, es decir, de la matriz vegetal, las condiciones agronómicas, el momento de cosecha, el manejo post cosecha, entre muchos otros factores influyentes.

4.2.1.1 Cuantificación de Glucosinolatos

Comparando los resultados previos reportados para la variedad amarilla, Campos (2011), al estudiar el contenido de glucosinolatos en mashua comercial procedente de Huancayo, reportó 31.83, 31.36 y 31.32 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ BS de contenido de glucosinolatos totales, glucosinolatos aromáticos y glucoaubrietin, respectivamente, valores por debajo de la mitad de los valores reportados en la presente investigación para esta variedad. A su vez, reportó 0.4 y 0.03 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ BS de contenido de glucosinolatos alifáticos e indólicos, respectivamente, valores por debajo de la cuarta parte de los reportados en este estudio. Es probable que esto se deba al tipo de solvente empleado para la extracción de los glucosinolatos, puesto que Campos (2011) utiliza etanol, mientras que la mayoría de extracciones (incluyendo este trabajo) utilizan, por recomendación de la ISO 9167-1 (1999), metanol.

Comparando los resultados previos para la variedad morada, Valer (2001) al estudiar el contenido de glucosinolatos en la accesión ARB 5240 de mashua (variedad morada), pariente cercano de la accesión DP 0224 (representante del ecotipo morado en la presente investigación), reportó 121.11 y 117.1 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS de contenido de glucosinolatos totales (todos ellos de naturaleza aromática) y glucoaubrietin, respectivamente, valores muy similares a los reportados en este trabajo.

Al comparar las concentraciones obtenidas para las dos variedades estudiadas, ambas de origen nacional, con resultados previos reportados en mashua cultivada en otros países, podemos citar a Ramallo *et al.* (2004), quien analizó seis variedades de mashua (3 amarillas, 2 moradas y una anaranjada), procedentes de la estación experimental del PROINPA, Bolivia y reportó 36.5, 53.6 y 53.7 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS para las 3 variedades amarillas, 83.7 y 90 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS para las 2 moradas y 84.1 para la anaranjada; concentraciones que resultan ser menores a las reportadas para las mismas variedades (amarilla y morada) en la presente investigación. Es probable que esto se deba parcialmente al uso de agua hirviendo en lugar de metanol como solvente de extracción, a las condiciones agronómicas y/o a otros factores externos. Arias (2011) a su vez, realizó un análisis comparativo del contenido de glucosinolatos totales de 65 accesiones de mashua pertenecientes a la Colección Regional de la Universidad Nacional de Colombia (incluidas las variedades amarilla y morada) y encontró, que el contenido de glucosinolatos totales presentes en accesiones colombianas de mashua varía entre 1.20 y 30.40 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS, concentraciones que se encuentran muy por debajo de los resultados encontrados en la presente investigación, lo cual podría deberse al método de cuantificación utilizado (método del ferricianuro) que aporta menor confiabilidad y precisión que el método del HPLC utilizado en este trabajo.

Finalmente, dado que existen dos subespecies en *T. tuberosum*: mashua cultivada (*Tropaeolum tuberosum* spp. *tuberosum*) y la forma silvestre (*Tropaeolum tuberosum* spp. *silvestre*), cabe mencionar que pese a que Ortega *et al.* (2006), quien analizó 442 accesiones de mashua cultivada y 39 accesiones de sus parientes silvestres, de la región del Cuzco, reportó contenidos de glucosinolatos totales de entre 0.27 a 50.74 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS, donde la mayoría de accesiones con bajo contenido de GSL pertenecían a la población cultivada (<5.00 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), y las de más alto contenido, a la población silvestre (>25 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS); los resultados reportados en esta investigación contradicen y superan ampliamente dichas concentraciones, tanto para mashua cultivada (utilizada en este trabajo) como para sus parientes silvestres.

Por lo tanto, al comparar los resultados reportados en esta investigación con investigaciones previas sobre el contenido de glucosinolatos en mashua, las concentraciones encontradas en este trabajo superan el contenido reportado en trabajos previos, a excepción de Valer (2001) quien reporta concentraciones similares para la variedad morada.

Las variaciones en la cantidad y el perfil de glucosinolatos son atribuidas a factores genéticos y ambientales, edad de la planta, órgano de la planta del cual se realiza la extracción, ataques predadores, temperatura, estrés hídrico, tipo de suelo y factores agronómicos (Velazco *et al.*, 2007). Las prácticas de cultivo en este trabajo corresponden a prácticas culturales de las personas de las comunidades locales, para el caso de la variedad amarilla y condiciones controladas por la estación experimental del Centro Internacional de la Papa (CIP) para la variedad morada.

Este análisis no solo mostró un mayor nivel de contenido de glucosinolatos en comparación con otros estudios en mashua, sino también con otros vegetales comestibles poseedores de glucosinolatos en su composición. Por ejemplo, las

concentraciones de glucosinolatos totales reportadas en coliflor (*Brassica oleracea var botrytis*), brócoli (*B oleracea var itálica*), coles de Bruselas (*B oleracea var gemmifera*) y rábano (*Raphanus sativus*) son 1.8, 16.7, 34.9 y 7.0 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS respectivamente (Mithen *et al.*, 2000). Estos vegetales contienen diferentes tipos de glucosinolatos (alifáticos, aromáticos, indólicos), pero no el que se encuentra presente en mashua (glucoaubrietin).

Según Fahey *et al.* (2001), sólo se ha reportado la existencia de dos especies que no pertenecen a la familia Tropaeolaceae que producen glucoaubrietin: *Lepidium bonariense* y *Aubrietia delwidea* (ambos de la familia Brassicaceae).

Es así que los resultados de esta investigación demuestran que la mashua es una fuente importante de glucosinolatos aromáticos, muy superior a casi todas o todas las demás especies vegetales comestibles. Esto resulta sumamente importante debido al alto valor medicinal y quimiopreventivo de esta especie.

Existen investigaciones que han demostrado que los glucosinolatos y sus productos de degradación (isotiocianatos) juegan un importante rol en la prevención de diversos tipos de cáncer (Kristal & Lampe, 2002; Lampe & Peterson, 2002; Zhang, 2004; Zhang *et al.*, 2005; Finley, 2005; Higdon *et al.*, 2007), es así que varios estudios (resumidos por Mithen *et al.*, 2000 y Fahey *et al.*, 2001) han reportado que el consumo de alimentos que contengan glucosinolatos en su composición pueden reducir el riesgo de, por ejemplo, cáncer rectal y cáncer de colon.

El bencil glucosinolato posee diversos atributos de protección contra el cáncer (Wattenberg, 1977; Wattenberg, 1981; Tawfiq *et al.*, 1995; Fahey *et al.*, 1997) y estudios específicos demostraron que la actividad del carcinógeno mamario dimetilbenz(a)antraceno (DMBA) fue inhibida por el bencil isotiocianato (producto de degradación del bencil glucosinolato: GSL aromático presente en mashua) (Wattenberg, 1977 y 1981). Dado que el glucoaubrietin (p-metoxibencil glucosinolato) está estructuralmente relacionado al bencil

glucosinolato, podemos especular que también podría poseer actividad anticarcinogénica.

Hablando específicamente de mashua, en Perú, se cree que la variedad morada tiene propiedades contra el cáncer (conocimiento popular) y de hecho, Noratto *et al.* (2004), al estudiar el potencial anticancerígeno de la mashua, reportó que los extractos de mashua suprimen la proliferación de células tumorales mostrando que extractos ricos en isotiocianatos poseen actividad anticancerígena sobre células experimentales de colon y próstata. Adicionalmente, la extracción de fracciones químicas bioactivas de mashua con actividad anticancerígena y los ensayos clínicos con animales transgénicos que expresaban cáncer de colon, de próstata y melanoma, demostraron que el extracto combinado con ginseng, lovastatin y γ -tocotrienol fue el más efectivo; efecto atribuido a los glucosinolatos de la mashua y sus correspondientes productos de degradación, es decir, los isotiocianatos (Roca *et al.*, 2004); demostrando de esta manera la enorme importancia y potencial preventivo de la presencia de glucosinolatos en la mashua.

4.2.2. Influencia del Procesamiento en el Contenido de Glucosinolatos

El presente estudio investigó los efectos del procesamiento de la mashua en la retención de glucosinolatos totales e individuales.

Diferentes procesos pueden tener lugar durante el blanqueado y el secado que determinen el destino de los GSL, al respecto, es esencial identificar la influencia de cada una de las etapas que el procesamiento conlleva con el fin de determinar las condiciones de tratamiento según el objetivo que se persiga y así, optimizar los procesos.

4.2.2.1 Efecto del Tratamiento de Blanqueado

Tanto para la variedad amarilla, como para la variedad morada, el blanqueado por ebullición permitió obtener los más altos niveles de GSL totales e individuales, mientras que el blanqueado por microondas presentó los menores e incluso, conllevó a la pérdida total de los glucosinolatos. Estos resultados se encuentran en concordancia con lo reportado por Vallejo *et al.* (2002), en cuya investigación se detectaron claras desventajas al utilizar el tratamiento por microondas debido a una elevada pérdida en el contenido total de glucosinolatos (74%), sin embargo, en su trabajo, la ebullición tuvo también una tasa de reducción significativa de 55% comparada con el vegetal fresco; esto debido fundamentalmente a la lixiviación de los GSL al medio, causa a la que también se le atribuye la pérdida de glucosinolatos en la presente investigación puesto que los glucosinolatos son solubles en agua, por lo tanto, una fracción de estos compuestos es lixiviada en el medio, debido a la lisis celular, cuando el método de blanqueado incluye el uso de agua, (Mullin & Sahasrabudhe, 1978; Gliszczynska-Swinglo *et al.*, 2006). Slominski & Campbell, (1989) reportaron en col, más de 50% de productos de degradación de los glucosinolatos en el medio. Adicionalmente puede hablarse de degradación térmica debido a la pérdida de GSL por volatilización, como fue previamente reportado por Sones *et al.* (1984).

Se ha reportado que la ebullición causa grandes pérdidas en el nivel de glucosinolatos (Ciska & Kozłowska, 2001; Oerlemans *et al.*, 2006; Volden *et al.*, 2008b), sin embargo este trabajo demuestra que si se controlan las condiciones de procesamiento y se consigue una buena interacción entre los factores, pueden obtenerse altos rendimientos o porcentajes de retención, contradiciendo lo reportado por estos autores. La hipótesis planteada en esta investigación consiste en que en la ebullición, el proceso de disrupción celular probablemente ocurre cuando las temperaturas resultan desfavorables para la

hidrólisis enzimática por la mirosinasa, especialmente a mayor tiempo de exposición, pues habrá poca probabilidad de que dicha hidrólisis tenga lugar.

El proceso de blanqueado por microondas presenta resultados controversiales en la literatura debido a las diferentes condiciones que son empleadas como el tiempo, la potencia y el volumen de agua añadido (López-Berenguer *et al.*, 2007). La alta tasa de evaporación del agua de lixiviación de los glucosinolatos del brócoli podría explicar las dramáticas pérdidas en el caso de Vallejo (2002), lo que concuerda con los hallazgos de este trabajo. Contrario a esto, Verkerk & Dekker (2004), reportaron un incremento del 78% en el contenido de glucosinolatos totales en col roja después de someterla al microondas asumiendo que el incremento se debía a una mejorada extractabilidad, sin embargo, ellos no utilizaron agua durante el blanqueamiento, lo cual podría explicar la ausencia de pérdidas en el contenido de GSL. Otros autores que también reportan mayores niveles de glucosinolatos en microondas, utilizan mínimas cantidades de agua, como por ejemplo Yuan *et al.* 2009, que usa 200 g de brocoli con 10 ml de agua, eliminando el riesgo de pérdida por lixiviación y Rungapamestry *et al.* 2006 que usa tan solo 16 ml de agua con 120 g de col, reduciendo muy ligeramente el contenido de glucosinolatos con este tratamiento. Es entonces que, bajo las condiciones empleadas para esta investigación (agua:tuberculos 2:1), la pérdida de glucosinolatos probablemente se deba a la lixiviación de estos en el agua de cocción, por lo tanto, es necesario evitar añadir agua en exceso durante el blanqueamiento.

Por otro lado, la velocidad y el grado de degradación de los glucosinolatos están relacionados a la tasa y el principio de transferencia del calor. En la cocción convencional por ebullición, el calentamiento empieza en la superficie del alimento y el calor es lentamente transferido al centro del alimento por conducción, contrariamente, en la cocción por microondas, las microondas penetran el centro del alimento por radiación y el calor generado dentro del

alimento es transferido hacia la superficie de este, por lo tanto, un incremento equivalente en temperatura ocurre más rápidamente en el blanqueado por microondas que por ebullición. (Knutson, Marth, & Wagner, 1987), ocasionando mayor degradación térmica y pérdida de glucosinolatos.

4.2.2.2 Efecto del Estado del Tubérculo

Tanto para la variedad amarilla como para la variedad morada, las mayores concentraciones de glucosinolatos totales se obtuvieron con tubérculos cortados.

Una práctica culinaria común es cortar los vegetales antes de cocinarlos, hecho que los expone a la acción de la enzima mirosinasa, quien degrada a los glucosinolatos generando disminución de su contenido. Song & Thornalley (2007), encontraron que sólo un cortado muy fino tuvo un marcado efecto en el contenido de glucosinolatos, más aún, un periodo significativo de post cortado mayor a una hora fue necesario para observar una disminución significativa en el contenido de glucosinolatos, aunque dicha disminución no superó el 10%; por el contrario, los vegetales trozados finamente y expuestos al ambiente por hasta 6 horas, registraron pérdidas de hasta 75% para coliflor, brócoli y coles de Bruselas y de 60% para col verde.

La pérdida de glucosinolatos por disrupción celular producida por el cortado con participación de mirosinasa, catalizadora de la hidrólisis, ya había sido sugerida previamente (Ludikhuyze *et al.*, 2000; Smith *et al.*, 2003).

Por otro lado, dado que los vegetales casi siempre se ven sometidos a trituración o cortado previo al procesamiento industrial, es importante mencionar que cuando la matriz vegetal es picada o rebanada (cortada), la hidrólisis de glucosinolatos es limitada, mientras que con la homogenización mecánica (trituración), el grado de degradación de glucosinolatos es mucho mayor. El

grado de daño físico y por lo tanto, la liberación de sus constituyentes puede explicar estas diferencias. En el caso del picado, la hidrólisis ocurrirá solo en la superficie cortada, un cálculo aproximado predice que esto representa solo un pequeño porcentaje de daño celular explicando posiblemente la limitada hidrólisis de los glucosinolatos; mientras que en el caso de la trituración u homogenización el daño se incrementa debido a la liberación de mayor cantidad de mirosinasa y glucosinolatos resultando en una mayor degradación. (Verkerk *et al.*, 2001)

En esta investigación, no sólo se registraron los mayores niveles de contenido de glucosinolatos con tubérculos cortados frente a tubérculos enteros, sino que también se encontraron incrementos significativos en la concentración de glucosinolatos con respecto a la concentración inicial en mashua fresca, sin procesamiento.

El estudio del cortado, como parte del procesamiento, y el consecuente incremento en el contenido de glucosinolatos fue reportado por primera vez por Verkerk *et al.* (2001), donde la actividad mirosinasa, al parecer fue contrarrestada por dicho incremento de glucosinolatos, lo cual lo atribuyeron a un mecanismo de incremento de glucosinolatos inducido por estrés, que juega un importante rol además del bien conocido mecanismo de degradación.

La mashua sufre diferentes tipos de estrés durante el manejo post cosecha, lo cual podría desencadenar un complejo metabolismo en los glucosinolatos, donde el cortado, por ejemplo, pone en contacto a la enzima degradadora, mirosinasa, con los glucosinolatos, lo cual podría causar hidrólisis de los glucosinolatos en un alto grado (Jia *et al.*, 2009), sin embargo, esto también podría inducir la biosíntesis de glucosinolatos durante los tratamientos de blanqueado y/o cocción (Yuan *et al.*, 2009).

La hipótesis de la acumulación de glucosinolatos inducida por el estrés es apoyada también, por Bennett & Wallsgrove (1994), quienes reportaron mayores

niveles de glucosinolatos, debido al impacto ambiental y al picado o cortado como parte del procesamiento.

Por su parte, Hansen *et al.* (1995) y Schreiner *et al.* (2007) propusieron que el incremento observado en la concentración de glucosinolatos podría estar asociada con niveles elevados de metabolitos (por ejemplo, aminoácidos, aminas) originados a partir de la descomposición de otros compuestos y disponibles para la biosíntesis de novo de glucosinolatos.

Y es entonces que, bajo condiciones de estrés bajo y daño celular menor, la síntesis de novo de GLS puede equilibrar o incluso superar las pérdidas debidas a su hidrólisis y dar como resultado un aumento de la concentración de GLS. (Doughty *et al.*, 1995; Takasugi *et al.*, 1991; Koritsas *et al.*, 1991).

El nivel de glucosinolatos en mashua es por lo tanto, el reflejo de dos procesos fisiológicos opuestos, la hidrólisis de los glucosinolatos por la mirosinasa y la inducción de biosíntesis de glucosinolatos en una forma aún desconocida.

Estos resultados, subrayan el hecho de que la acumulación de glucosinolatos inducida en plantas se deba a la síntesis de novo y no al transporte de GSL entre órganos, y que la biosíntesis se controla a nivel de la transcripción de genes. (Textor & Gershenzon, 2009).

La biosíntesis de novo, degradación y transporte de glucosinolatos pueden constituir así, un delicado diagrama dinámico de regulación, a través del cual se cumplen varias funciones fisiológicas (Chen & Andreasson, 2001).

4.2.2.3 Efecto del Tiempo de Blanqueado

En mashua amarilla, la única variedad con la que se ensayó el efecto de los tiempos de blanqueado, la prueba de Duncan mostró que la concentración de glucosinolatos totales e individuales, en el caso del blanqueado por microondas, fue significativamente reducida con todos los tiempos ensayados (3, 4.5 y 6

minutos); mientras que en el caso del blanqueado por ebullición, no hubo diferencia e incluso se percibieron incrementos significativos en el contenido de glucosinolatos totales de individuales luego de 4.5 y 6 minutos (tubérculos cortados).

Los resultados de esta investigación concuerdan con lo reportado por Vallejo *et al.* 2002, quien mostró una reducción de 74% en la concentración de glucosinolatos totales cuando los floretes de brócoli fueron sometidos a 5 minutos de microondas a 1000 W explicando esta reducción por un alto grado de pérdida de agua que contenía glucosinolatos lixiviados, sin embargo el grado de evaporación del agua no fue reportado. Contrariamente, Rungapamestry *et al.* 2006, mostró una reducción promedio en col de 32% de su peso fresco después de ser sometido al microondas por 7 minutos a 750 W de potencia; las bajas pérdidas reportadas en su trabajo pueden ser debidas parcialmente a un área de superficie más pequeña prevista para la penetración del calor hacia el interior de la porción de col comparada con los floretes de brócoli o las porciones de mashua y debido también a una menor potencia de salida (750 W) en el tratamiento por microondas. Contradictoriamente Verkerk & Dekker (2004), demostraron un incremento del 78% en el contenido de glucosinolatos totales después de someter col roja al blanqueado por microondas durante 4 minutos 48 segundos a 900 W debido probablemente a una mayor extractabilidad química de los glucosinolatos de col procesada comparada con col fresca, a pesar de que esto parece improbable dado que los glucosinolatos son fácilmente extraídos con metanol 70% (Quinsac, no publicado), además de la omisión en el uso de agua, eliminando el riesgo de lixiviación de los GSL al medio y considerando que la exposición al microondas redujo el contenido de humedad por evaporación, concentrando los GSL presentes. En cuanto a la ebullición, Vallejo *et al.* 2002 reportó reducciones de hasta 55% con 5 minutos de blanqueado.

La concentración de glucosinolatos totales e individuales es influenciada por el suministro de energía, el cual es una función del tiempo de blanqueado y la potencia de salida (Verkerk & Dekker, 2004). Las diferencias entre especies también pueden contribuir a estas variaciones debido a la estabilidad o inestabilidad de los glucosinolatos individuales presentes en cada especie (Vallejo *et al.*, 2002; Ciska & Kozłowska, 2001; Oerlemans *et al.*, 2006).

4.2.2.4 Efecto del Secado

La mashua es interesante como tubérculo fresco (crudo) para uso doméstico, pero también lo es como polvo deshidratado o harina debido a su alto contenido de compuestos biológicamente activos.

Mrkic *et al.* 2010, estudiaron el efecto de las condiciones de secado en el contenido de glucosinolatos en brócoli y encontraron que el blanqueado antes del secado causó una disminución significativa en el contenido de glucosinolatos, la cual disminuyó aún más con el proceso de secado, lo cual se encuentra en concordancia con los resultados hallados en este trabajo.

La degradación térmica de los glucosinolatos ocurre a temperaturas altas (Oerlemans *et al.*, 2006), sin embargo, en algunos casos como este, 80°C puede registrar mayor contenido o retención de glucosinolatos debido a que 80°C involucran mayor temperatura pero menor tiempo de exposición a este tratamiento térmico, mientras que 60°C involucran menor temperatura pero mayor tiempo de exposición para alcanzar el mismo nivel de humedad meta, alcanzado más rápidamente a 80°C, dicha exposición prolongada contribuiría también a la pérdida de contenido de glucosinolatos por degradación térmica de estos.

4.2.2.5 Efecto del soleado

Antes de consumir los tubérculos de mashua, estos son expuestos a la luz solar directa durante unos días para incrementar la dulzura y mejorar el sabor. Esta práctica aumenta el contenido de azúcar, probablemente mediante la inducción de la degradación del almidón, y puede reducir también la cantidad de isotiocianatos, productos de degradación de los glucosinolatos (Grau *et al.*, 2003; Dolores & Espín, 1997).

Una prolongada exposición a la luz del sol afecta sustancialmente la síntesis de fitoquímicos (Hertog *et al.*, 1992). Variables ambientales como la radiación ultravioleta afectan la composición química de las plantas mediante la inducción de respuestas al estrés (Antonious *et al.*, 1996; Reifenrath & Muller, 2007). Esta radiación ultravioleta es entonces, una causa de estrés abiótico (Smetanska, 2006). Se sabe también que el efecto perjudicial de la radiación UV incluye daño de tejidos estructurales, cambios en la citomorfología y cambios en la permeabilidad de células epidérmicas interiores (Lichtscheidl-Schultz, 1985).

En mashua morada, la única variedad con la que se ensayó el efecto del soleado, la prueba de Duncan mostró que la concentración de glucosinolatos totales fue significativamente reducida en tubérculos soleados frente a tubérculos sin solear, lo mismo fue observado en los glucosinolatos individuales 4-hydroxyglucobrassicin y glucoaubrietin; mientras que en glucoalyssin y glucosinalbin se observó lo opuesto, mayores concentraciones fueron encontradas en tubérculos soleados que en tubérculos sin solear; y glucotropaeolin registró pérdida total o ausencia, cualquiera sea el pretratamiento, es decir, ya sea para tubérculos soleados o para tubérculos sin solear.

Durante el procesamiento, muchos factores (cortado, técnica y tiempo de blanqueado, radiación, etc.) provocan daños en la planta dando lugar a la liberación de los glucosinolatos de las vacuolas y a la hidrólisis de estos por la mirosinasa de la planta (Verkerk & Dekker, 2004). Sin embargo, las vías por las que la radiación UV incrementa o disminuye el contenido de glucosinolatos aún no han sido definidas.

Una de las razones de las diferentes respuestas entre los grupos de GSL podría deberse a que las numerosas enzimas involucradas que intervienen en la síntesis de cada GSL se ven afectadas de manera diferente por la temperatura y la radiación (Verkerk *et al.*, 2009). Por ejemplo, las monooxigenasas que catalizan la conversión de metionina a glucosinolatos alifáticos son dependientes de la luz (Wallsgrave & Bennett, 1995) y las peroxidasas que catalizan la conversión de triptofano a glucosinolatos indólicos son dependientes de la temperatura (Starzynska *et al.*, 2003). Por lo tanto, la respuesta a la exposición UV es específica de la especie (Reifenrath & Muller, 2007).

4.2.2.6 Selección de los mejores tratamientos

El estudio del contenido de glucosinolatos a través de las diferentes etapas del procesamiento, como el soleado (que convierte los almidones en azúcares mejorando el sabor), el blanqueado (que mediante inactivación enzimática impide la degradación de los glucosinolatos) y el secado (que mediante la deshidratación incrementa el período de conservación y mejora la presentación del producto), entre otros factores estudiados en la presente investigación (estado del tubérculo y tiempo de blanqueado), permitirá una futura selección de variedades y tratamientos según el objetivo que se persiga.

Si el objetivo es un producto con alto contenido de glucosinolatos benéficos que podrían ser usados como fuente de alimentos funcionales o materia prima para

fármacos en medicina, los tratamientos de elección, que registraron los mayores valores de contenido de glucosinolatos totales en variedad amarilla fueron obtenidos para tubérculos cortados, blanqueados por ebullición durante seis minutos y secados a 80°C (93.48 $\mu\text{mol/g}$ BS) (con un incremento significativo del 26% ($P>0.05$) respecto al contenido de glucosinolatos totales de mashua fresca, sin procesamiento) y para tubérculos cortados, blanqueados por ebullición durante 4.5 minutos y secados a 80°C (72.70 $\mu\text{mol/g}$ BS) (estadísticamente igual ($P>0.05$) al contenido de glucosinolatos totales de mashua fresca, sin procesamiento). Los tratamientos que registraron los mayores valores de contenido de glucosinolatos totales en variedad morada fueron obtenidos para tubérculos sin soleado, sin blanqueado y secados directamente a 60°C (113.04 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), y para tubérculos sin soleado, cortados, blanqueados por ebullición y secados a 80°C (110.66 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), siendo estos valores estadísticamente iguales ($P>0.05$) al valor de contenido de glucosinolatos totales en mashua fresca sin procesamiento.

Si el objetivo es un producto con bajo contenido de glucosinolatos, eliminando así el amargor y la astringencia producidos por algunos de estos compuestos, para producir líneas con sabor mejorado que ayuden a incrementar la aceptación de este cultivo altamente proteico, los tratamientos de elección, que registraron los menores valores de contenido de glucosinolatos totales en variedad amarilla fueron obtenidos para tubérculos cortados, blanqueados por microondas durante 6 minutos y secados a 60°C (1.37 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS) y a 80°C (5.90 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), con disminuciones significativas del 98 y 92%, respectivamente ($P>0.05$). Los tratamientos que registraron los menores valores de contenido de glucosinolatos totales en variedad morada fueron obtenidos para tubérculos sin soleado, cortados, blanqueados por microondas y secados a 60°C (10.32 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS) y a 80°C (13.10 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), con una disminución significativa del 91 y 88%, respectivamente ($P>0.05$).

4.2.3. Influencia del procesamiento en la Actividad Mirosinasa

Dado que la presencia de la enzima mirosinasa es crucial en la producción de productos de degradación de los glucosinolatos importantes en el cuidado y protección de la salud, es importante evaluar la actividad hidrolítica remanente en mashua después del procesamiento.

La mayoría de las investigaciones se han enfocado en los efectos benéficos de los glucosinolatos y sus productos de degradación, para la salud; sin embargo, se tiene muy poca información sobre la estabilidad de la mirosinasa durante el procesamiento, sumado a que la mayor parte de investigaciones han sido realizadas en extractos crudos, mas no procesados. Pese a ello, en este trabajo se intentó determinar el efecto que cada etapa del procesamiento posee en la actividad mirosinasa de *Tropaeolum tuberosum*.

Los pocos trabajos previos que se tienen, han demostrado que el sistema glucosinolatos-mirosinasa es modificado durante el procesamiento debido a la inactivación parcial o total de la mirosinasa, a la degradación térmica de los glucosinolatos y sus productos de hidrólisis, pérdida de cofactores enzimáticos, lixiviación de glucosinolatos y sus derivados al medio de cocción y/o blanqueado, o la volatilización de los derivados (Dekker *et al.*, 2000). El grado de estas pérdidas probablemente dependa de la duración y el tipo de tratamiento térmico, el grado de desintegración del material y la misma matriz vegetal (Rosa & Heaney, 1993).

Tanto para la variedad amarilla como para la variedad morada, el blanqueado por microondas provocó la pérdida total de actividad mirosinasa, a excepción únicamente del blanqueado durante tres minutos, donde se registraron también disminuciones abruptas, conservando apenas el 4 y 5 % de actividad mirosinasa para tubérculos cortados y tubérculos enteros, respectivamente. Estos resultados

coinciden con lo reportado por Rungapamestry *et al.*, (2006), en cuya investigación, la actividad mirosinasa se perdió por completo después de dos minutos de microondas. El blanqueado por microondas puede generar rápidos incrementos de temperatura dentro de la matriz vegetal (Sale, 1976). Se ha propuesto un modelo de dos pasos para la inactivación de la mirosinasa mediante el tratamiento de blanqueado por microondas, que consiste en un periodo de rápida inactivación inicial seguido por una decaída más lenta, que finalmente se nivela (Ludikhuyze *et al.*, 1999), lo cual en esta investigación fue demostrado con la abrupta reducción en la actividad mirosinasa después de someter la mashua al blanqueado por microondas por 3 minutos. La actividad mirosinasa blanqueada por más tiempo se perdió completamente. Estas observaciones son similares a las de Verkerk & Dekker (2004) cuando col roja fue blanqueada al microondas por 4 min 48 segundos a 900W, mostrando una caída repentina en la actividad mirosinasa a 144 segundos.

El tratamiento de blanqueado por ebullición, en el caso de la variedad amarilla, generó una disminución gradual con el tiempo, registrando mayores pérdidas para tubérculos cortados que para tubérculos enteros; lo mismo sucedió en el caso de la variedad morada, registrando mayores pérdidas en tubérculos cortados respecto a los enteros y también mayores pérdidas en tubérculos soleados frente a aquellos sin solear. Se ha reportado que la temperatura óptima para la actividad mirosinasa es de 30°C y que dicha actividad se ve reducida en un 70% con temperaturas de 50°C durante 5 minutos (Ludikhuyze *et al.*, 2000), esto podría explicar la relativamente elevada tasa de pérdida de actividad mirosinasa con la ebullición. Rungapamestry *et al.* (2008), reportó que el blanqueamiento por ebullición no redujo significativamente la actividad mirosinasa en brócoli, esta diferencia frente a las mayores pérdidas en mashua pueden deberse fundamentalmente a la diferente estructura física de cada especie en relación a la penetración del calor.

La velocidad y el grado de inactivación de la mirosinasa están relacionados a la tasa y el principio de transferencia del calor. En la cocción convencional por ebullición, el calentamiento empieza en la superficie del alimento y el calor es lentamente transferido al centro del alimento por conducción, contrariamente, en la cocción por microondas, las microondas penetran el centro del alimento por radiación y el calor generado dentro del alimento es transferido hacia la superficie de este, por lo tanto, un incremento equivalente en temperatura ocurre más rápidamente en el blanqueado por microondas que por ebullición. (Knutson *et al.*, 1987).

Verkerk & Dekker (2004), encontraron que utilizando microondas a 900W, la col alcanzaba los 100°C después de 2.8 min, luego de lo cual la enzima mirosinasa fue desnaturalizada; sin embargo, cuando fue tratada a 180W, aún después de 25 minutos la temperatura interna de la col no superó los 90°C, condiciones bajo las cuales, una mirosinasa más termoestable aparentemente puede sobrevivir parcialmente y mantener algo de actividad hidrolítica.

En tubérculos cortados puede inducirse la síntesis de novo de glucosinolatos como ya se mencionó anteriormente, es entonces que la actividad mirosinasa puede ser contrarrestada por dicho incremento de GSL, esto atribuido a un mecanismo de incremento de GSL inducido por estrés, el cual juega un importante rol además del bien conocido mecanismo de degradación. (Verkerk *et al.*, 2001)

4.2.4. Comparación entre variedades

4.2.4.1 Contenido de Glucosinolatos Totales

La variedad morada presentó concentraciones de glucosinolatos totales e individuales significativamente mayores a las encontradas en la variedad amarilla ($P > 0.05$), a excepción únicamente del 4-hidroxiglucobrassicin, que no

presentó diferencias estadísticas significativas entre ambas variedades. Estos resultados coinciden con lo reportado por Ramallo *et al.* (2004), quienes afirman que las variedades de mashua de color oscuro mostraron mayores niveles y contenido de glucosinolatos que las variedades de color claro. Sin embargo, estos autores también reportaron un incremento en la concentración de glucosinolatos para la variedad amarilla con una cosecha tardía de 20 a 30 días, alcanzando niveles incluso mayores a los de la variedad morada en las mismas condiciones, lo cual sugeriría que la asociación entre el color y la mayor concentración de glucosinolatos sería aplicable solo para tubérculos cosechados en el tiempo normal de cosecha, ciclo de 231 días para su estudio en mashua. Por otro lado, el trabajo de Clément *et al.* (2010) reportó también diferencias en el contenido de glucosinolatos relacionado al color del ecotipo de maca. Arias & Higuera, (2012) también encontraron que las accesiones moradas y las blanco-morado presentan en promedio, mayor contenido de GSL, si se comparan con las accesiones amarillas.

De acuerdo con Ciska & Kozłowska (2001), diferentes variedades de una misma especie pueden rendir diferentes pérdidas en el contenido de glucosinolatos, hecho que notaron en su investigación sobre el efecto de la cocción en el contenido de glucosinolatos en col blanca. Las diferencias entre variedades pueden explicarse por diferencias genéticas, condiciones de crecimiento, etapas de desarrollo, factores ambientales, entre otros (Padilla *et al.*, 2007). Por ejemplo, los cambios en la concentración con y sin tratamiento previo de soleado sugieren una compleja regulación bioquímica en la síntesis y degradación de glucosinolatos en los tubérculos.

Las variaciones debido a las condiciones de crecimiento y al cultivar, así como los diferentes métodos de procesamiento y las técnicas analíticas utilizadas entre los diferentes estudios y trabajos previos con otras especies, dificultan la comparación directa e interpretación de los resultados.

Es importante mencionar que la buena preservación o incremento en el contenido de glucosinolatos puede ser parcialmente explicado por la inactivación de la enzima mirosinasa y por una ruptura del tejido vegetal al calor (Vallejo *et al.*, 2002). Parte de estas moléculas están unidas a la pared celular y sólo son liberadas después de una ruptura en la estructura celular (Gliszczynska-Swinglo *et al.*, 2006), lo cual concuerda con los hallazgos de esta investigación y lo discutido en los acápites anteriores respecto al efecto de cada etapa del procesamiento.

Los resultados obtenidos indican que el contenido de glucosinolatos en mashua es altamente dependiente de la variedad y el tipo de procesamiento al que sea sometido. Estos parámetros deberían ser tomados en cuenta al considerar a la mashua como una fuente alimenticia prometedora con propiedades medicinales para humanos y animales, todo ello relacionado a la presencia de los glucosinolatos.

4.2.4.2 Contenido de Glucosinolatos Individuales

El glucosinolato responsable de la reducción o incremento significativo fue el glucosinolato aromático glucoaubrietin (p-metoxibencil glucosinolato), siendo este el más importante y abundante en mashua. Glucoaubrietin no se encuentra frecuentemente en plantas comestibles y consecuentemente no existen reportes de sus posibles efectos fisiológicos. Las investigaciones actuales se enfocan en los GSL más comunes, encontrados en colza, brócoli, col, etc. Johns *et al.* (1982) ha reportado varios usos de la mashua en la medicina popular o tradicional, relacionándolos a la presencia de GSL en la planta. Considerando estas propiedades medicinales promisorias de la mashua, deberían incentivarse investigaciones específicas sobre los efectos biológicos del glucoaubrietin.

Las mayores tasas de pérdida de glucosinolatos a lo largo de los diferentes tratamientos estudiados fueron registradas para glucotropaeolin (bencil glucosinolato) y glucoalyssin (metilsulfinilpentil glucosinolato).

Entre los glucosinolatos más estables, tenemos a los otros dos glucosinolatos aromáticos, el glucosinalbin y el glucoaubrietin.

Diferentes autores reportaron que los glucosinolatos alifáticos son generalmente más estables que los glucosinolatos indólicos durante las post cosecha y los tratamientos de blanqueado en la familia Brassicaceae (Cieslik *et al.*, 2007; Ciska & Kozłowska, 2001; Jia *et al.*, 2009; Vallejo *et al.*, 2002; Rungapamestry *et al.*, 2007; Yuan *et al.*, 2009); sin embargo, esta investigación demuestra que para la familia Tropeolaceae, específicamente para *Tropeolum tuberosum*, sucede lo contrario, los glucosinolatos alifáticos (glucoalyssin) resultan ser mas inestables que los glucosinolatos indólicos (4-hydroxyglucobrassicin) y tienden a reducir significativamente su contenido inicial con el procesamiento.

Las diferencias en la difusión individual y las propiedades hidrofílicas de los glucosinolatos individuales son sumamente importantes (Volden *et al.*, 2008a). El contenido de dichos glucosinolatos individuales depende fuertemente de la variedad y del procesamiento al que se somete.

Las discrepancias en la naturaleza y magnitud de los cambios en las concentraciones de glucosinolatos puede atribuirse parcialmente a variaciones atribuidas a la matriz vegetal, cultivar, condiciones agronómicas (Vallejo *et al.*, 2003), o a diferencias sutiles en el muestreo, los protocolos de procesamiento o las técnicas analíticas. Durante el procesamiento, los cambios en las concentraciones de los glucosinolatos están también relacionadas a la actividad mirosinasa residual (Rungapamestry *et al.*, 2006).

4.2.4.3 Actividad Mirosinasa

No se encontró diferencias significativas ($P > 0.05$) entre la variedad amarilla y la variedad morada en estado fresco, sin procesamiento, en lo que respecta a la actividad mirosinasa (Tabla 34), lo cual indicaría que esta variable respuesta es independiente de la variedad, las condiciones de crecimiento y los factores ambientales. Sin embargo, sí sería dependiente de la especie, puesto que la mashua presenta actividad mirosinasa superior a la reportada en, por ejemplo, maca (*Lepidium meyenii* Walp.) (Yábar *et al.*, 2011), donde la actividad enzimática no supera los 1000 nmol/gBS.min; mientras que en mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) se encontró hasta 12720 nmol/gBS.min para la variedad morada fresca y 11264 nmol/gBS.min para la variedad amarilla fresca. Es posible que la presencia de varios enlaces iónicos, puentes disulfuro y puentes de hidrógeno promuevan la estabilidad de la mirosinasa en el medio extracelular de mashua, donde la enzima actúa luego del daño celular (Halkier & Gherhenson, 2006)..

A large, faint watermark of the Universidad Católica de Santa María logo is centered on the page. It features a shield with a cross, a book, and a lamp, surrounded by a banner with the text 'UNIVERSIDAD CATOLICA SANTA MARIA' and the year '1961' at the bottom.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

Para facilitar la interpretación de las conclusiones a las que se llegó con esta investigación, a continuación se muestra un cuadro con las variables estudiadas y los niveles de cada variable.

Variable	Niveles		
<i>Tratamiento Previo</i>	Tubérculos soleados durante 7 días		Tubérculos sin solear
<i>Estado del Tubérculo al momento del Blanqueado</i>	Entero		Cortado
<i>Tratamiento de Blanqueado</i>	Ebullición		Microondas
<i>Tiempo de Blanqueado</i>	3.0 min	4.5 min	6.0 min
<i>Temperatura de Secado</i>	60°C		80°C

PRIMERA. Este estudio demuestra que la concentración de glucosinolatos en mashua, variedad amarilla, es significativamente afectada por el tratamiento de blanqueado, el estado del tubérculo, el tiempo de blanqueado, la temperatura de secado y las interacciones entre estos. En cuanto a la concentración de glucosinolatos en mashua, variedad morada, esta es significativamente afectada por el tratamiento previo de soleado, el tratamiento de blanqueado, el estado del tubérculo y las interacciones entre estos, más no por la temperatura de secado.

SEGUNDA. La actividad mirosinasa en mashua, variedad amarilla, es significativamente afectada por el tratamiento y el tiempo de blanqueado y la interacción entre estos, más no por el estado del tubérculo. La actividad mirosinasa en mashua, variedad morada, es significativamente afectada por el tratamiento

previo de soleado, el tratamiento de blanqueado, el estado del tubérculo y la interacción entre estos.

TERCERA. Para la variedad amarilla, si el objetivo es un producto con alto contenido de glucosinolatos benéficos que podrían ser usados como fuente de alimentos funcionales o materia prima para fármacos en medicina, los tratamientos de elección, que registraron los mayores valores de contenido de glucosinolatos totales fueron obtenidos: i) para tubérculos cortados, blanqueados por ebullición durante seis minutos y secados a 80°C (93.48 $\mu\text{mol/g}$ BS) (con un incremento significativo del 26% ($P>0.05$) respecto al contenido de glucosinolatos totales de mashua fresca, sin procesamiento) y ii) para tubérculos cortados, blanqueados por ebullición durante 4.5 minutos y secados a 80°C (72.70 $\mu\text{mol/g}$ BS) (estadísticamente igual ($P>0.05$) al contenido de glucosinolatos totales de mashua fresca, sin procesamiento).

CUARTA. Para la variedad morada, si el objetivo es el mismo que el anterior (en mashua amarilla), los tratamientos que registraron los mayores valores de contenido de glucosinolatos totales fueron obtenidos: i) para tubérculos sin soleado, sin blanqueado y secados directamente a 60°C (113.04 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), y ii) para tubérculos sin soleado, cortados, blanqueados por ebullición y secados a 80°C (110.66 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), siendo estos valores estadísticamente iguales ($P>0.05$) al valor de contenido de glucosinolatos totales en mashua fresca sin procesamiento.

QUINTA. Para la variedad amarilla, si el objetivo es un producto con bajo contenido de glucosinolatos, eliminando así el amargor y la astringencia producidos por algunos de estos compuestos, para producir líneas con sabor mejorado que ayuden a incrementar la aceptación de este cultivo altamente proteico, los tratamientos de elección, que registraron los menores valores de contenido de glucosinolatos totales fueron obtenidos para tubérculos cortados, blanqueados por microondas durante 6 minutos y secados a 60°C (1.37 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS) y a 80°C (5.90

$\mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), con disminuciones significativas del 98 y 92%, respectivamente ($P>0.05$).

SEXTA. Para la variedad morada, si el objetivo es el mismo que el anterior (en mashua amarilla), los tratamientos que registraron los menores valores de contenido de glucosinolatos totales en variedad morada fueron obtenidos para tubérculos sin soleado, cortados, blanqueados por microondas y secados a 60°C ($10.32 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS) y a 80°C ($13.10 \mu\text{mol.g}^{-1}$ BS), con una disminución significativa del 91 y 88%, respectivamente ($P>0.05$).

SETIMA. Los resultados de esta investigación sugieren que durante el procesamiento, las concentraciones de glucosinolatos y la actividad mirosinasa residual en mashua dependen del método y la duración del procesamiento.

OCTAVA. Los métodos de blanqueamiento, seguidos por el secado, minimizan las pérdidas de nutrientes y proveen mejor calidad física.

5.2 RECOMENDACIONES

- ▶ Glucoaubrietin, pese a ser el glucosinolato individual más importante y abundante de mashua, no se encuentra frecuentemente en plantas comestibles y consecuentemente, no existen reportes de sus posibles efectos fisiológicos. Johns *et al.* (1982) ha reportado varios usos de la mashua en la medicina popular o tradicional, relacionándolos a la presencia de GSL en la planta; considerando estas propiedades medicinales promisorias, investigaciones específicas sobre los efectos biológicos del glucoaubrietin deberían ser incentivadas.
- ▶ Una vez que se definan las propiedades biológicas de los glucosinolatos presentes en mashua, fundamentalmente del glucoaubrietin, se deberían definir las prácticas agrícolas y los tratamientos post cosecha más adecuados para optimizar el contenido de glucosinolatos en tubérculos de mashua.
- ▶ El consumo de harina de mashua puede proporcionar un medio para optimizar la absorción de isotiocianatos *in vivo*. Sin embargo, posteriores estudios que investiguen la hidrólisis *in vivo* deberían ser llevados a cabo para demostrar si estas observaciones son reproducibles en el tracto digestivo humano.
- ▶ Investigar en qué grado la mirosinasa es capaz de ejercer hidrólisis cuando está parcialmente inactivada.
- ▶ Realizar estudios *in vitro* e *in vivo* de la actividad anticancerígena de esta especie, así como también, ensayar la concentración y dosis necesarias para suprimir la proliferación de células tumorales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A.O.A.C. (1990). *Official methods of analysis of the association of official analytical chemists*. EEUU: 15 Ed. Association of Official Analytical Chemists.
- Aguilera, C. M., Barberá, J. M., Díaz, L. E., Duarte, A., Galvez, J., Gil, A., et al. (2008). *Alimentos Funcionales: Aproximación a una nueva alimentación*. Madrid: Dirección General de Salud Pública y Alimentación.
- Alvarez, G., & Merino, J. (2009). *Informe final del ensayo de mashua en la comunidad de Llangahua*. Ambato, Ecuador: Dirección de Transferencia, Unidad de Transferencia Tungurahua - INIAP.
- ANCW. (2008). *Listing of Interesting Plants of the World: Tropaeolum tuberosum*. Acceso em 29 de Octubre de 2012, disponível em Australian New Crops Website: http://www.newcrops.uq.edu.au/listing/species_pages_T/Tropaeolum_tuberosum.htm
- Antonious, G. F., Kasperbauer, M. J., & Byers, M. E. (1996). Light reflected from colored mulches to growing turnip leaves affects glucosinolate and sugar contents of edible roots. *Photochemistry and Photobiology*, 64, 605-610.
- Aranceta, J., & Serra, L. (2003). *Guía de Alimentos Funcionales*. España: Instituto Omega 3, Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC), Fundación Puleva, Confederación de consumidores y usuarios.
- Arbizu, C., & Hermann, M. (1993). *Aproximación Agroecosistémica. El Agroecosistema Andino: problemas, limitaciones, perspectivas. Anales sobre el taller internacional sobre Agroecosistema Andino*. Lima: CIP.
- Arbizu, C., & Tapia, M. (1992). *"Cultivos marginados". Otra perspectiva de 1942*. Roma: FAO.
- Arias, M. M. (2011). *Análisis y comparación de los glucosinatos presentes en diferentes accesiones de cubio (Tropaeolum tuberosum) para evaluar su uso potencial en el control del patógeno de la papa Spongospora subterranea*. Tesis para optar por el Título de Magister en Ciencias Químicas.: Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.
- Arias, M. M., & Higuera, B. L. (2012). Extracción y Análisis de GLucosinatos presentes en accesiones colombianas de Cubio (*Tropaeolum tuberosum*). *XXIX Congreso Latinoamericano de Química - XVI Congreso Colombiano de Química - VI Congreso Colombiano de Cromatografía*. Bogotá, Colombia.

- Barrera, V., Espinosa, P., Tapia, C., Monteros, A., & Valverde, F. (2004). Caracterización de las Raíces y los Tubérculos Andinos en la ecorregión andina del Ecuador (Capítulo 1). In: V. Barrera, C. Tapia, & A. Monteros, *Raíces y Tubérculos Andinos: Alternativas para la conservación y uso sostenible en el Ecuador. Serie: Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003)*. (Vol. No. 4., pp. 3-30). Quito, Ecuador - Lima, Perú: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Centro Internacional de la Papa, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación.
- Bateman, J. (1961). Una prueba exploratoria de la alimentación usando *Tropaeolum tuberosum*. *Turrialba*, 11, 98-100.
- Bennett, R., & Wallsgrove, R. (1994). Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New phytologist*, 127, 617-633.
- Bones, A. M., & Rossiter, J. T. (1996). The myrosinase-glucosinolate system, its organisation and biochemistry. *Plant Physiology*, 97, 194-208.
- Brack, A. (1999). *Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú*. Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de las Casas.
- Brewer, S. M., Begum, S., & Bozeman, A. (1995). Microwave and conventional blanching effects on chemical, sensory, and color characteristics of frozen broccoli. *Journal of Food Quality*, 18, 479-493.
- Brown, P. D., Tokuhisa, J. G., Reichelt, M., & Gershenzon, J. (2003). Variation of glucosinolate accumulation among different organs and developmental stages of *Arabidopsis thaliana*. *Phytochemistry*, 62, 471-481.
- Buchner, R. (1987). Approach to determination of HPLC response factors for Glucosinolates. In: J. P. Wathelet (Ed.), *Glucosinolates in Rapeseeds: Analytical Aspects* (pp. 50-58). Boston: Martinus Nijhoff Publishers.
- Cadima Fuentes, X. (2006). Tubérculos. *Botánica Económica de los Andes Centrales*, 347-369.
- Campos, C. J. (2011). *Optimización de la Extracción de Glucosinolatos a partir de Harina de Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón)*. Tesis para optar por el título profesional de Químico Farmacéutico: Universidad Católica de Santa María. Arequipa, Peru.
- Cárdenas, M. (1989). *Manual de plantas económicas de Bolivia. 2a Edición*. La Paz, Bolivia: Editorial Los.
- Chen, S., & Andreasson, E. (2001). Update on glucosinolate metabolism and transport. *Plant Physiology and Biochemistry*, 39, 743-758.

- Chirinos, R., Campos, D., Costa, N., Arbizu, C., Pedreschi, R., & Larondelle, I. (2008b). Phenolic profiles of Anden Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz & 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., & Larondelle, Y. (2008a). Antioxidant properties of mashua (*Tropaeolum tuberosum*) phenolic extracts against oxidative damage using biological in vitro assays. *Food Chemistry*, *111*, 98-105.
- Cieslik, E., Leszczynska, T., Filipiak-Florkiewicz, A., Elzbieta, S., & Pisulewski, P. M. (2007). Effects of some technological processes on glucosinolate contents in cruciferous vegetables. *Food Chemistry*, *105*, 976-981.
- Ciska, E., & Kozłowska, H. (2001). The effect of cooking on the glucosinolates content in white cabbage. *European Food Research and Technology*, *212*(5), 582-587.
- Clément, C., Díaz, D., Manrique, I., Avulad, B., Khan, I. A., Ponce-Aguirre, D. D., et al. (2010). Secondary metabolites in maca as affected by hypocotyl colour, cultivation history, and site. *Agronomy Journal*, *102*, 431-439.
- Cole, R. (1976). Isothiocyanates, nitriles and thiocyanates as products of autolysis of glucosinolates in Cruciferae. *Phytochemistry*, *15*, 759-762.
- Córdoba, C. (2012). *Evaluación del efecto del Secado a dos temperaturas en el contenido de compuestos fenólicos, antocianinas y capacidad antioxidante de Mashua morada (Tropaeolum tuberosum Ruiz & Pav.)*. Tesis para optar por el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Lima, Perú: Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Dekker, M., Verkerk, R., & Jongen, W. M. (2000). Predictive modeling of health aspects in the food production chain: a case study on glucosinolates in cabbage. *Trends in Food Science & Technology*, *11*(4-5), 174-181.
- Díaz, E. M., Sacristán, M., Alarcón, B., Vicente, C., & Legaz, M. E. (2011). Curso de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC): Prácticas de laboratorio y cuestiones teórico-prácticas. *Reduca (Biología)*. Serie Técnicas y Métodos., *4*(3), 33-47.
- DiscoverLife. (2012). *Tropaeolum tuberosum*. Acceso em 06 de 01 de 2013, disponível em Global Biodiversity Information Facility: http://www.discoverlife.org/mp/20m?txt=Encyclopedia+of+Life&burl=www.eol.org/pages/483579&act=make_map
- Dolores, L., & Espín, S. (1997). Compuestos cianogénicos en mashuas ecuatorianas. *Resúmenes IX congreso de cultivos andinos*. . Cusco, Perú.

- Doughty, K. J., Kiddle, G. A., Pye, B. J., Wallsgrove, R. M., & Pickett, J. A. (1995). Selective induction of glucosinolates in oil seed rape leaves by methyl jasmonate. *Phytochemistry*, 38, 347-350.
- Drago, M. E., Lopez, M., & Sainz, T. (2006). Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Meicana de Ciencias Farmacéuticas.*, 37(4), 58-68.
- EC. (1990). Oil seeds - Determination of glucosinolates. High performance liquid chromatography. *Official Journal of the European Communities*, L 170, 27-34.
- Espinosa, P., Vaca, R., Abad, J., & Crissman, C. C. (1997). *Raíces y Tubérculos Andinos cultivos marginados en el Ecuador. Situación actual y limitaciones para la producción*. Quito, Ecuador: Ediciones Abya-Yala.
- Fahey, J. W., Zalcmann, A. T., & Talalay, P. (2001). The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, 56, 5-51.
- Fahey, J. W., Zhang, Y., & Talalay, P. (1997). Broccoli sprouts: an exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 94, 10367-10372.
- Fairlie, T., Morales, M., & Halle, M. (1999). *Raíces y Tubérculos Andinos, Avances de Investigación. Tomo I, 1a Ed.* Lima, Perú: Centro Internacional de la Papa (CIP).
- Finley, J. W. (2005). Proposed Criteria for Assessing the Efficacy of Cancer Reduction by Plant Foods Enriched in Carotenoids, Glucosinolates, Polyphenols and Selenocompounds. *Annals of Botany*, 95, 1075–1096.
- Galleti, S., Bernardi, R., Leoni, O., Rollin, P., & Palmieri, S. (2001). Preparation and biological activity of four epiprogoitrin myrosinase-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 471-476.
- García, W., & Cadima, X. (2003). *Manejo sostenible de la Agrobiodiversidad de tubérculos andinos: Síntesis de investigaciones y experiencias en Bolivia. Serie: Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003) (Vol. No. 1.)*. Cochabamba, Bolivia: Fundación para la Promoción y la Investigación de Productos Andinos (PROINPA), Alcaldía de Colomi, Centro Internacional de la Papa (CIP), Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSUDE).
- Gliszczynska-Swinglo, A., Ciska, E., Pawlak-Lemanska, K., Chmielewski, J., Borkowski, T., & Tyrakowska, B. (2006). Changes in the content of health-promoting compounds and antioxidant activity of broccoli after domestic processing. *Food Additives and Conaminants*, 23(11), 1088-1098.

- Goodrich, R. M., Anderson, J. L., & Stoewsand, G. S. (1989). Glucosinolate changes in blanched broccoli and Brussels sprouts. *Journal of Food Processing and Preservation*, 13, 275-280.
- Grau, A., Ortega, R., Nieto, C., & Hermann, M. (2003). *Mashua (Tropaeolum tuberosum Ruiz & Pav.)*. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. (Vol. 25). (J. M. Engels, Ed.) International Potato Center, Lima, Perú/ International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Greensmith, M. (1998). *Practical dehydration. 2a Ed.* Cambridge, UK.: Woodhead Publishing Limited.
- Griffiths, D. W., Bain, H., Deighton, N., Botting, N., & Robertson, A. B. (2000). Evaluation of liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionisation-mass spectrometry for the identification and quantification of desulphoglucosinolates. *Phytochemical Analysis*, 11, 216-225.
- GRIN. (2006). *Tropaeolum tuberosum*. Acceso em 03 de Diciembre de 2012, disponível em Germplasm Resources Information Network - United States Department of Agriculture: http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/tax_search.pl
- Gutiérrez, J., & Montaña, K. (2002). *Métodos analíticos para el control de calidad de la materia prima y de los diversos productos procesados de la Maca (Lepidium meyenii Walp.)*. Tesis para optar por el título profesional de Químico-Farmacéutico. Ica, Perú: Universidad Nacional San Luis Gonzaga.
- Hafeld, B. (2002). *Functional Analysis of Plant Idioblasts (Myrosin Cells) and their role in defense, development and growth*. Tesis para optar por el Título de Doctor en Ciencias. Trondheim, Noruega.: Norwegian University of Science and Technology.
- Halkier, B. A., & Gherghenson, J. (2006). Biology and Biochemistry of Glucosinolates. *The Annual Review of Plant Biology*, 57, 303-333.
- Hansen, M., Møller, P., Sørensen, H., & Cantwell de Trejo, M. (1995). Glucosinolates in broccoli stored under controlled atmosphere. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 120, 1069-1074.
- Haughn, G. W., Davin, L., Giblin, M., & Underhill, E. W. (1991). Biochemical genetics of plant secondary metabolites in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Plant Physiology*, 97, 217-226.
- Hertog, M. G., Hollman, P. C., & Katan, M. B. (1992). Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 2379-2383.

- Higdon, J. V., Delage, B., Williams, D. E., & Dashwood, R. H. (2007). Cruciferous vegetables and human cancer risk: epidemiologic evidence and mechanistic basis. *Pharmacological Research*, *55*, 224-236.
- Holst, B., & Williamson, G. (2004). A critical review of the bioavailability of glucosinolates and related compounds. *Natural Product Reports*, *21*, 425-447.
- INIA. (2005). Cultivos Andinos y Nativos del Perú. *Centro de Información Tecnológica CIT Inform@*.
- INIAP. (1989). *Informe Técnico Anual: Caracterizaciones de varias colecciones de germoplasma. Estación experimental Santa Catalina*. Quito, Ecuador: Programa de Cultivos Andinos.
- ISO. (1999). *Rapeseed - Determination of Glucosinolate Content*. ISO/NP 9167-1.
- ITIS. (2012). *Tropaeolum tuberosum*. Acceso em 03 de Diciembre de 2012, disponível em Integratedl Taxonomy Information System: http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=506375
- Jia, C. G., Xu, C. J., Wei, J., Yuan, J., Yuan, G. F., Wang, B. L., et al. (2009). Effect of modified atmosphere packaging on visual quality and glucosinolates of broccoli florets. *Food Chemistry*, *114*(1), 28-37.
- Johns, T. (1981). The añu and the maca. *Journal of Ethnobiology*, *1*, 208-212.
- Johns, T., & Towers, G. H. (1981). Isothiocyanates and thioureas in enzyme hydrolysates of *Tropaeolum tuberosum*. *Phytochemistry*, *20*, 2687-2689.
- Johns, T., Kitts, W. D., Newsome, F., & Towers, G. H. (1982). Anti-reproductive and other medicinal effects of *Tropaeolum tuberosum*. *Journal of Ethnopharmacology*, *5*, 149-161.
- Kjær, A., Orggaard-Madsen, J., & Maeda, Y. (1978). Seed volatiles within the family Tropaeolaceae. *Phytochemistry*, *17*, 1285-1287.
- Knutson, K. M., Marth, E. H., & Wagner, M. K. (1987). Microwave heating of food. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, *20*(3), 101-110.
- Koritsas, V. M., Lewis, J. A., & Fenwick, G. R. (1991). Glucosinolate responses of oilseed rape, mustard and kale to mechanical wounding and infestation by cabbage stem flea beetle (*Psylliodes chrysocephala*). *Annals of Applied Biology*, *118*, 209-221.
- Kristal, A. R., & Lampe, J. W. (2002). Brassica Vegetables and Prostate Cancer Risk: A Review of the Epidemiological Evidence. *Nutrition and Cancer*, *42*, 1-9.

- Lambrix, V., Reichelt, M., Mitchell-Olds, T., Kliebenstein, D. J., & Gershenzon, J. (2001). The Arabidopsis epithiospecifier protein promotes the hydrolysis of glucosinolates to nitriles and influences *Trichoplusia ni* herbivory. *Plant cell*, *13*, 2793–2807.
- Lampe, J. W., & Peterson, S. (2002). Brassica, Biotransformation and Cancer Risk: Genetic Polymorphisms Alter the Preventive Effects of Cruciferous Vegetables. *The Journal of Nutrition*, *132*, 2991-2994.
- Lichtscheidl-Schultz, I. (1985). Effects of UV-C and UV-B on cytomorphology and water permeability of inner epidermal cells of *Allium cepa*. *Physiologia Plantarum*, *63*(3), 269-276.
- Lisinger, T., Kristiansen, N., Beloufa, N., Schimmel, H., & Puwels, J. (2001). EUR 19764: The certification of the total glucosinolate and sulfur contents of three rapeseed (colza) materials BCR-190R, -366R and -367R.
- López-Berenguer, C., Carvajal, M., Moreno, D. A., & Garcia-Viguera, C. (2007). Effects of microwave cooking conditions on bioactive compounds present in broccoli inflorescences. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*(24), 10001-10007.
- Ludikhuyze, L., Ooms, V., Weemaes, C., & Hendrickx, M. (1999). Kinetic study of the irreversible thermal and pressure inactivation of myrosinase from broccoli (*Brassica oleracea* L. Cv. *Italica*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *47*(5), 1794-1800.
- Ludikhuyze, L., Rodrigo, L., & Hendrickx, M. (2000). The activity of myrosinase from broccoli (*Brassica oleracea* L. cv. *Italica*): influence of intrinsic and extrinsic factors. *Journal of Food Protection*, *63*, 400-403.
- Márquez Lema, A. (2008). *Mejora genética del contenido de glucosinolatos en semillas de mostaza etíope (Brassica carinata A. Brown)*. Tesis Doctoral para el Departamento de Genética. Córdoba, Argentina: Universidad de Córdoba.
- McGregor, D. I. (1985). Determination of glucosinolates in Brassica seed. *Cruciferae Eucarpia Newsletter*, *10*, 132-136.
- Mithen, R. F., Dekker, M., Verkerk, R., Rabot, S., & Johnson, I. T. (2000). The nutritional significance, biosynthesis and bioavailability of glucosinolates in human foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *80*, 967-984.
- Mrkic, V., Redovnikovic, R., Mazor-Jolic, S., Delonga, K., & Dragovic-Uzelac, V. (2010). Effect of Drying Conditions on Indole Glucosinolate Level in Broccoli. *Acta Alimentaria*, *39*(2), 167-174.
- Mullin, W. J., & Sahasrabudhe, M. R. (1978). Effects of cooking on the glucosinolates in cruciferous vegetables. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, *11*, 50-53.

- National Research Council. (1989). *Lost Crops of the Incas: Little Known Plants of the Andes with Promise for Worldwide Cultivation*. Washington D.C.: National Academy Press.
- Navas de Alvarado, G., Vega de Rojas, R., & Soria, S. (1993). La Mashua (*Tropaeolum tuberosum*): Fuente potencial de Carbohidratos. *Simposio en carbohidratos*. Quito: Ecuador.
- NCBI. (2011). *Pubchem Compound: Glucoalyslin*, 8. Acceso em 21 de Diciembre de 2012, disponível em <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?sid=10596&viewopt=PubChem>
- NCBI. (2011). *Pubchem Compound: Glucoaubrietin*, 3. Acceso em 21 de Diciembre de 2012, disponível em <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?sid=96023678&viewopt=PubChem>
- NCBI. (2011). *Pubchem Compound: Glucosinalbin*, 8. Acceso em 21 de Diciembre de 2012, disponível em <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?sid=10621&viewopt=PubChem>
- NCBI. (2011). *Pubchem Compound: Glucotropaeolin*, 8. Acceso em 21 de Diciembre de 2012, disponível em <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?sid=5230&viewopt=PubChem>
- NCBI. (2012). *Pubchem Compound: 4-Hydroxyglucobrassicin*, 9. Recuperado el 21 de Diciembre de 2012, de <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?sid=10617&viewopt=PubChem>
- NCBI. (2012). *Tropaeolum tuberosum*. Acceso em 03 de Diciembre de 2012, disponível em Taxonomy Database: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy>
- Noratto, G., Cisneros-Zevallos, L., & Mo, H. (2004). *Tropaeolum tuberosum* (mashua) extracts suppress tumor cell proliferation. *FASEB Journal*, 18(5), A886.
- NRCS. (2012). *Tropeolum tuberosum*. Acceso em 03 de Diciembre de 2012, disponível em Natural Resources Conservation Service - United States Department of Agriculture: <http://plants.usda.gov/classification.html>
- Oblitas, E. (1969). *Plantas medicinales de Bolivia*. Cochabamba, Bolivia: Editorial los Amigos del Libro.
- Oerlemans, K., Barret, D. M., Suades, C. B., Verkerk, R., & Dekker, M. (2006). Thermal degradation of glucosinolates in red cabbage. *Food Chemistry*, 95(1), 19-29.

- Ortega, O. R., Kliebenstein, D. J., Arbizu, C., Ortega, R., & Quiros, C. F. (2006). Glucosinolate Survey of Cultivated and Feral Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) in the Cuzco Region of Peru. *Economic Botany*, 60(3), 254-264.
- Padilla, G., Cartea, M. E., Velasco, P., De Haro, A., & Ordás, A. (2007). Variation of glucosinolates in vegetable crops of *Brassica rapa*. *Phytochemistry*, 68, 536-545.
- Palencia, Y. (2004). *Sustancias Bioactivas en los Alimentos*. Acceso em 21 de 01 de 2012, disponível em Universidad de Zaragoza: http://www.unizar.es/med_naturista/bioactivos%20en%20alimentos.pdf
- Piacente, S., Plaza, A., Plaza, A., Zampelli, A., & Pizza, C. (2002). Investigation of the tuber constituents of maca (*Lepidium meyenii* Walp.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5621-5625.
- Quinsac, A., Charrier, A., & Ribailier, D. (1994). Glucosinolates in etiolated sprouts of sea-kale (*Crambe maritima* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 65, 201-207.
- Ramallo, R., Wathélet, J.-P., Le Bounlegé, E., Torres, E., Marlier, M., Ledent, J.-F., et al. (2004). Glucosinolates in isaño (*Tropaeolum tuberosum*) tubers: qualitative and quantitative content and changes after maturity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 701-706.
- Ramírez, J. S. (2010). Alimentos funcionales. Nuevas Tendencias en Alimentos. *Revista VIRTUALPRO Procesos Industriales*, 101, ISSN 1900-6241.
- Rask, L., Andreasson, E., Ekbom, B., Eriksson, S., Pontoppidan, B., & Meijer, J. (2000). Myrosinase: gene family evolution and herbivore defense in Brassicaceae. *Plant Molecular Biology*, 42, 93-113.
- Rea, J. (1964). Germoplasma boliviano y calidad bromatológica de *Tropaeolum tuberosum*. *Memorias: 4. Congreso internacional de cultivos andinos*. (pp. 381-386). Pasto, Colombia: Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), Centro Internacional de Investigación para el Desarrollo (CIID).
- Reifenrath, K., & Muller, C. (2007). Species-specific and leaf-age dependent effects of ultraviolet radiation on two Brassicaceae. *Phytochemistry*, 68, 875-885.
- Roca, W. (18 de Junio de 2010). Potencial de la Biotecnología moderna en la utilización de los recursos filogenéticos en el Perú. *Foro Internacional "La Biotecnología Moderna en el Sector Agrario: Oportunidades y Desafíos"*. Lima, Perú: Instituto Nacional de Innovación Agraria - INIA.
- Roca, W., & Manrique, I. (2005). Valorización de los Recursos Genéticos de Raíces y Tubérculos Andinos para la Nutrición y Salud. *Agrociencia*, IX, 195-201.

- Roca, W., Espinoza, C., Panta, A., & Trujillo, G. (2004). *Tendencias en el desarrollo de capacidades biotecnológicas e institucionales para el aprovechamiento de la biodiversidad en los países de la Comunidad Andina: Informe preparado para la CEPAL y la CAF*. Lima, Perú: Centro Internacional de la Papa.
- Rosa, E. A., & Heaney, R. K. (1993). The effect of cooking and processing on the glucosinolate content: Studies on four varieties of portuguese cabbage and hybrid white cabbage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 62, 259-265.
- Rungapamestry, V., Duncan, A. J., Fuller, Z., & Ratcliffe, B. (2006). Changes in Glucosinolate Concentrations, Myrosinase Activity, and Production of Metabolites of Glucosinolates in Cabbage (*Brassica oleracea* Var. capitata) Cooked for Different Durations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 7628-7634.
- Rungapamestry, V., Duncan, A. J., Fuller, Z., & Ratcliffe, B. (2007). Effect of cooking Brassica vegetables on the subsequent hydrolysis and metabolic fate of glucosinolates. *Proceed Nutrition Society*, 66(1), 69-81.
- Sale, A. J. (1976). A review of microwaves for food processing. *Journal of Food Technology*, 11, 319-329.
- Samaniego, L. A. (2010). *Caracterización de la Mashua (*Tropaeolum tuberosum* C.) en el Ecuador. Tesis para optar por el Título de Ingeniero en Industrialización de Alimentos*. Quito, Ecuador: Universidad Tecnológica Equinoccial.
- Sarni-Manchado, P., & Cheynier, V. (2006). *Les polyphénols en agroalimentaire*. France Quercy: TEC & DOC.
- Schreiner, M., Peters, P., & Krumbein, A. (2007). Changes of Glucosinolates in Mixed Fresh-Cut Broccoli and Cauliflower Florets in Modified Atmosphere Packaging. *Journal of Food Science*, 72(8), 585-589.
- Seminario, J. (2004). *Raíces Andinas: Contribuciones al conocimiento y a la capacitación. Serie: Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003)*. (Vol. No. 6.). Lima, Perú: Universidad Nacional de Cajamarca, Centro Internacional de la Papa, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación.
- Sevilla, C., & Vargas, C. (2009). Alimentos fortificados con prebióticos. *Revista ReCITEIA*, 9(2), 128-167.
- Shapiro, T. A., Fahey, J. W., Wade, K. L., Stephenson, K. K., & Talalay, P. (1998). Human metabolism and excretion of cancer chemoprotective glucosinolates and isothiocyanates of cruciferous vegetables. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 7, 1091-1100.

- Slominski, B. A., & Campbell, L. D. (1989). Formation of indole glucosinolate breakdown products in autolyzed, steamed, and cooked Brassica vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37, 1297-1302.
- Smetanska, I. (2006). *Impact of elicitors on glucosinolate production in plants and exudates of turnip (Brassica rapa)*. Ph.D. Dissertation. Berlin.: University of Technology.
- Smith, T. K., Mithen, R., & Johnson, I. T. (2003). Effects of Brassica vegetable juice on the induction of apoptosis and aberrant crypt foci in rat colonic mucosal crypts in vivo. *Carcinogenesis*, 24, 491-495.
- Sones, K., Heaney, R. K., & Fenwick, G. R. (1984). An estimate of the mean daily intake of glucosinolates from cruciferous vegetables in the UK. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 35(6), 712-720.
- Song, L., & Thornalley, P. J. (2007). Effect of storage, processing and cooking on glucosinolate content of Brassica vegetables. *Food and Chemical Toxicology*, 45, 216-224.
- Soria, S. L., Vega, R., Damsteegt, V. D., McDaniel, L. L., Kitto, S. L., & Evans, T. A. (1998). Occurrence and Partial Characterization of a New Mechanically Transmissible Virus in Mashua from the Ecuadorian Highlands. *Plant Disease*, 82, 69-73.
- Starzynska, A., Leja, M., & Mareczek, A. (2003). Physiological changes in the antioxidant system of broccoli flower buds secescing during short-term storage, related to temperature and packaging. *Plant Science*, 165, 1387-1395.
- Stoner, G. D., & Morse, M. A. (1997). Isothiocyanates and plant polyphenols as inhibitors of lung and esophageal cancer. *Cancer Letters*, 114, 113-119.
- Takasugi, M., Monde, K., Lewis, J. A., & Fenwick, G. R. (1991). Time-course studies of phytoalexins and glucosinolates in UV-irradiated turnip tissue. *Zeitschrift für Naturforschung C Biosciences*, 46, 189-193.
- Talledo, D., Arbizu, C., Estrella, J., Franco, T., Guarino, L., Lizárraga, L., et al. (2001). *Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos*. Lima, Perú: BIOGEN, CIP, COSUDE, CRIBA-UNSAAC, INIA, INIAP, IPGRI, PROINPA, UNC.
- Tapia, C., Castillo, R., & Mazón, N. (1996). *Catálogo de recursos genéticos de raíces y tubérculos andinos en Ecuador*. Ecuador: INIAP, DENAREF.
- Tapia, M. (1979). *Manual de Agricultura Andina*. La Paz, Bolivia: IBTA, IICA, SICR-189.
- Tapia, M. E., & Fries, A. M. (2007). *Guía de Campo de los Cultivos Andinos*. Roma/Lima: FAO y ANPE.

- Tawfiq, N., Heaney, R. K., Plumb, J. A., Fenwick, G. R., Musk, S. R., & Williamson, G. (1995). Dietary glucosinolates as blocking agents against carcinogenesis: glucosinolate breakdown products assessed by induction of quinone reductase activity in murine hepa lcl7 cells. *Carcinogenesis*, *16*, 1191-1194.
- Textor, S., & Gershenzon, J. (2009). Herbivore induction of the glucosinolate-myrosinase defense system: major trends, biochemical bases and ecological significance. *Phytochemistry Reviews*, *8*, 149-170.
- Tojo, R., & Leis, R. (2003). Alimentos funcionales. Su papel en la nutrición preventiva y curativa. *Boletín de Pediatría*, *43*, 376-395.
- Travis, C. (1999). *Mashua*. Recuperado el 19 de Abril de 2012, de Ethnobotanical Leaflets - Southern Illinois University Carbondale: <http://opensiuc.lib.siu.edu/ebl/vol1999/iss2/3>
- Urresta, B. O. (2010). *Evaluación del valor nutricional de Mashua (Tropaeolum tuberosum) en dietas para pollos de engorde. Tesis para optar por el Título de Ingeniero Agroindustrial*. Quito, Ecuador: Escuela Politécnica Nacional.
- Valer, K. (2001). *Relaciones estructura-función de la actividad antimicrobiana de isotiocianatos de Tropaeolum tuberosum (mashua) y diversos análogos funcionales sintéticos*. Tesis para obtener la Licenciatura en Química: Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima, Peru.
- Vallejo, F., Tomás-Barberán, F. A., & García-Viguera, C. (2002). Glucosinolate and vitamin C content in edible pars of broccoli florets after domestic cooking. *European Food Research and Technology*, *215*, 310-316.
- Vallejo, F., Tomás-Barberán, F. A., Avente-García, A. G., & García-Viguera, C. (2003). Total and individual glucosinolate contents in inflorescences of eight broccoli cultivars grown under various climatic and fertilization conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *83*(4), 307-313.
- Velazco, P., Cartea, M. E., Gonzáles, C., Vilar, M., & Ordás, A. (2007). Factors affecting the glucosinolate content of kale (*Brassica oleracea* acephala group). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*, 955-962.
- Verkerk, R., & Dekker, M. (2004). Glucosinolates and myrosinase activity in red cabbage (*Brassica oleracea* L. var. Capitata f. rubra DC.) after various microwave treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(24), 7318-7323.
- Verkerk, R., Dekker, M., & Jongen, W. M. (2001). Post-harvest increase of indolyl glucosinolates in response to chopping and storage of Brassica vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *81*, 953-958.

- Verkerk, R., Schreiner, M., Krumbein, A., Ciska, E., Rowland, I., De-Schrijver, R., et al. (2009). Glucosinoides in Brassica vegetables: The influence of the food supply chain on intake, bioavailability and human health. *Molecular Nutrition & Food Research*, *53*, 219-265.
- Verkerk, R., vanderGaag, M. S., Dekker, M., & Jongen, W. M. (1997). Effect of processing conditions on glucosinolates in cruciferous vegetables. *Cancer Letters*, *114*(1-2), 193-194.
- Vig, A. P., Rampal, G., Thind, T. S., & Arora, S. (2009). Bioprotective effects of glucosinolates - A review. *LWT - Food Science and Technology*, *42*, 1561-1572.
- Volden, J., Borge, G. I., Bengtsson, G. B., Hansen, M., Thygesen, I. E., & Wicklund, T. (2008a). Effect of thermal treatment on glucosinolates and antioxidant-related parameters in red cabbage (*Brassica oleracea* L. ssp. capitata f. rubra). *Food Chemistry*, *109*(3), 595-605.
- Volden, J., Wicklund, T., Verkerk, R., & Dekker, M. (2008b). Kinetics of changes in glucosinolate concentrations during long-term cooking of white cabbage (*Brassica oleracea* L. ssp. capitata f. alba). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(6), 2068-2073.
- Wallsgrave, R. M., & Bennett, R. N. (1995). The biosynthesis of Glucosinolates in Brassicas. *Society for Experimental Biology Seminar*. Cambridge: University Press.
- Wathelet, J.-P., Mabon, N., Foucart, M., & Marlier, M. (1996). Influence du blanchiment sur la qualité du chou de Bruxelles (*Brassica oleracea* L cv Gemmifera). *Sciences des Aliments*, *16*, 393-402.
- Wattenberg, L. W. (1977). Inhibition of carcinogenic effects of polycyclic hydrocarbons by benzyl isothiocyanate and related compounds. *Journal of the National Cancer Institute*, *58*, 395-398.
- Wattenberg, L. W. (1981). Inhibition of carcinogenic-induced neoplasia by sodium cyanate, tert-butylisocyanate and benzyl isothiocyanate administered subsequent to carcinogen exposure. *Cancer Research*, *41*, 2991-2994.
- Yábar, E., Pedreschi, R., Chiriinos, R., & Campos, D. (2011). Glucosinolate content and myrosinase activity evolution in three maca (*Lepidium meyenii* Walp.) ecotypes during preharvest, harvest and postharvest drying. *Food Chemistry*, *127*, 1576-1583.
- Yuan, G.-F., Sun, B., Yuan, J., & Wang, Q.-m. (2009). Effects of different cooking methods on health-promoting compounds of broccoli. *Journal of Zhejiang University Science B*, *10*(8), 580-588.

Zhang, Y. (2004). Cancer-preventive isothiocyanates: measurement of human exposure and mechanism of action. *Mutation Research*, 555, 173-190.

Zhang, Y., Li, J., & Tang, L. (2005). Cancer-preventive isothiocyanates: dichotomous modulators of oxidative. *Free Radical Biology & Medicine*, 38, 70-77.





ANEXOS

Anexo 1. Popularidad de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón en el tiempo.

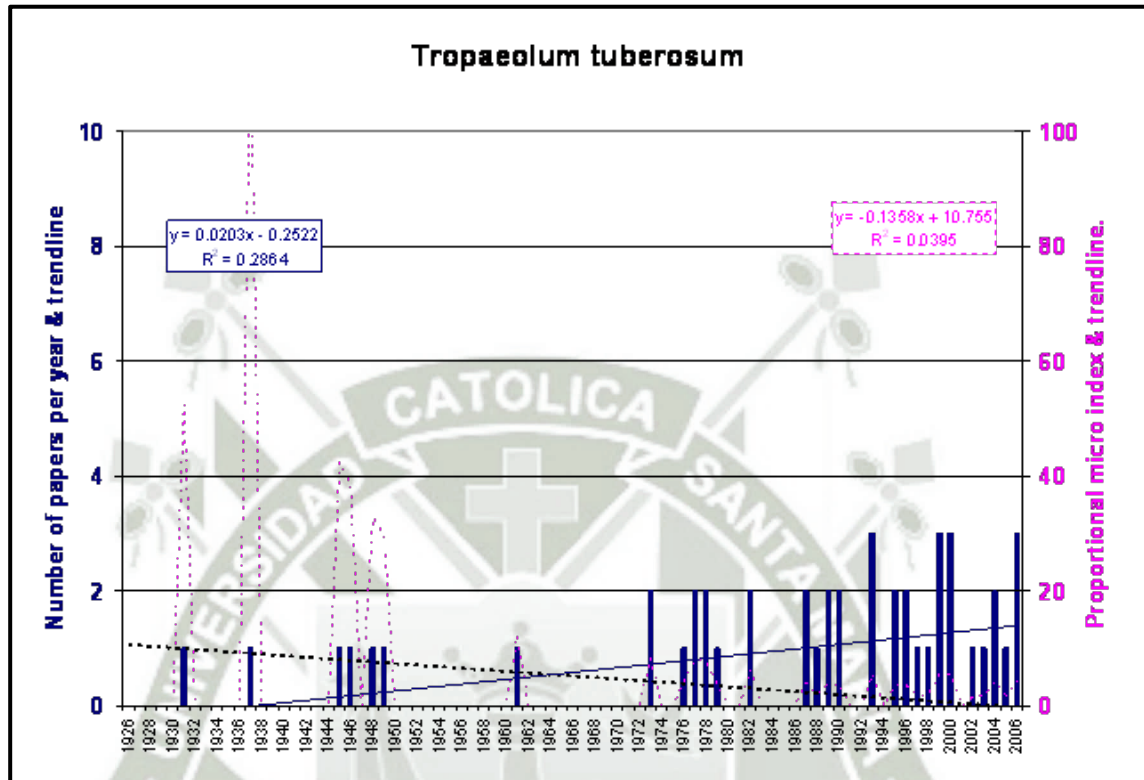


Figura 11. Popularidad de *Tropaeolum tuberosum* en el tiempo.

Gráfico del número de papers que mencionan a *Tropaeolum tuberosum* (histograma de columnas, escala del eje izquierdo) y línea de mejor ajuste, de 1926 a 2006 (línea completa, ecuación y % de variación en el cuadro de la izquierda); Gráfico de un micro índice proporcional, derivado del número de papers que citan a *Tropaeolum tuberosum* como una proporción (escalado multiplicando por un millón) del número total de artículos publicados en ese año (polígono de frecuencias con línea punteada, escala a la derecha) y línea de mejor ajuste, de 1926 a 2006 (línea punteada, ecuación y % de variación en el cuadro de la derecha).

Fuente: ANCW (2008).

Anexo 2. Variedades de Mashua estudiadas.



Figura 12. Variedades de mashua utilizadas en la presente investigación: variedad morada (izquierda inferior), variedad amarilla (derecha inferior).

Anexo 3. DEAE Sephadex A-25

Preparación del Medio

Pesar la cantidad necesaria de polvo seco y suspenderlo en el buffer de unión.

Tener en cuenta que el factor de hinchamiento depende del tampón usado.

Como pauta general, 1 g de polvo seco de DEAE Sephadex A-25 da aproximadamente 25 ml de volumen final de medio, cuando se utiliza buffer de solución salina.

Los intercambiadores de iones Sephadex deben ser hinchados en el pH que será utilizado en el experimento.

El hinchamiento completo toma 1-2 días a temperatura ambiente o 2 horas, a 100 ° C, sobre agua hirviendo. El hinchamiento a alta temperatura también sirve para desairear el medio.

La agitación vigorosa, por ejemplo, con un agitador magnético, se debe evitar para no dañar las partículas. Se agita la cantidad requerida de intercambiador de iones en un exceso de tampón de unión.

El buffer de unión debe contener el mismo ion que el originalmente presente en el intercambiador de iones.

Después del hinchamiento inicial, elimine el sobrenadante y lave el intercambiador iónico extensamente en un embudo Büchner con el buffer de unión.

Prepare una suspensión con buffer de unión en una proporción de 75% de medio a 25% de buffer.

El buffer de unión no debe contener agentes que incrementen significativamente la viscosidad. La columna puede ser equilibrada con tampones viscosos a velocidades de flujo reducidas después de que el empaque se haya completado.

Anexo 4. Enzima Sulfatasa de *Helix pomatia*.

Preparación de la Enzima Sulfatasa

Pesar 100 mg. de enzima sulfatasa.

Disolver en 4.3 ml de agua desionizada y evitar la formación de espuma.

Mezclar con 4.3 ml de etanol absoluto.

Agitar suavemente.

Centrifugar a 4000 RPM durante 15 minutos.

Conservar el precipitado (P1).

Adicionar 12.8 ml de etanol absoluto al sobrenadante.

Agitar suavemente.

Centrifugar a 3500 RPM por 15 minutos.

Conservar el precipitado (P2).

Disolver ambos precipitados (P1 y P2) en 3.6 ml de agua desionizada.

Dividir la enzima en viales independientes con 100-103 ul de enzima cada uno.

Almacenar a -20°C.

Anexo 5. Caracterización de los glucosinolatos identificados en los ecotipos amarillo y morado de mashua cosechada (fresca).

Tabla 35. Caracterización de los glucosinolatos identificados ambos ecotipos de mashua fresca.

Nombre Sistemático*	Nombre Trivial	Naturaleza*	Fórmula Molecular*	Peso Molecular (g/mol)*	Factor de Respuesta Relativo**
5-Metilsulfinilpentil glucosinolato	Glucoalyssin	Alifática	C ₁₃ H ₂₅ NO ₁₀ S ₃	451.53	0.9
4-Hidroxibencil glucosinolato	Glucosinalbin	Aromática	C ₁₄ H ₁₉ NO ₁₀ S ₂	425.43	0.5
4-Hidroxi-3-indolimetil glucosinolato	4-Hydroxyglucobrassicin	Indólica	C ₁₆ H ₂₀ N ₂ O ₁₀ S ₂	464.47	0.28
Bencil glucosinolato	Glucotropaeolin	Aromática	C ₁₄ H ₁₉ NO ₉ S ₂	409.43	0.95
4-Metoxibencil glucosinolato	Glucoaubrietin	Aromática	C ₁₅ H ₂₁ NO ₁₀ S ₂	439.46	1

Fuente: * Glucoalyssin (NCBI, Pubchem Compound: Glucoalyssin, 2011), Glucosinalbin (NCBI, Pubchem Compound: Glucosinalbin, 2011), 4-Hydroxyglucobrassicin (NCBI, Pubchem Compound: 4-Hydroxyglucobrassicin, 2012), Glucotropaeolin (NCBI, Pubchem Compound: Glucotropaeolin, 2011), Glucoaubrietin (NCBI, Pubchem Compound: Glucoaubrietin, 2011).

** Glucoalyssin: (Brown, Tokuhisa, Reichelt, & Gershenzon, 2003); Glucosinalbin: (McGregor 1985, Haughn et al. 1991, Griffiths et al., 2000); 4-Hydroxyglucobrassicin, Glucotropaeolin: (EC 1990, Haughn et al. 1991, Griffiths et al., 2000, Buchner 1987, Brown et al. 2003,), Glucoaubrietin: (EC, 1990).

Anexo 6. Estructuras 2D y 3D de los glucosinatos identificados en los ecotipos amarillo y morado de mashua cosechada (fresca).

Tabla 36. Estructura básica común a todos los glucosinatos.

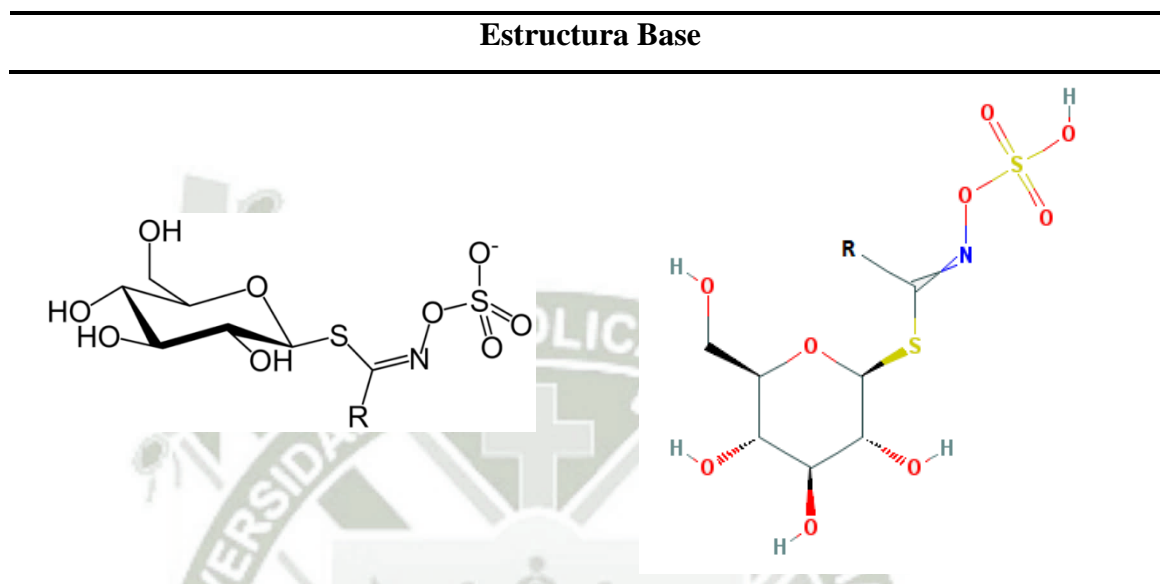
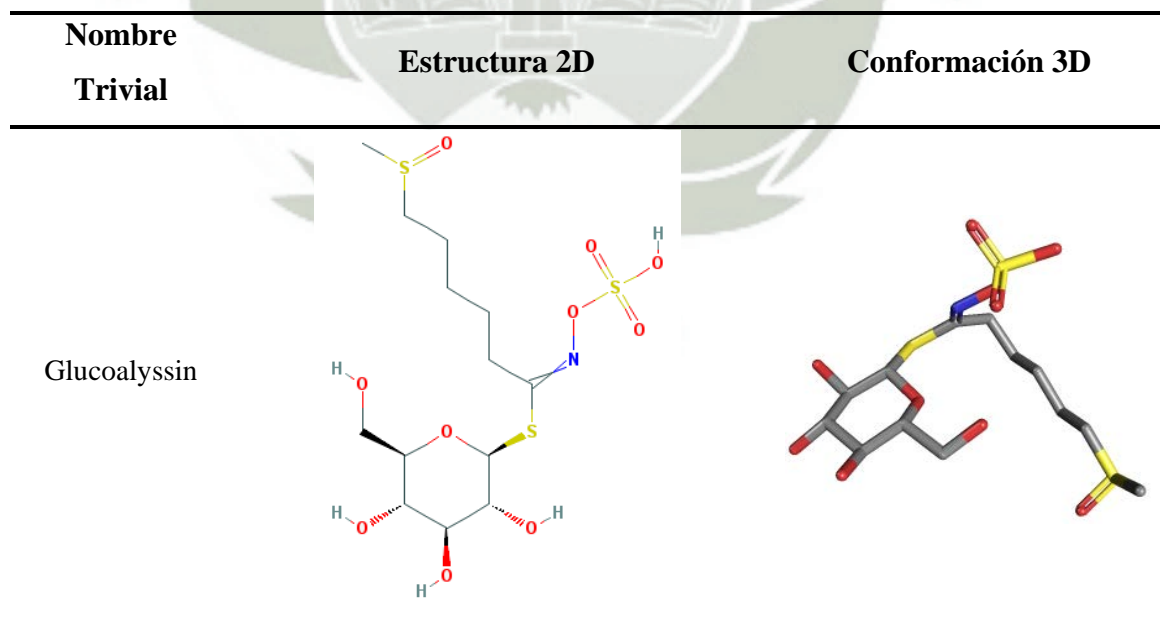
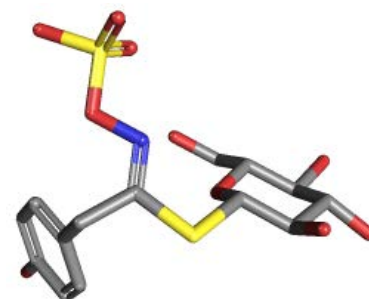
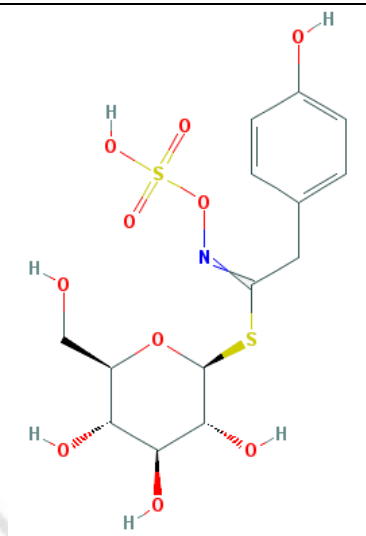


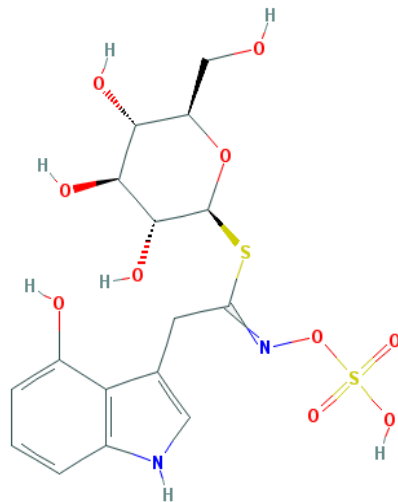
Tabla 37. Estructuras 2D y Conformación 3D para cada uno de los glucosinatos identificados en los ecotipos amarillo y morado de mashua fresca.



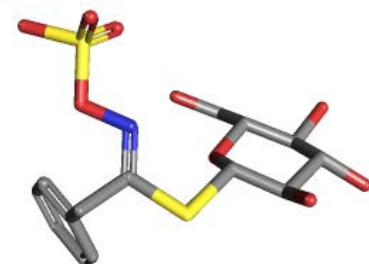
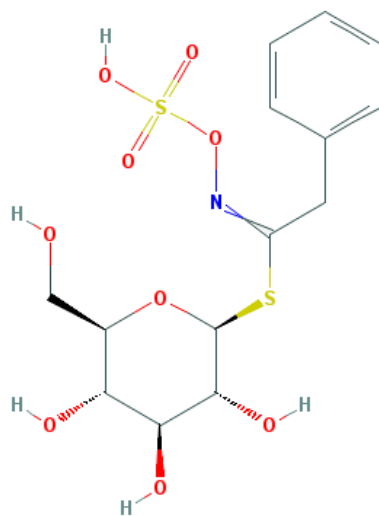
Glucosinalbin



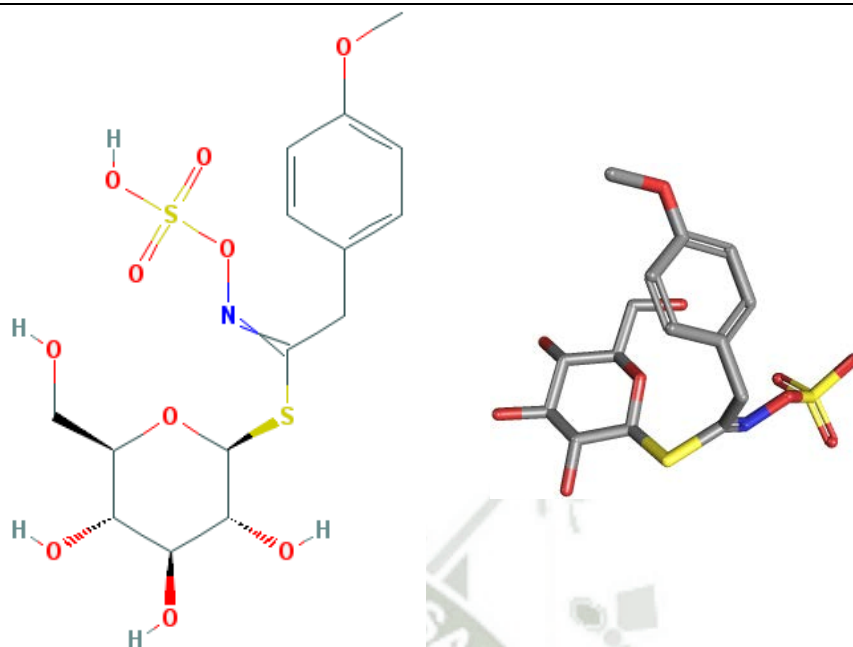
4-
Hydroxygluco
brassicin



Glucotropaeolin



Glucoaubrietin



Fuente: Glucoalyssin (NCBI, Pubchem Compound: Glucoalyssin, 2011), Glucosinalbin (NCBI, Pubchem Compound: Glucosinalbin, 2011), 4-Hydroxyglucobrassicin (NCBI, Pubchem Compound: 4-Hydroxyglucobrassicin, 2012), Glucotropaeolin (NCBI, Pubchem Compound: Glucotropaeolin, 2011), Glucoaubrietin (NCBI, Pubchem Compound: Glucoaubrietin, 2011).

Anexo 7. Contraste de tiempos de retención para la identificación de GSL en Mashua.

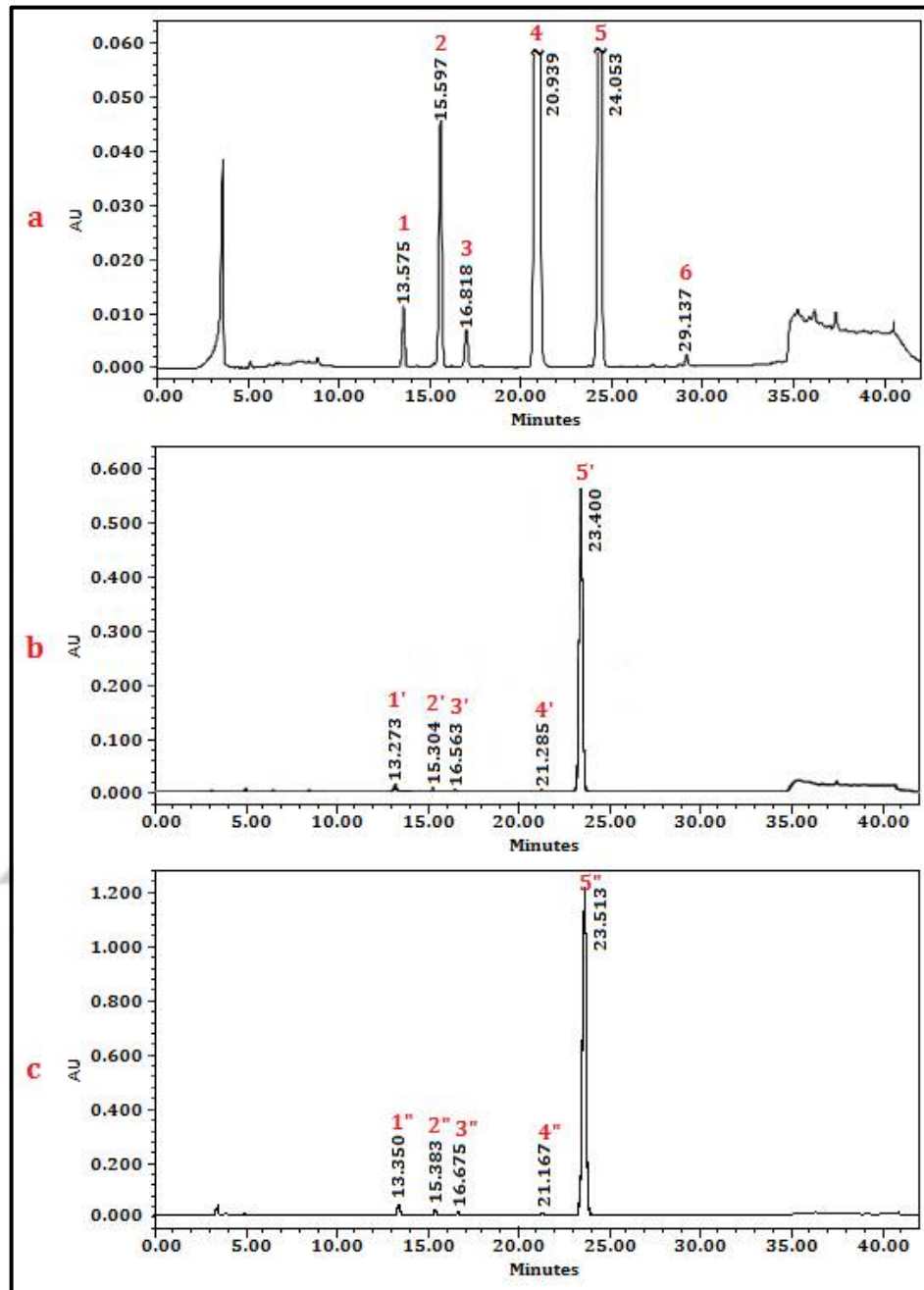
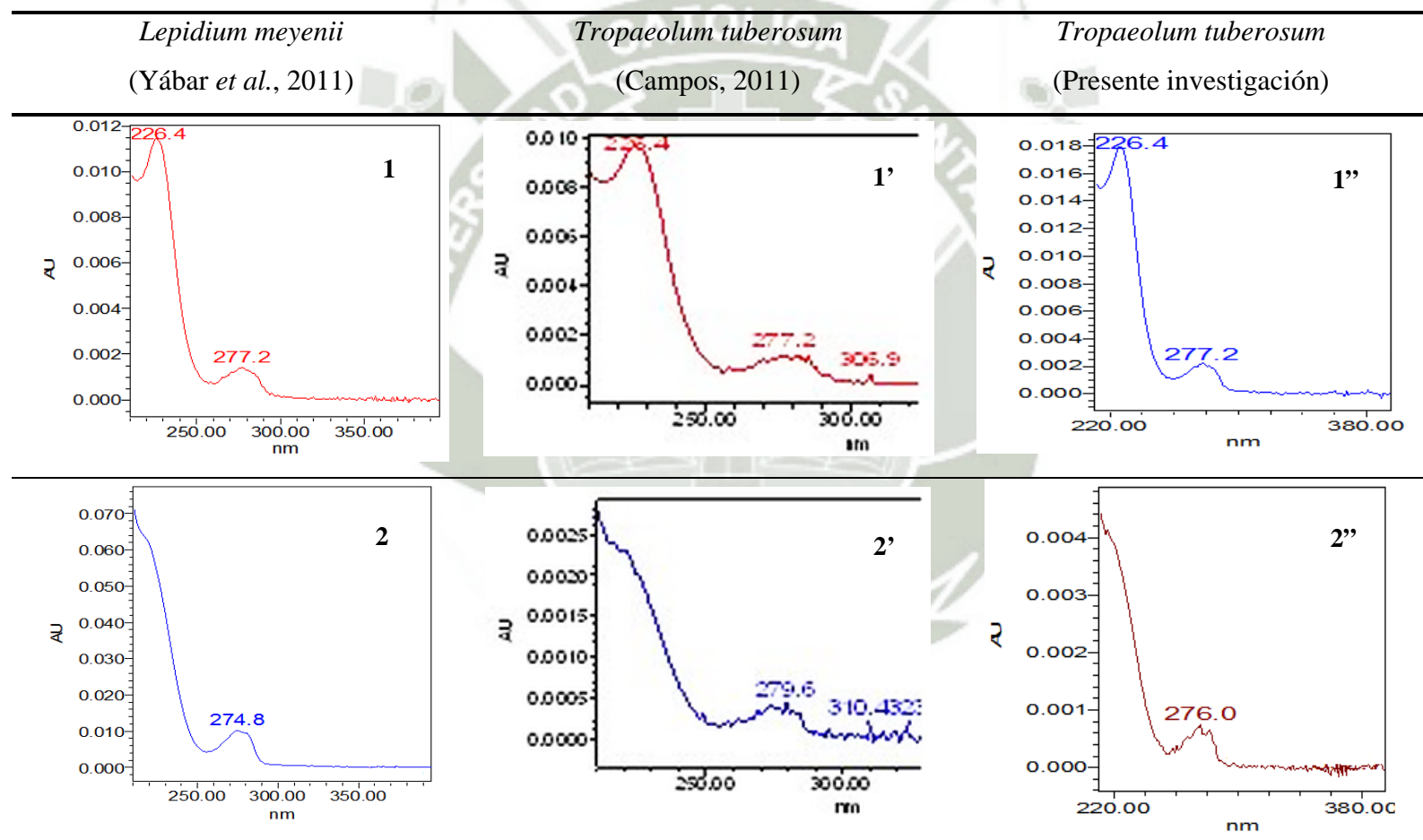
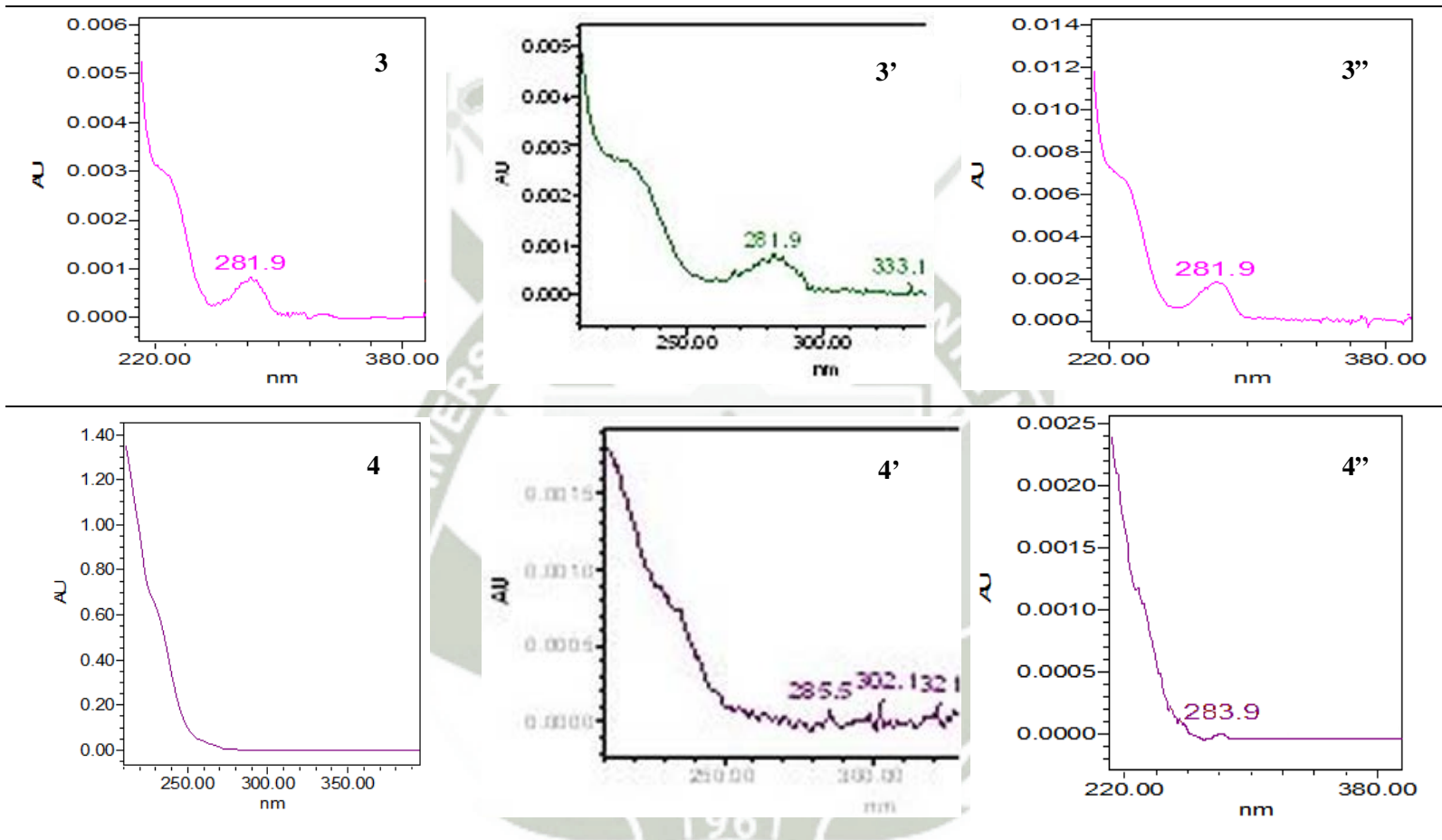


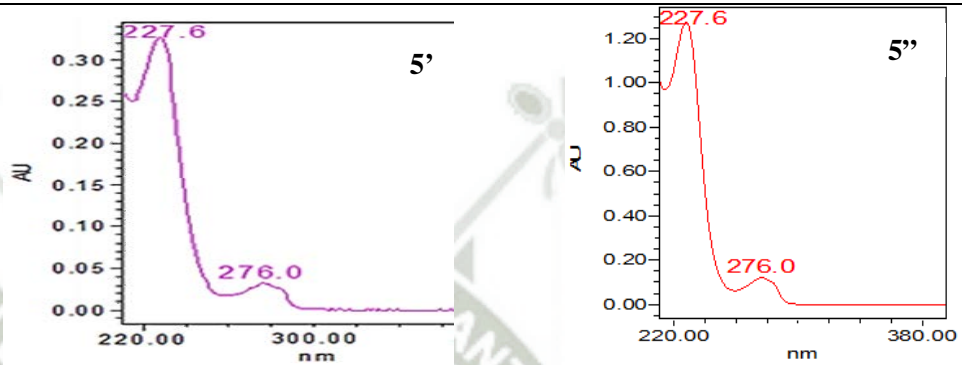
Figura 13. Perfiles HPLC para la identificación de glucosinolatos mediante el contraste de tiempos de retención. (a) Maca (Yábar *et al.*, 2011), (b) Mashua (Campos, 2011), (c) Mashua (presente investigación). (1, 1', 1'') Glucoalyssin; (2, 2', 2'') Glucosinalbin; (3, 3', 3'') 4-Hydroxyglucobrassicin; (4, 4', 4'') Glucotropaeolin; (5', 5'') Glucoaubrietin; (5) Glucolimnathin (solo en maca); (6) 4-Methoxyglucobrassicin (solo en maca).

Anexo 8. Contraste de espectros de absorción para la identificación de GSL en Mashua.

Tabla 38. Esquema comparativo de los espectros de absorción en maca (Yábar, Pedreschi, Chiriinos, & Campos, 2011) y mashua (Campos, 2011) con los espectros de absorción obtenidos para mashua en la presente investigación.







Picos: (1, 1', 1'') Glucoalyssin; (2, 2', 2'') Glucosinalbin; (3, 3', 3'') 4-Hydroxyglucobrassicin; (4, 4', 4'') Glucotropaeolin; (5', 5'') Glucoaubrietin.

Anexo 9. Identificación de Glucoaubrietin en variedades domésticas de tubérculos de Mashua, reportado por Ramallo *et al.* (2004).

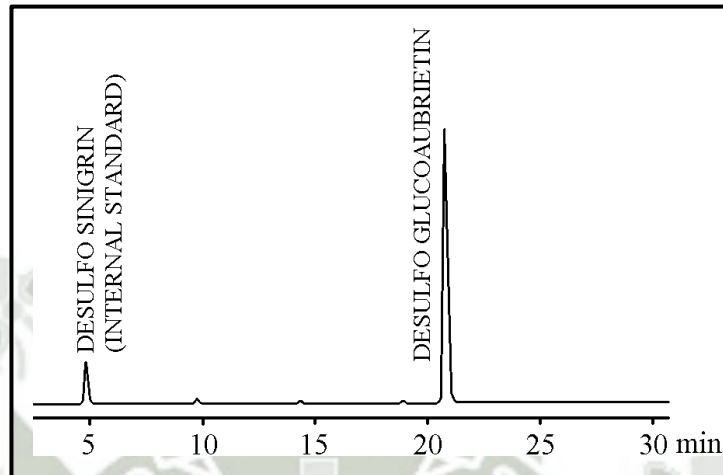


Figura 14. Perfil HPLC de Glucosinatos desulfatados de variedades domésticas de tubérculos de Mashua, reportado por Ramallo *et al.* (2004).

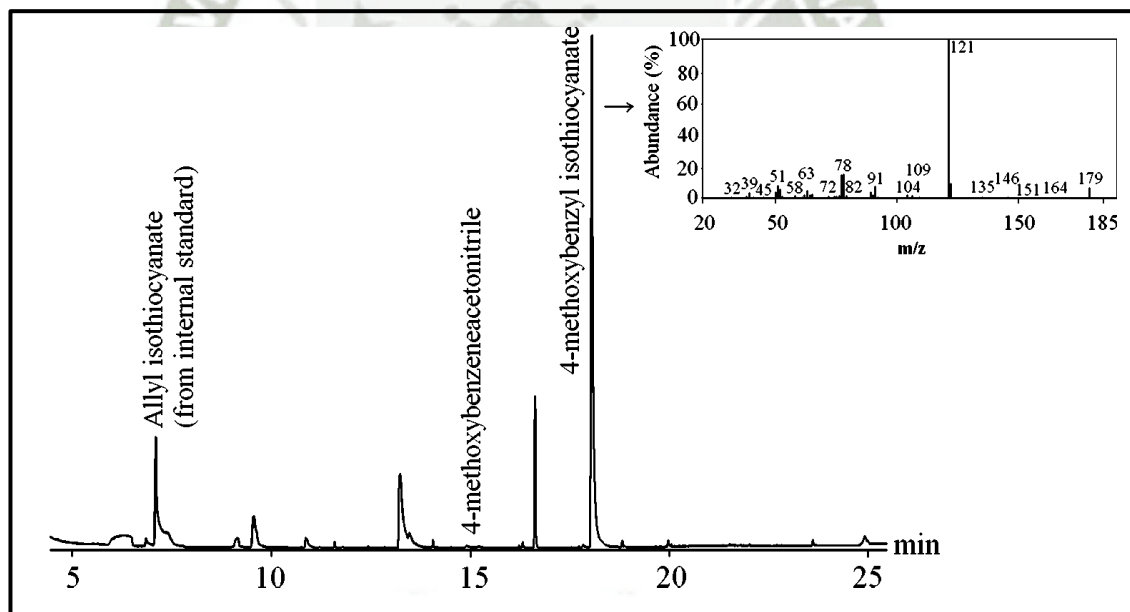


Figura 15. Perfil CG de los productos de degradación de los Glucosinatos en tubérculos de Mashua y Espectro de Masa (recuadro interior) del p-metoxibencil isotiocianato, reportado por Ramallo *et al.* (2004).

Anexo 10. Análisis de varianza multifactorial para el contenido de glucosinolatos totales e individuales en mashua, variedad amarilla.

Tabla 39. ANOVA multifactorial para el contenido de glucosinolatos totales en mashua, variedad amarilla.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamiento de Blanqueado	10514.1	1	10514.1	685.27	0.0000
B:Estado del Tubérculo	2701.35	1	2701.35	176.06	0.0000
C:Tiempo de Blanqueado	5462.5	3	1820.83	118.67	0.0000
D:Temperatura de Secado	1423.97	1	1423.97	92.81	0.0000
INTERACCIONES					
AB	3286.82	1	3286.82	214.22	0.0000
AC	16843.8	3	5614.59	365.93	0.0000
AD	2104.32	1	2104.32	137.15	0.0000
BC	1018.54	3	339.515	22.13	0.0000
BD	657.118	1	657.118	42.83	0.0000
CD	4709.83	3	1569.94	102.32	0.0000
ABC	1836.51	3	612.168	39.90	0.0000
ABD	266.832	1	266.832	17.39	0.0001
ACD	1429.45	3	476.483	31.06	0.0000
BCD	544.338	3	181.446	11.83	0.0000
ABCD	737.896	3	245.965	16.03	0.0000
RESIDUOS	1472.95	96	15.3432		
TOTAL (CORREGIDO)	55010.3	127			

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

*Número de casos: 128

Tabla 40. ANOVA multifactorial para el contenido de Glucoalyssin en mashua, variedad amarilla.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamiento de Blanqueado	6.09481	1	6.09481	687.73	0.0000
B:Estado del Tubérculo	0.57287	1	0.57287	64.64	0.0000
C:Tiempo de Blanqueado	1.74712	3	0.58237	65.71	0.0000
D:Temperatura de Secado	0.00008	1	0.00008	0.01	0.9238
INTERACCIONES					
AB	0.59734	1	0.59734	67.40	0.0000
AC	3.14929	3	1.04976	118.45	0.0000
AD	0.15999	1	0.15999	18.05	0.0000
BC	0.22720	3	0.07573	8.55	0.0000
BD	0.1268	1	0.1268	14.31	0.0003
CD	0.66620	3	0.22207	25.06	0.0000
ABC	0.27628	3	0.09209	10.39	0.0000
ABD	0.05608	1	0.05608	6.33	0.0135
ACD	0.33313	3	0.11104	12.53	0.0000
BCD	0.09089	3	0.03030	3.42	0.0204
ABCD	0.07145	3	0.02382	2.69	0.0508
RESIDUOS	0.85077	96	0.00886		
TOTAL (CORREGIDO)	15.0203	127			

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

*Número de casos: 128

Tabla 41. ANOVA multifactorial para el contenido de Glucosinalbin en mashua, variedad amarilla.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamiento de Blanqueado	0.0571938	1	0.0571938	125.19	0.0000
B:Estado del Tubérculo	0.00192588	1	0.00192588	4.22	0.0428
C:Tiempo de Tratamiento	0.0206429	3	0.00688097	15.06	0.0000
D:Temperatura de Secado	0.000429611	1	0.000429611	0.94	0.3346
INTERACCIONES					
AB	0.00133451	1	0.00133451	2.92	0.0907
AC	0.0332035	3	0.0110678	24.23	0.0000
AD	0.00356907	1	0.00356907	7.81	0.0063
BC	0.00070778	3	0.000235927	0.52	0.6720
BD	0.00159542	1	0.00159542	3.49	0.0647
CD	0.0101172	3	0.00337241	7.38	0.0002
ABC	0.00180215	3	0.000600716	1.31	0.2741
ABD	0.00179026	1	0.00179026	3.92	0.0506
ACD	0.00345961	3	0.0011532	2.52	0.0622
BCD	0.00599697	3	0.00199899	4.38	0.0062
ABCD	0.00380146	3	0.00126715	2.77	0.0456
RESIDUOS	0.043859	96	0.000456865		
TOTAL (CORREGIDO)	0.191429	127			

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

*Número de casos: 128

Tabla 42. ANOVA multifactorial para el contenido de 4-Hydroxyglucobrassicin en mashua, variedad amarilla.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamiento de Blanqueado	0.044186	1	0.04419	918.75	0.0000
B:Estado del Tubérculo	0.009941	1	0.00994	206.69	0.0000
C:Tiempo de Blanqueado	0.016465	3	0.00549	114.11	0.0000
D:Temperatura de Secado	0.003058	1	0.00306	63.58	0.0000
INTERACCIONES					
AB	0.009055	1	0.00906	188.28	0.0000
AC	0.042735	3	0.01425	296.19	0.0000
AD	0.003598	1	0.00360	74.80	0.0000
BC	0.003953	3	0.00132	27.40	0.0000
BD	0.001060	1	0.00106	22.05	0.0000
CD	0.011099	3	0.00370	76.93	0.0000
ABC	0.004110	3	0.00137	28.49	0.0000
ABD	0.001226	1	0.00123	25.50	0.0000
ACD	0.004929	3	0.00164	34.17	0.0000
BCD	0.001135	3	0.00038	7.87	0.0001
ABCD	0.001802	3	0.00060	12.49	0.0000
RESIDUOS	0.004617	96	0.00005		
TOTAL (CORREGIDO)	0.162968	127			

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

*Número de casos: 128

Tabla 43. ANOVA multifactorial para el contenido de Glucotropaeolin en mashua, variedad amarilla.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamiento de Blanqueado	0.01035	1	0.01035	182.00	0.0000
B:Estado del Tubérculo	0.00139	1	0.00139	24.50	0.0000
C:Tiempo de Blanqueado	0.00866	3	0.00289	50.74	0.0000
D:Temperatura de Secado	0.00096	1	0.00096	16.84	0.0001
INTERACCIONES					
AB	0.00139	1	0.00139	24.50	0.0000
AC	0.00866	3	0.00289	50.74	0.0000
AD	0.00096	1	0.00096	16.84	0.0001
BC	0.00080	3	0.00027	4.68	0.0043
BD	0.00027	1	0.00027	4.80	0.0308
CD	0.00143	3	0.00048	8.38	0.0001
ABC	0.00080	3	0.00027	4.68	0.0043
ABD	0.00027	1	0.00027	4.80	0.0308
ACD	0.00143	3	0.00048	8.38	0.0001
BCD	0.00132	3	0.00044	7.72	0.0001
ABCD	0.00132	3	0.00044	7.72	0.0001
RESIDUOS	0.00546	96	0.00006		
TOTAL (CORREGIDO)	0.04548	127			

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

*Número de casos: 128

Tabla 44. ANOVA multifactorial para el contenido de Glucoaubrietin en mashua, variedad amarilla.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamiento de Blanqueado	9903.96	1	9903.96	674.09	0.0000
B:Estado del Tubérculo	2604.75	1	2604.75	177.29	0.0000
C:Tiempo de Blanqueado	5219.36	3	1739.79	118.41	0.0000
D:Temperatura de Secado	1419.89	1	1419.89	96.64	0.0000
INTERACCIONES					
AB	3179.72	1	3179.72	216.42	0.0000
AC	16285.6	3	5428.52	369.48	0.0000
AD	2054.09	1	2054.09	139.81	0.0000
BC	986.537	3	328.846	22.38	0.0000
BD	634.497	1	634.497	43.19	0.0000
CD	4573.72	3	1524.57	103.77	0.0000
ABC	1781.39	3	593.796	40.42	0.0000
ABD	256.138	1	256.138	17.43	0.0001
ACD	1387.02	3	462.34	31.47	0.0000
BCD	527.688	3	175.896	11.97	0.0000
ABCD	717.714	3	239.238	16.28	0.0000
RESIDUOS	1410.46	96	14.6923		
TOTAL (CORREGIDO)	52942.5	127			

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

*Número de casos: 128

Anexo 11. Gráficos de Dispersión y Gráficos de Medias para mashua, variedad amarilla

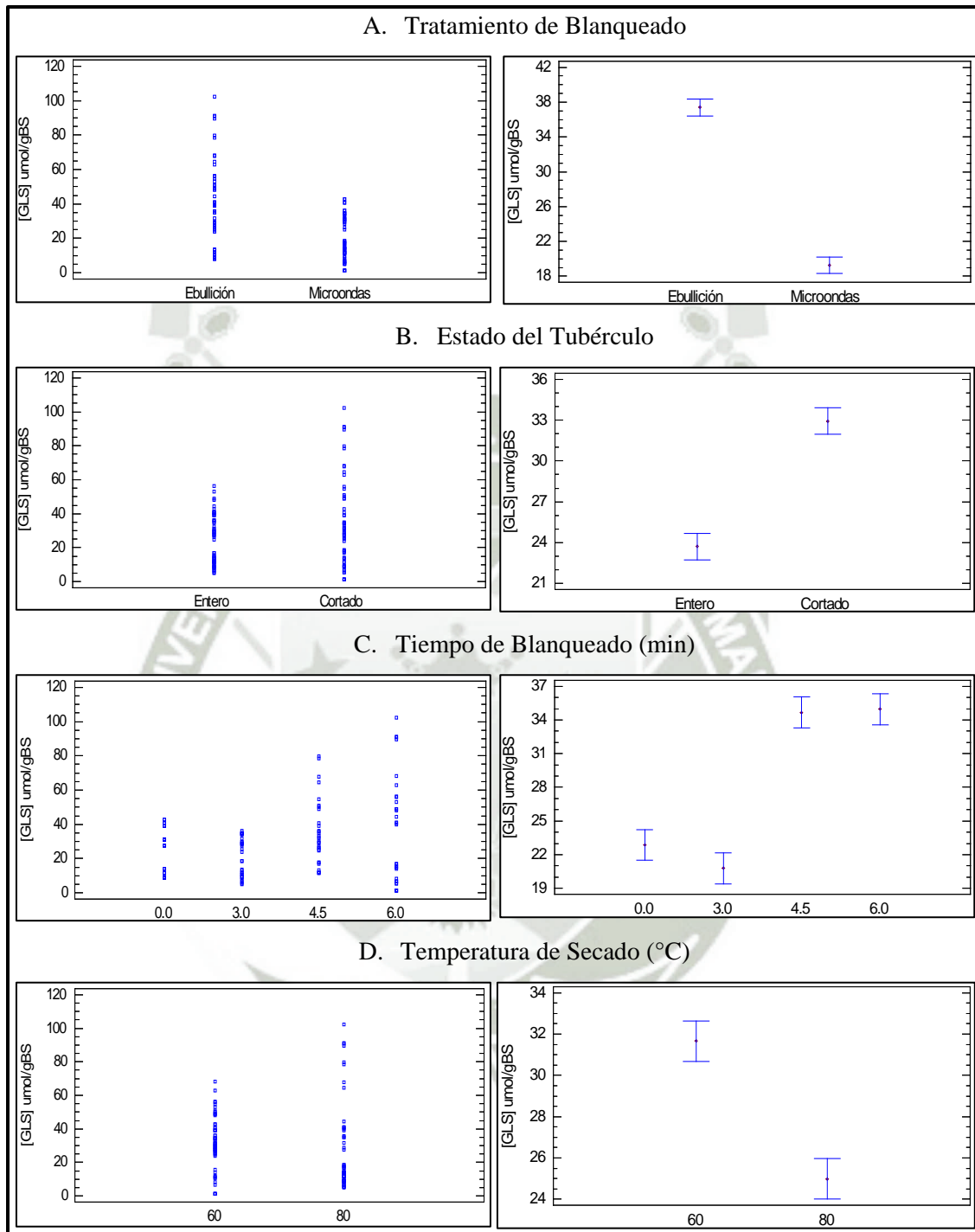


Figura 16. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de GSL totales en mashua amarilla.

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

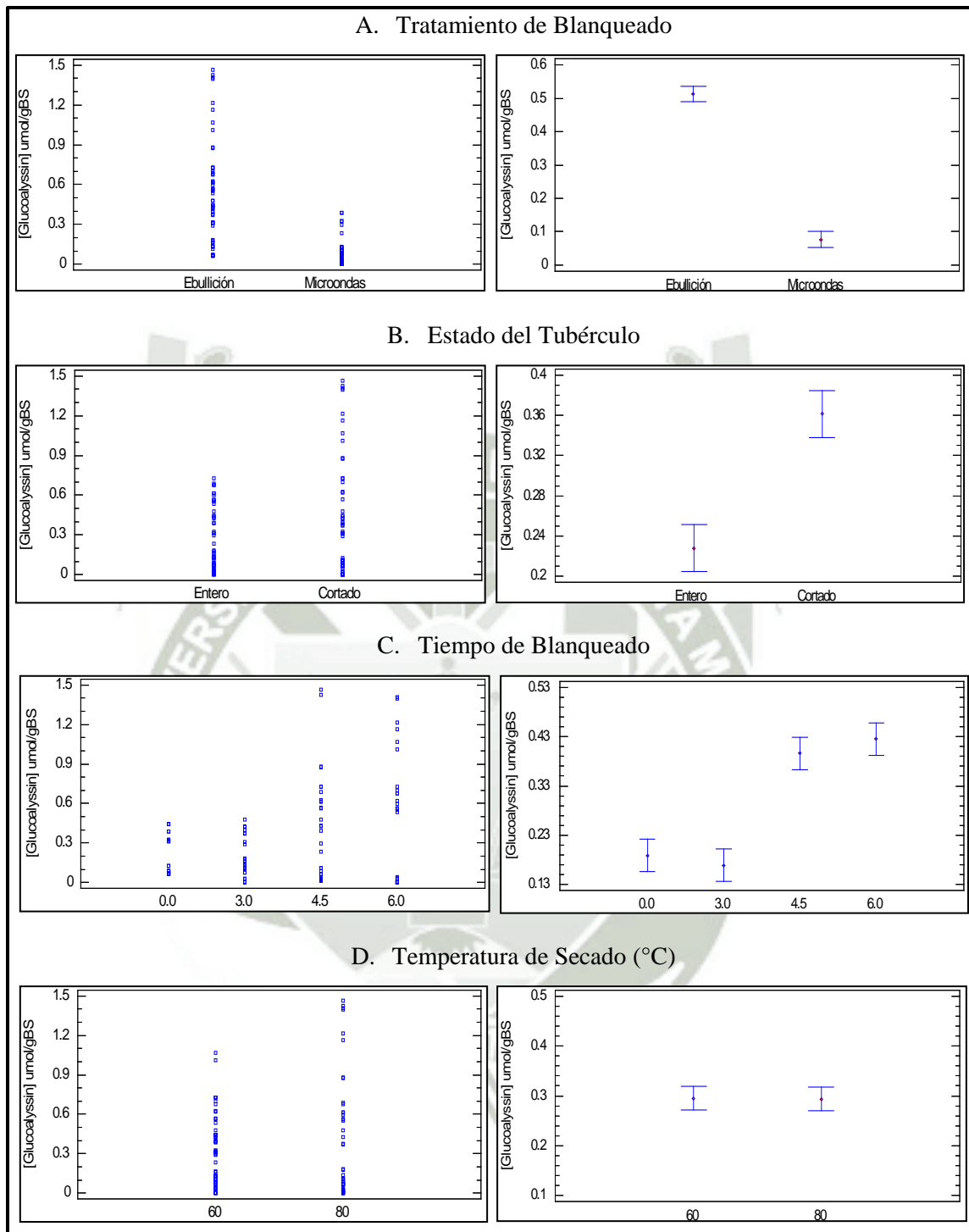


Figura 17. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucoalyssin en mashua amarilla.

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

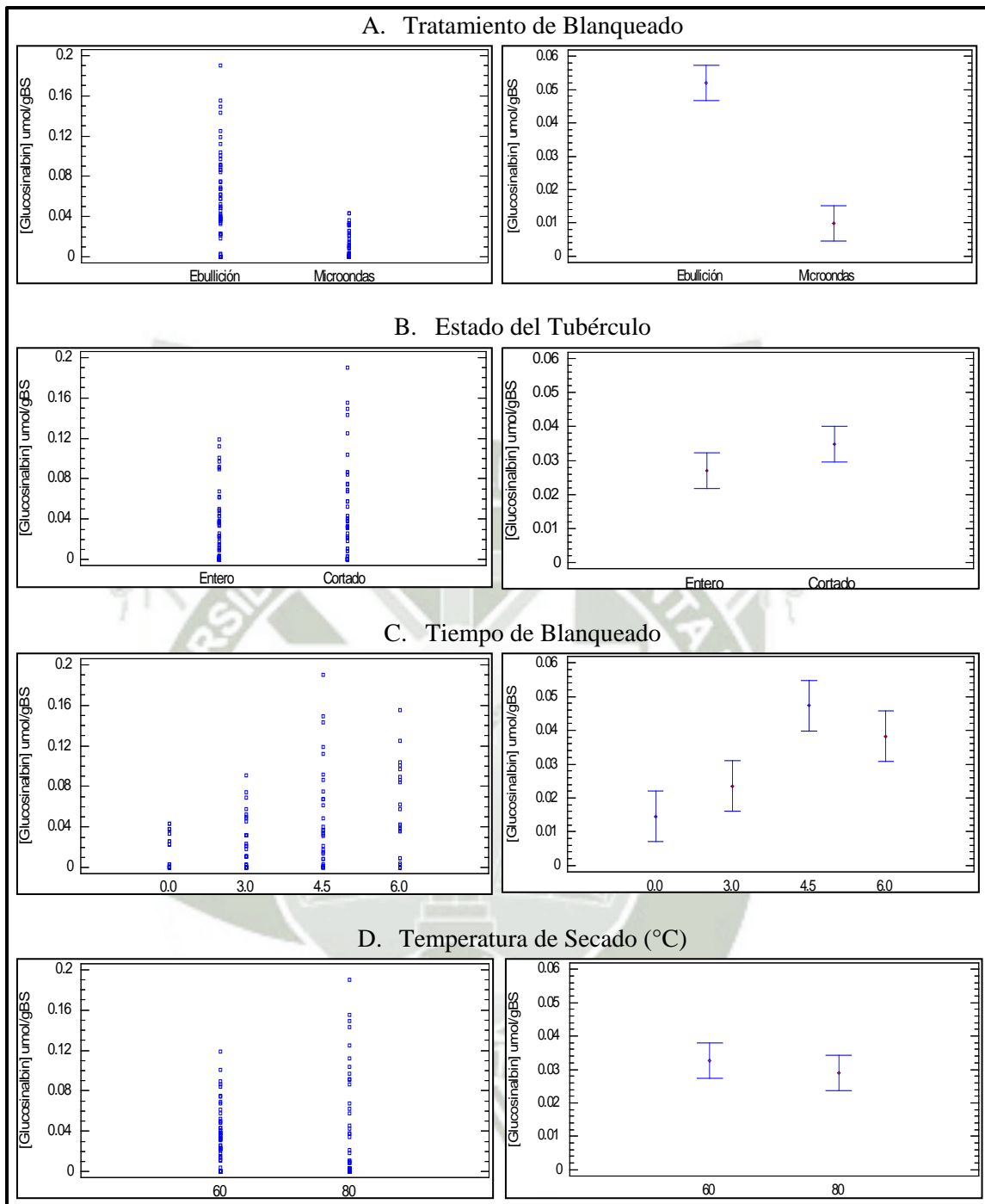


Figura 18. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucosinabin en mashua amarilla.

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

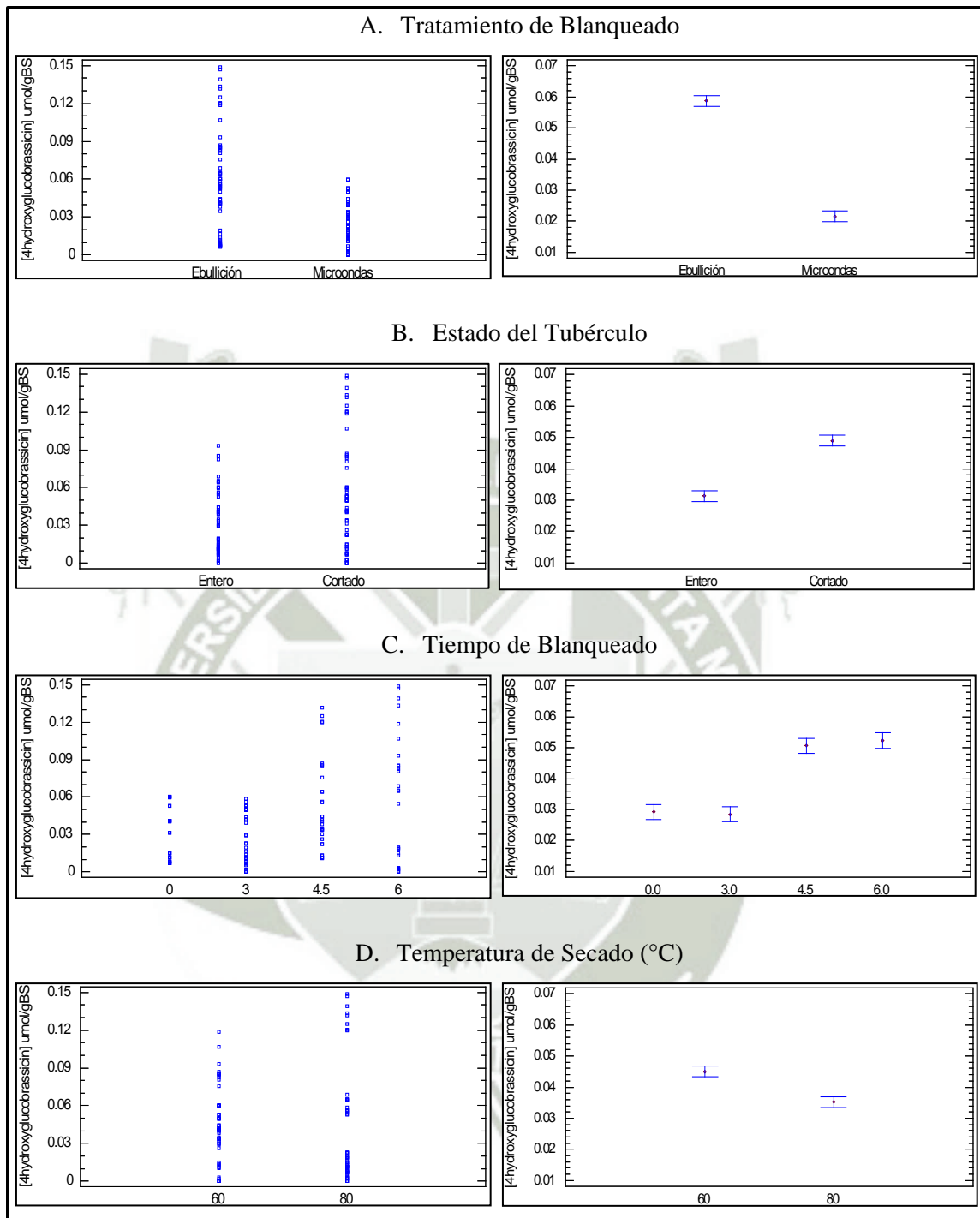


Figura 19. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de 4-Hydroxyglucobrassicin en mashua amarilla.

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

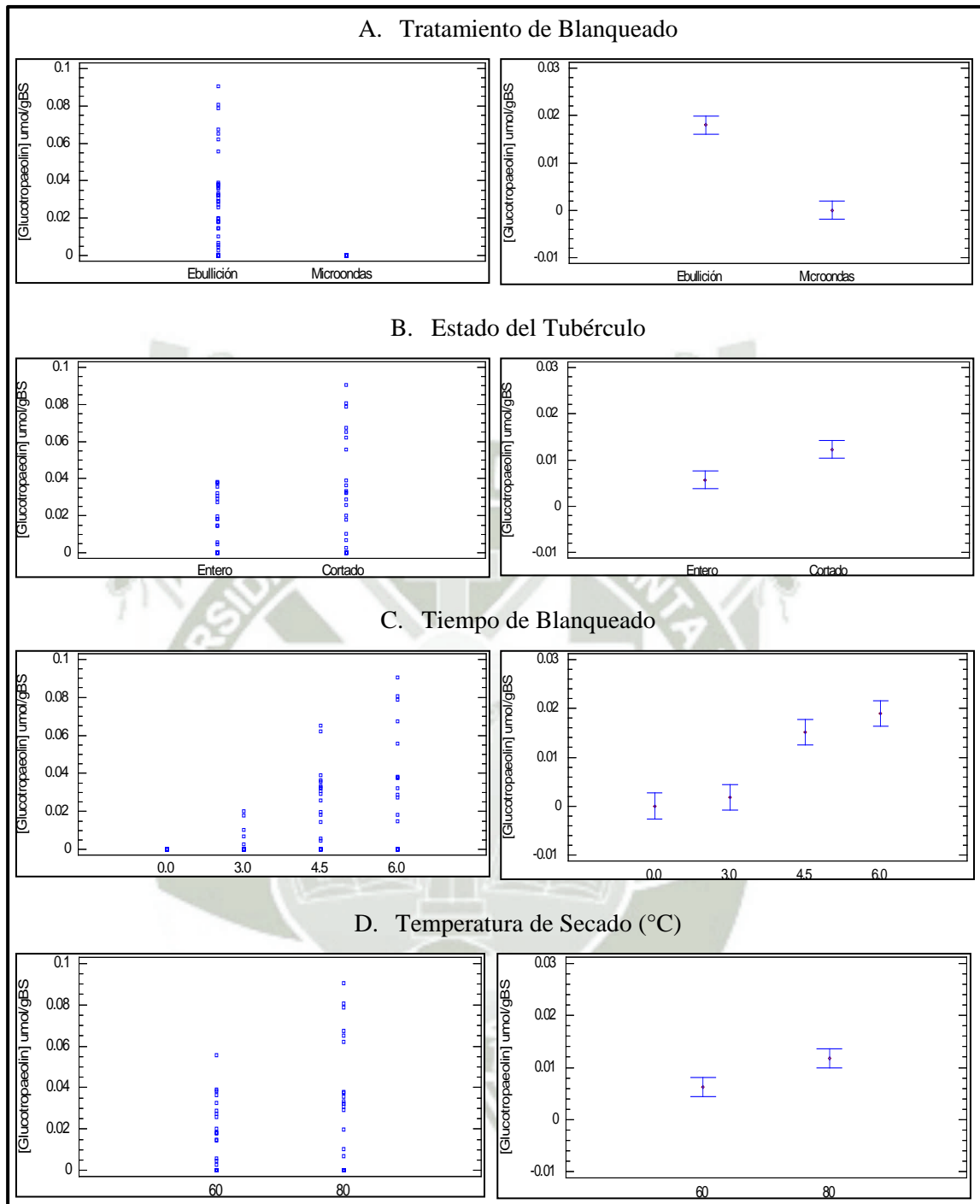


Figura 20. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucotropaeolin en mashua amarilla.

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

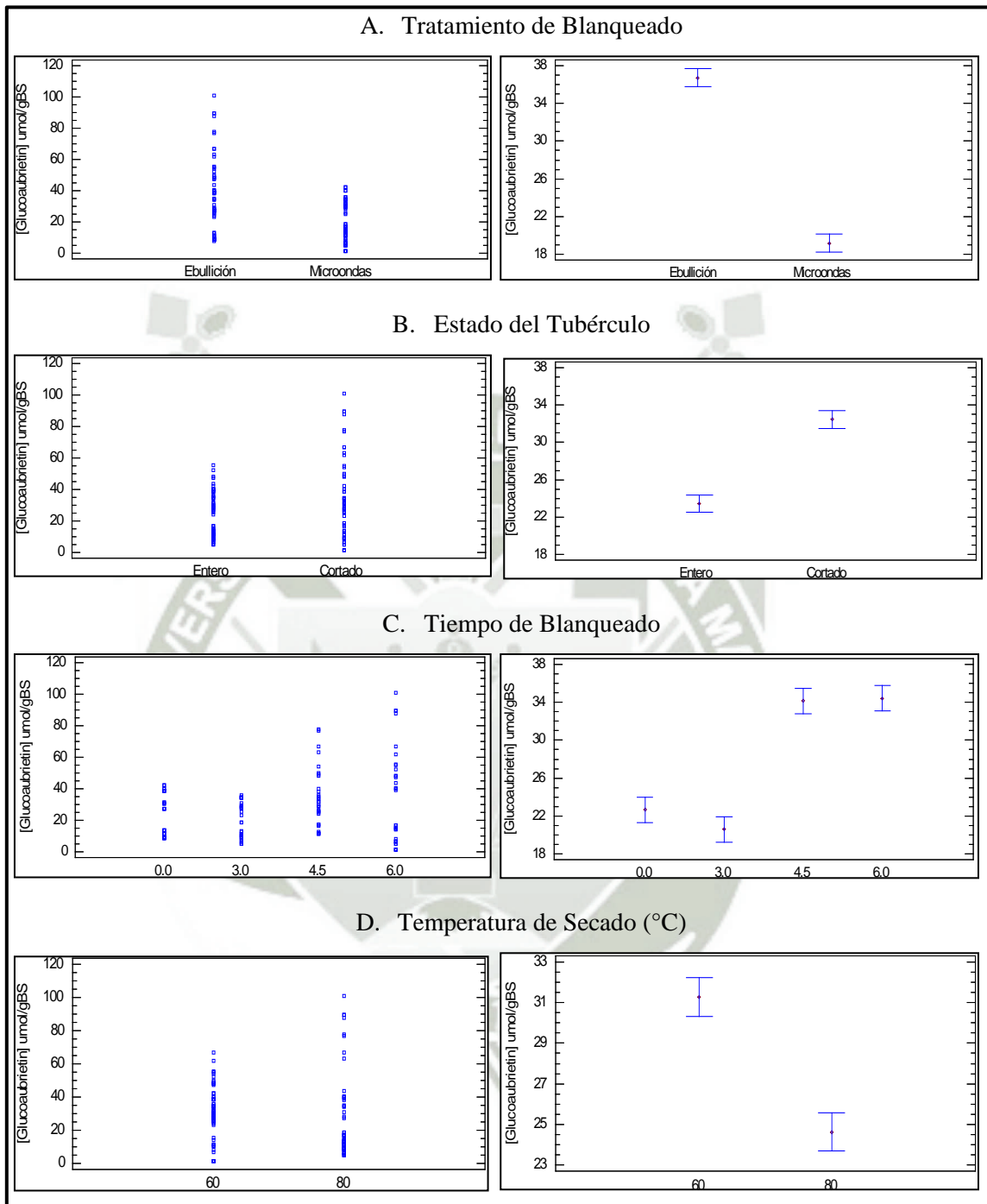


Figura 21. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucoabrietin en mashua amarilla.

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

Anexo 12. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza 95% para mashua, variedad amarilla.

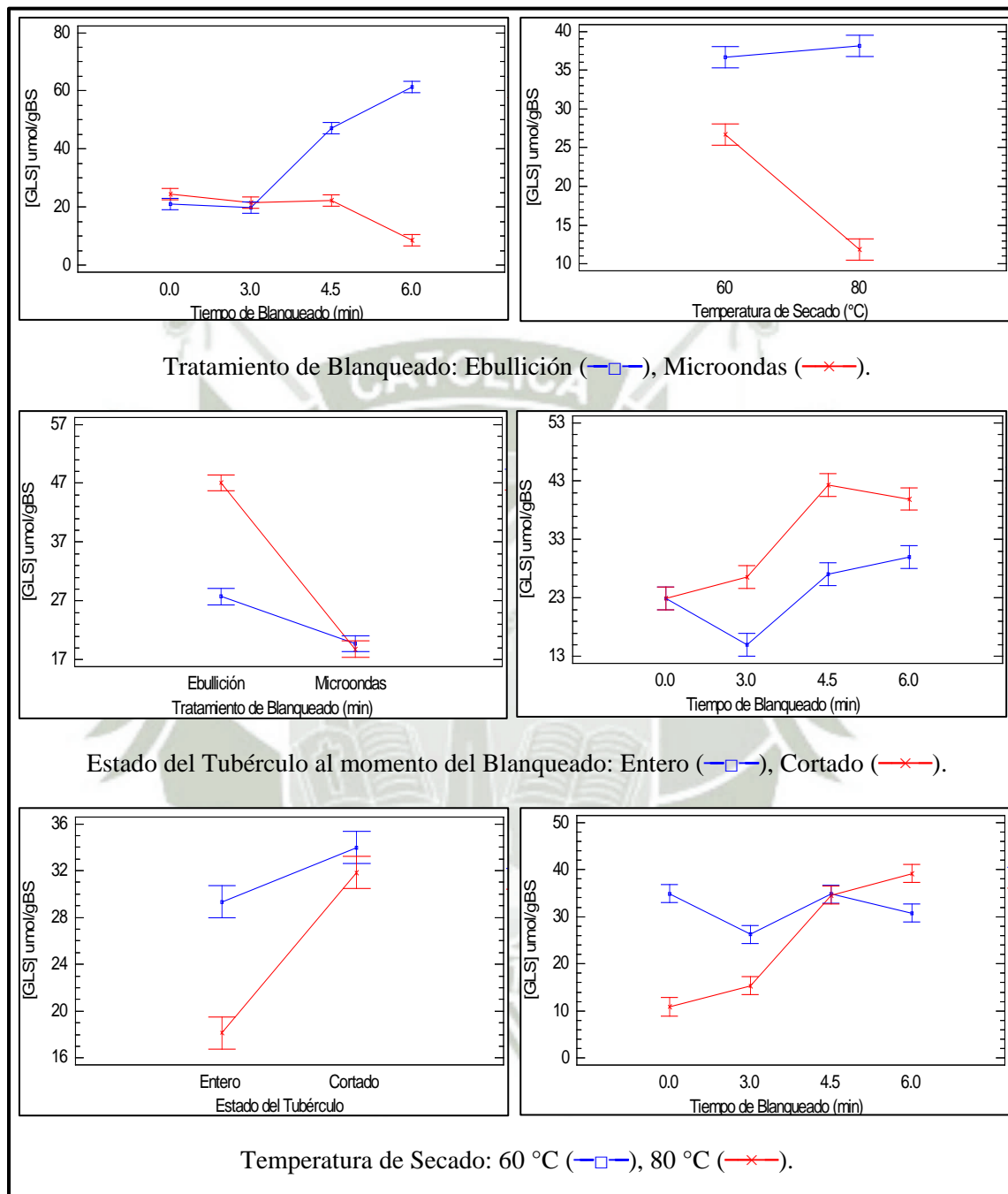


Figura 22. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de GSL totales en mashua amarilla.

Fuente: Statgraphics Centurion XV

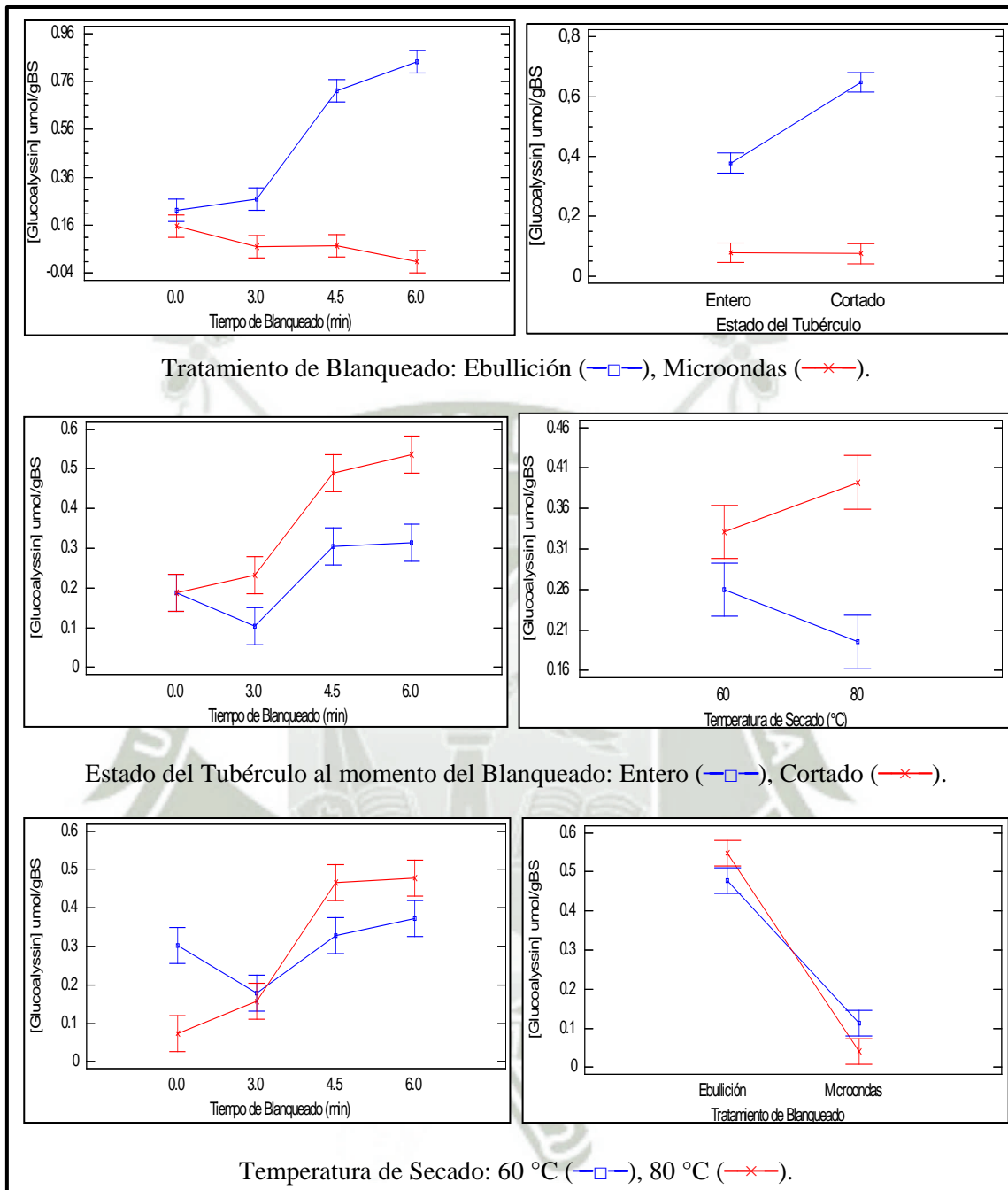


Figura 23. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucoalyssin en mashua amarilla.

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

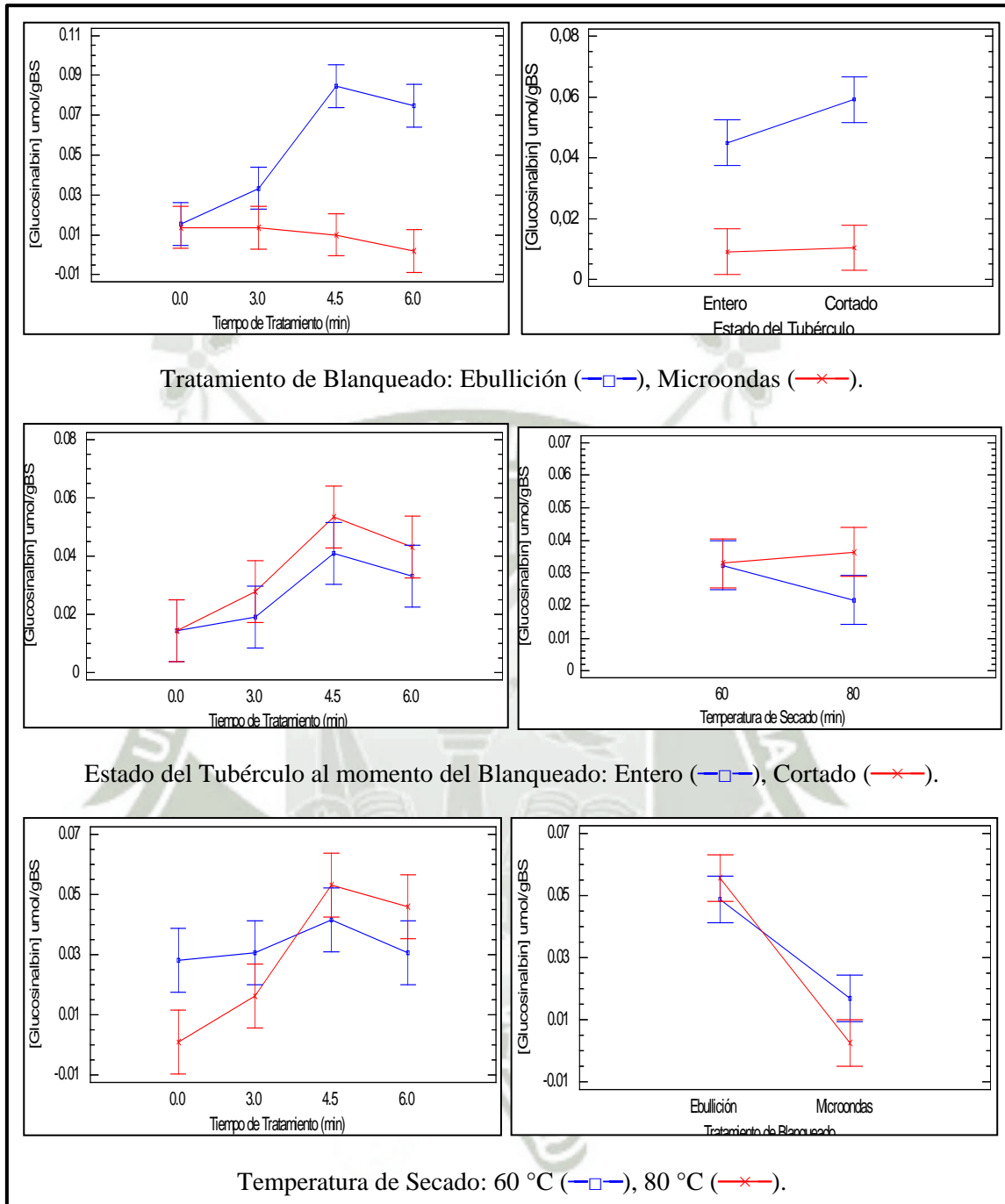


Figura 24. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucosinabin en mashua amarilla.

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

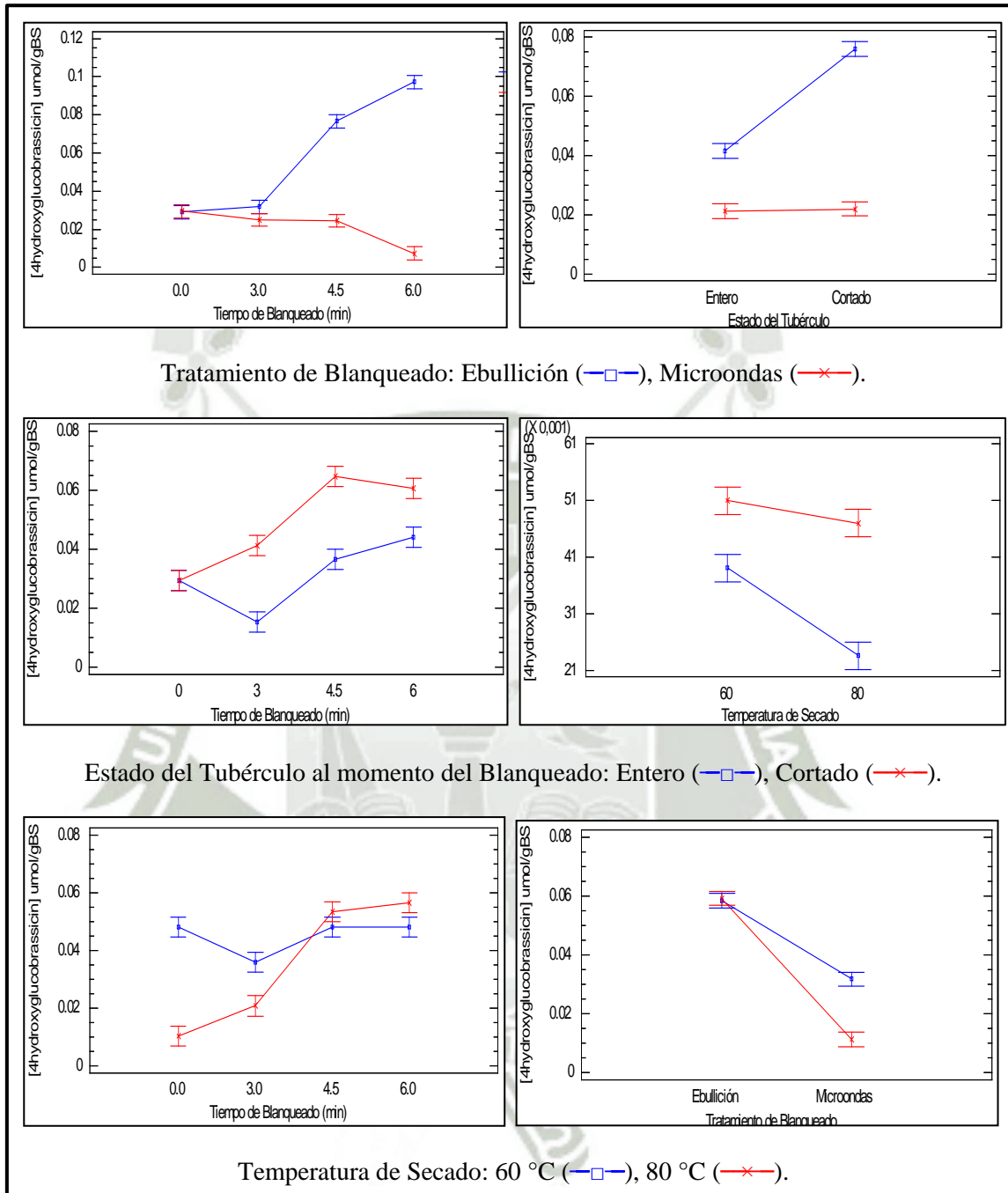


Figura 25. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de 4-Hydroxyglucobrassicin en mashua amarilla.

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

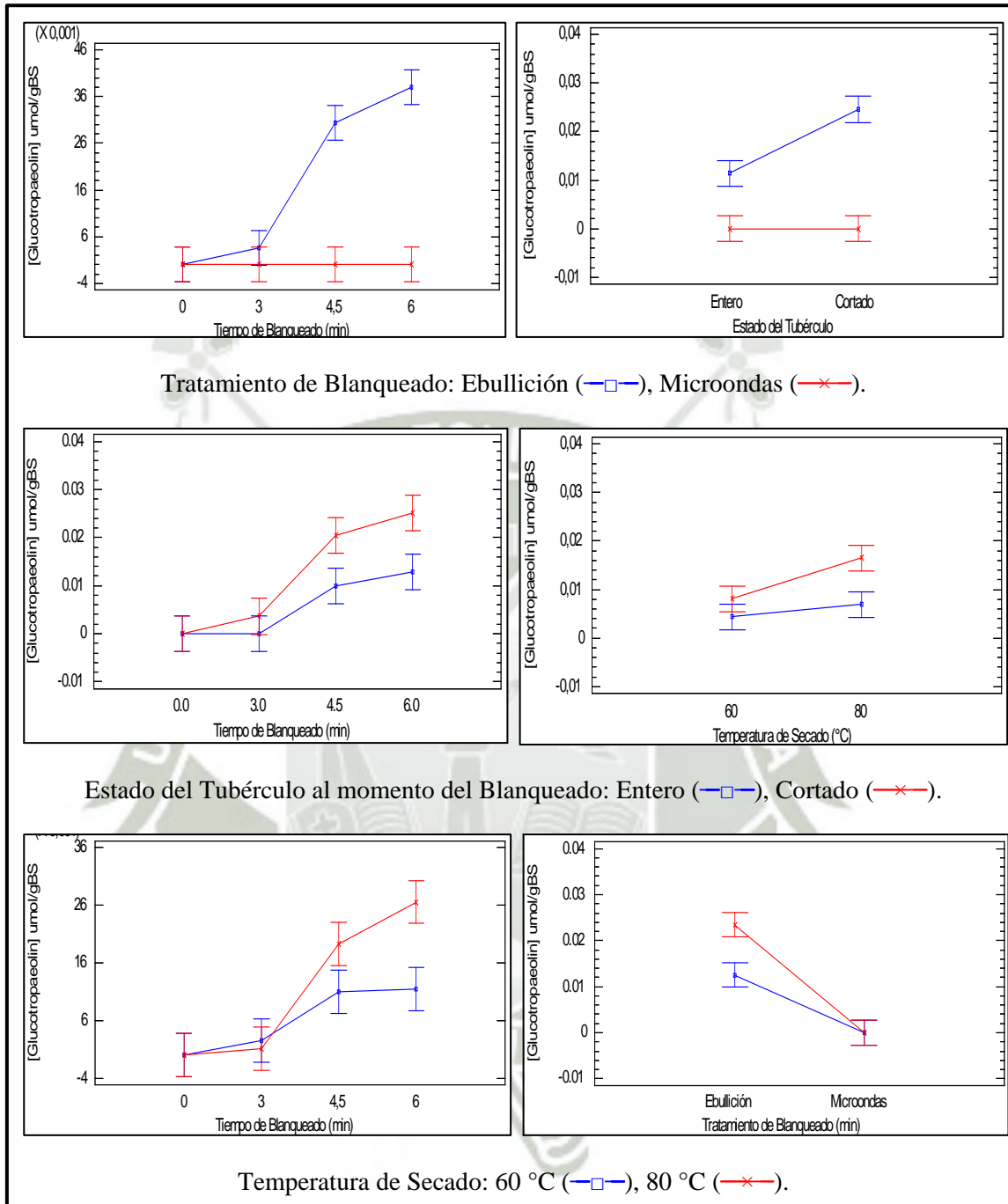


Figura 26. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucotropaeolin en mashua amarilla.

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

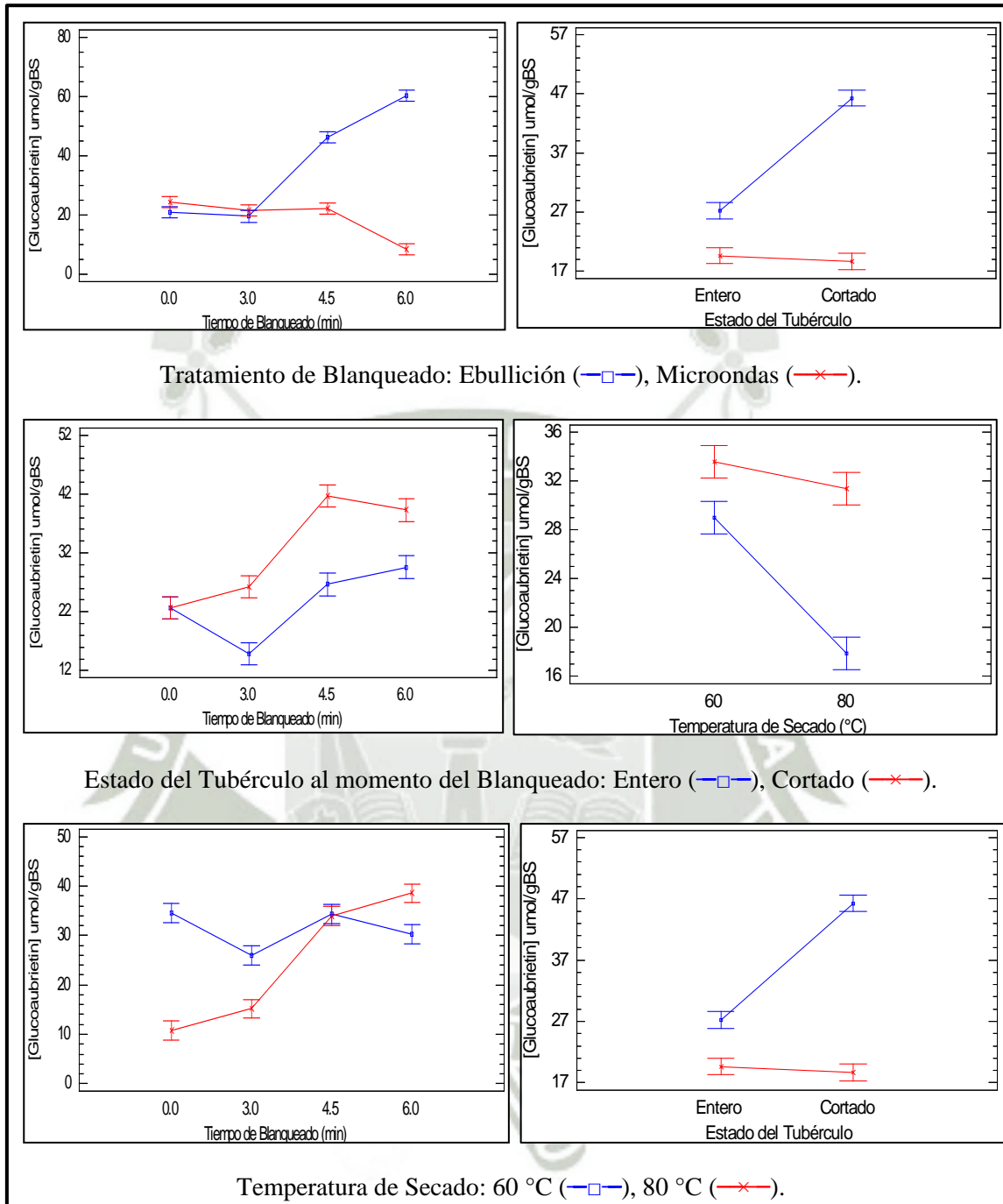


Figura 27. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucoabrietin en mashua amarilla.

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

Anexo 13. Análisis de varianza multifactorial para el contenido de glucosinolatos totales e individuales en mashua, variedad morada.

Tabla 45. ANOVA multifactorial para el contenido de glucosinolatos totales en mashua, variedad morada.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamiento Previo	2178.29	1	2178.29	49.97	0.0000
B:Tratamiento de Blanqueado	24216.3	1	24216.3	555.50	0.0000
C:Estado del Tubérculo	701.775	1	701.775	16.10	0.0010
D:Temperatura de Secado	28.5694	1	28.5694	0.66	0.4301
INTERACCIONES					
AB	699.817	1	699.817	16.05	0.0010
AC	28.8058	1	28.8058	0.66	0.4282
AD	3562.23	1	3562.23	81.71	0.0000
BC	2375.29	1	2375.29	54.49	0.0000
BD	11.1179	1	11.1179	0.26	0.6204
CD	235.988	1	235.988	5.41	0.0334
ABC	1462.81	1	1462.81	33.56	0.0000
ABD	0.00015	1	0.00015	0.00	0.9986
ACD	1218.83	1	1218.83	27.96	0.0001
BCD	3.72911	1	3.72911	0.09	0.7737
ABCD	29.9753	1	29.9753	0.69	0.4192
RESIDUOS	697.505	16	43.594		
TOTAL (CORREGIDO)	37451.0	31			

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

*Número de casos: 40

Tabla 46. ANOVA multifactorial para el contenido de Glucoalyssin en mashua, variedad morada.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamiento Previo	0.434941	1	0.434941	4.38	0.0526
B:Tratamiento de Blanqueado	17.8995	1	17.8995	180.42	0.0000
C:Estado del Tubérculo	0.48494	1	0.48494	4.89	0.0420
D:Temperatura de Secado	0.000005	1	0.000005	0.00	0.9943
INTERACCIONES					
AB	0.009588	1	0.009588	0.10	0.7599
AC	0.151732	1	0.151732	1.53	0.2341
AD	1.92605	1	1.92605	19.41	0.0004
BC	1.08571	1	1.08571	10.94	0.0044
BD	0.004215	1	0.004216	0.04	0.8393
CD	0.287870	1	0.28787	2.90	0.1078
ABC	0.561456	1	0.561456	5.66	0.0302
ABD	0.047101	1	0.047101	0.47	0.5007
ACD	0.703150	1	0.70315	7.09	0.0170
BCD	0.167259	1	0.167259	1.69	0.2126
ABCD	0.221861	1	0.221861	2.24	0.1543
RESIDUOS	1.5874	16	0.099213		
TOTAL (CORREGIDO)	25.5728	31			

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

*Número de casos: 40

Tabla 47. ANOVA multifactorial para el contenido de Glucosinalbin en mashua, variedad morada.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamiento Previo	0.000424	1	0.0004241	0.68	0.4222
B:Tratamiento de Blanqueado	0.028352	1	0.0283518	45.35	0.0000
C:Estado del Tubérculo	0.002014	1	0.0020145	3.22	0.0915
D:Temperatura de Secado	0.001071	1	0.0010707	1.71	0.2091
INTERACCIONES					
AB	0.0010591	1	0.0010591	1.69	0.2115
AC	0.0000523	1	0.0000522	0.08	0.7762
AD	0.0026336	1	0.0026336	4.21	0.0569
BC	0.0081632	1	0.0081632	13.06	0.0023
BD	0.0034590	1	0.0034590	5.53	0.0318
CD	0.0007325	1	0.0007325	1.17	0.2951
ABC	0.0008275	1	0.0008272	1.32	0.2669
ABD	0.0030361	1	0.0030361	4.86	0.0425
ACD	0.0019703	1	0.0019703	3.15	0.0949
BCD	0.0008477	1	0.0008477	1.36	0.2613
ABCD	0.0005486	1	0.0005486	0.88	0.3628
RESIDUOS	0.0100024	16	0.0006251		
TOTAL (CORREGIDO)	0.0651933	31			

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

*Número de casos: 40

Tabla 48. ANOVA multifactorial para el contenido de 4-Hydroxyglucobrassicin en mashua, variedad morada.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamiento Previo	0.002679	1	0.0026718	35.61	0.0000
B:Tratamiento de Blanqueado	0.065305	1	0.065305	870.29	0.0000
C:Estado del Tubérculo	0.001627	1	0.0016274	21.69	0.0003
D:Temperatura de Secado	1.0125E-7	1	1.0125E-7	0.00	0.9712
INTERACCIONES					
AB	0.0003277	1	0.0003277	4.37	0.0530
AC	0.0001030	1	0.0001030	1.37	0.2586
AD	0.0098070	1	0.009807	130.69	0.0000
BC	0.0047580	1	0.004758	63.41	0.0000
BD	0.0000505	1	0.0000505	0.67	0.4241
CD	0.0011376	1	0.0011376	15.16	0.0013
ABC	0.0026682	1	0.0026682	35.56	0.0000
ABD	0.0000621	1	0.0000622	0.83	0.3762
ACD	0.002312	1	0.002312	30.81	0.0000
BCD	0.0001531	1	0.0001531	2.04	0.1724
ABCD	0.0002290	1	0.0002290	3.05	0.0998
RESIDUOS	0.0012006	16	0.0000750		
TOTAL (CORREGIDO)	0.0924131	31			

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

*Número de casos: 40

Tabla 49. ANOVA multifactorial para el contenido de Glucoaubrietin en mashua, variedad morada.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamiento Previo	2237.33	1	2237.33	52.48	0.0000
B:Tratamiento de Blanqueado	22789.3	1	22789.3	534.58	0.0000
C:Estado del Tubérculo	660.987	1	660.987	15.51	0.0012
D:Temperatura de Secado	28.241	1	28.241	0.66	0.4276
INTERACCIONES					
AB	702.323	1	702.323	16.47	0.0009
AC	33.1062	1	33.1062	0.78	0.3912
AD	3380.99	1	3380.99	79.31	0.0000
BC	2259.64	1	2259.64	53.01	0.0000
BD	12.0079	1	12.0079	0.28	0.6029
CD	217.993	1	217.993	5.11	0.0380
ABC	1400.03	1	1400.03	32.84	0.0000
ABD	0.02762	1	0.02762	0.00	0.9800
ACD	1154.68	1	1154.68	27.09	0.0001
BCD	2.36825	1	2.36825	0.06	0.8167
ABCD	25.1241	1	25.1241	0.59	0.4539
RESIDUOS	682.086	16	42.6304		
TOTAL (CORREGIDO)	35586.2	31			

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

*Número de casos: 40

Anexo 14. Gráficos de Dispersión y Gráficos de Medias para mashua, variedad Morada

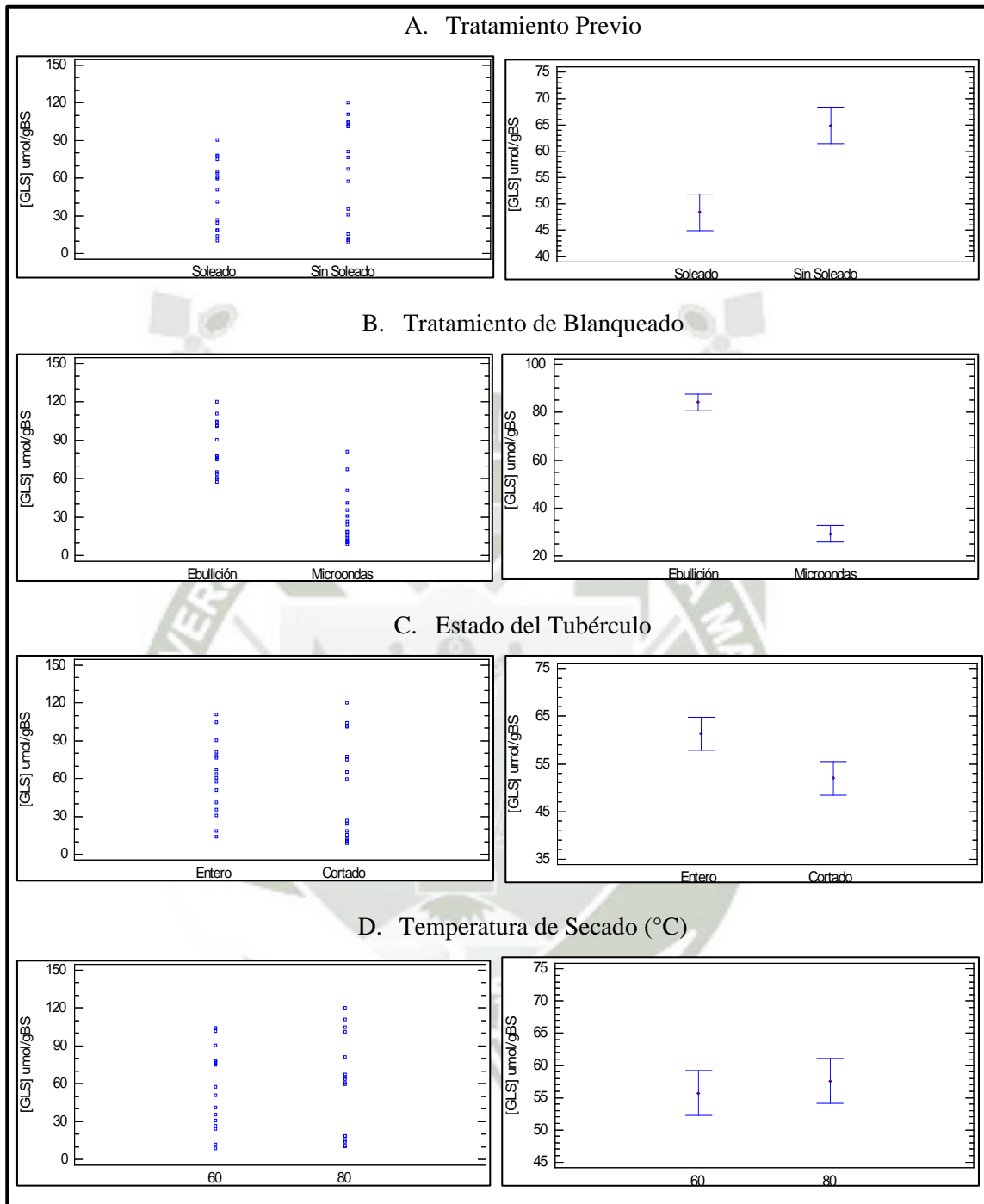


Figura 28. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de GSL totales en mashua morada.

Fuente: Statgraphics Centurion XV

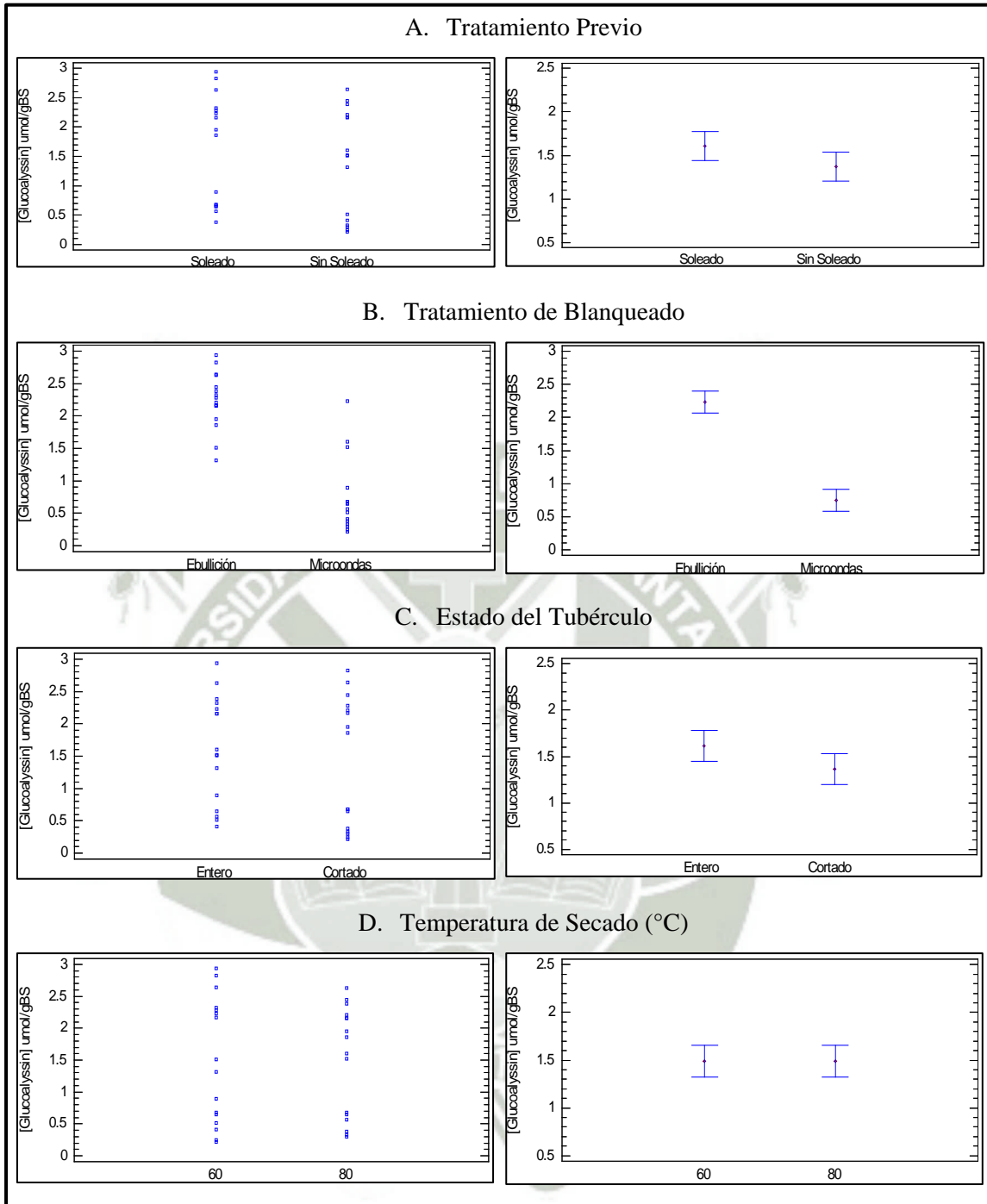


Figura 29. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucoalyssin en mashua morada.

Fuente: Statgraphics Centurion XV

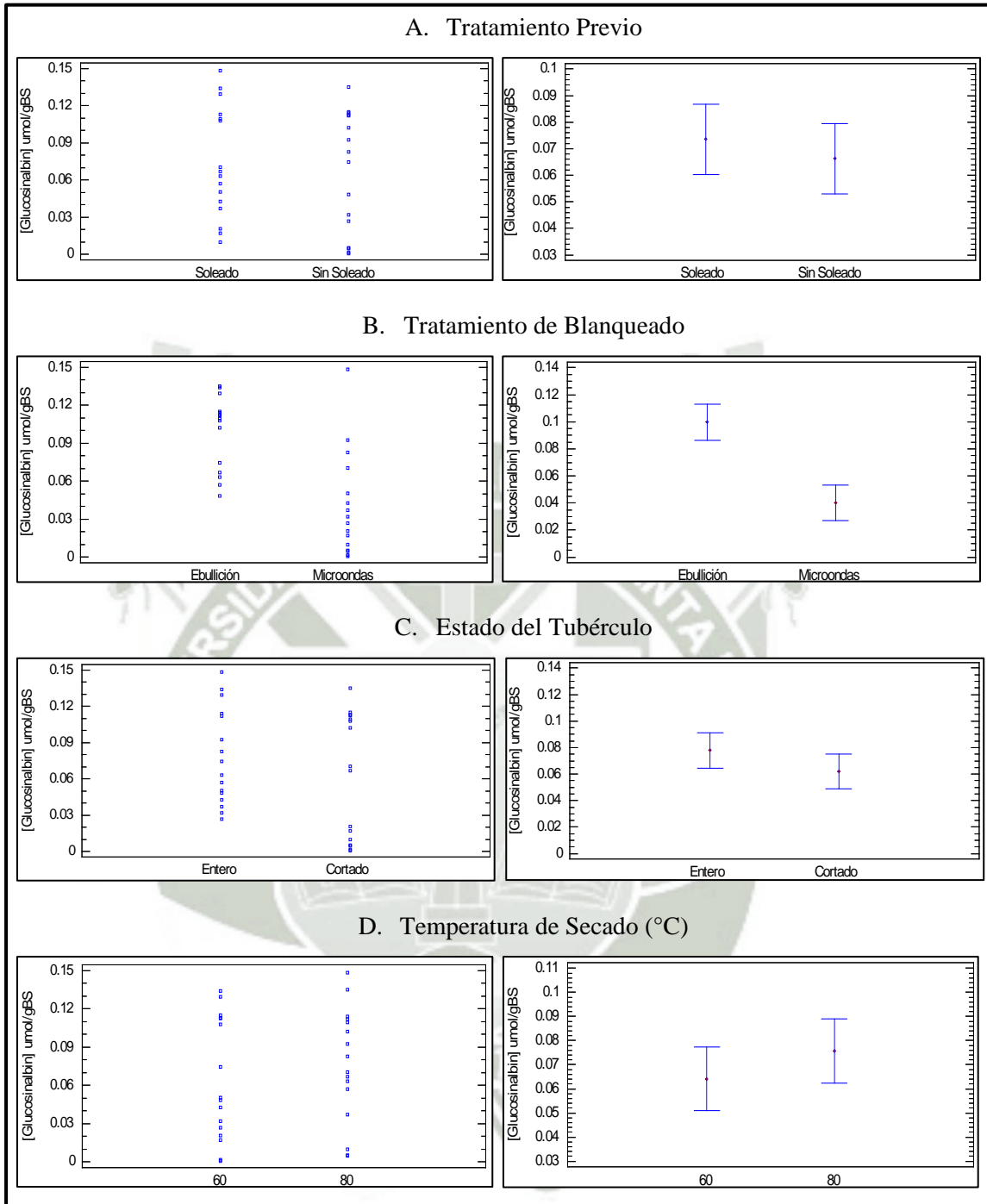


Figura 30. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucosinabin en mashua morada.

Fuente: Statgraphics Centurion XV

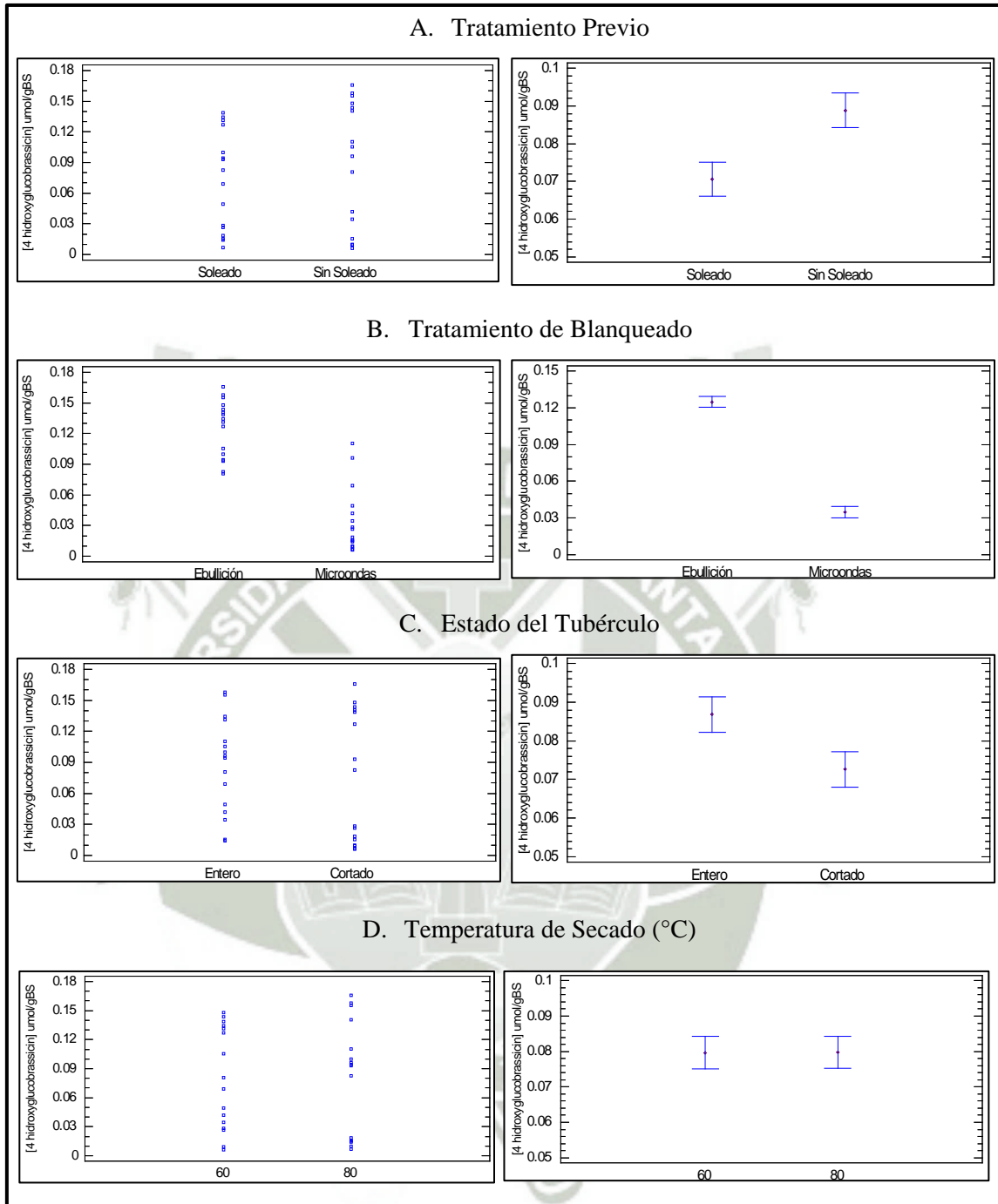


Figura 31. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de 4-Hydroxyglucobrassicin en mashua morada.

Fuente: Statgraphics Centurion XV

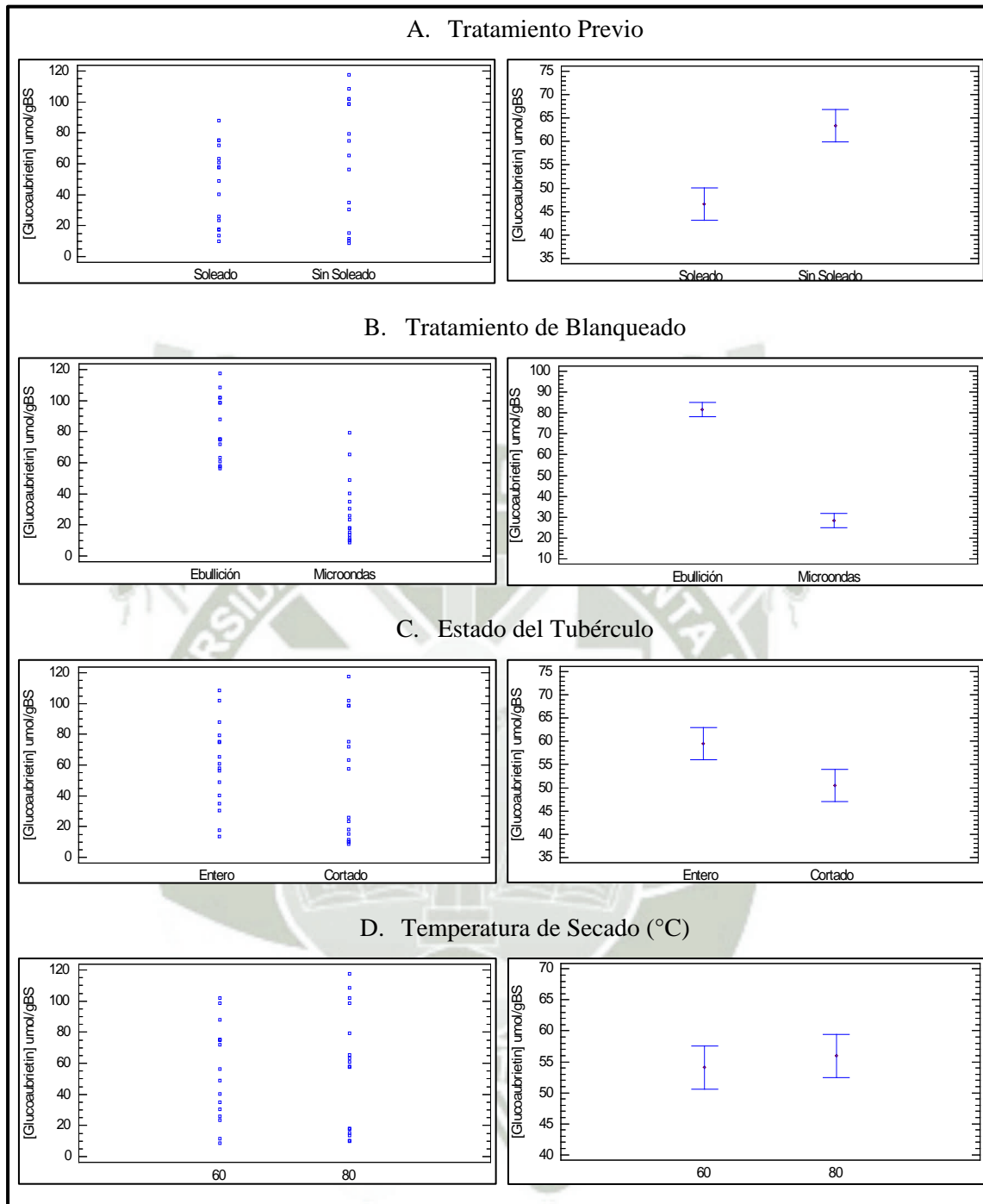


Figura 32. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucoaubrietin en mashua morada.

Fuente: Statgraphics Centurion XV

Anexo 15. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza 95% para mashua, variedad morada.

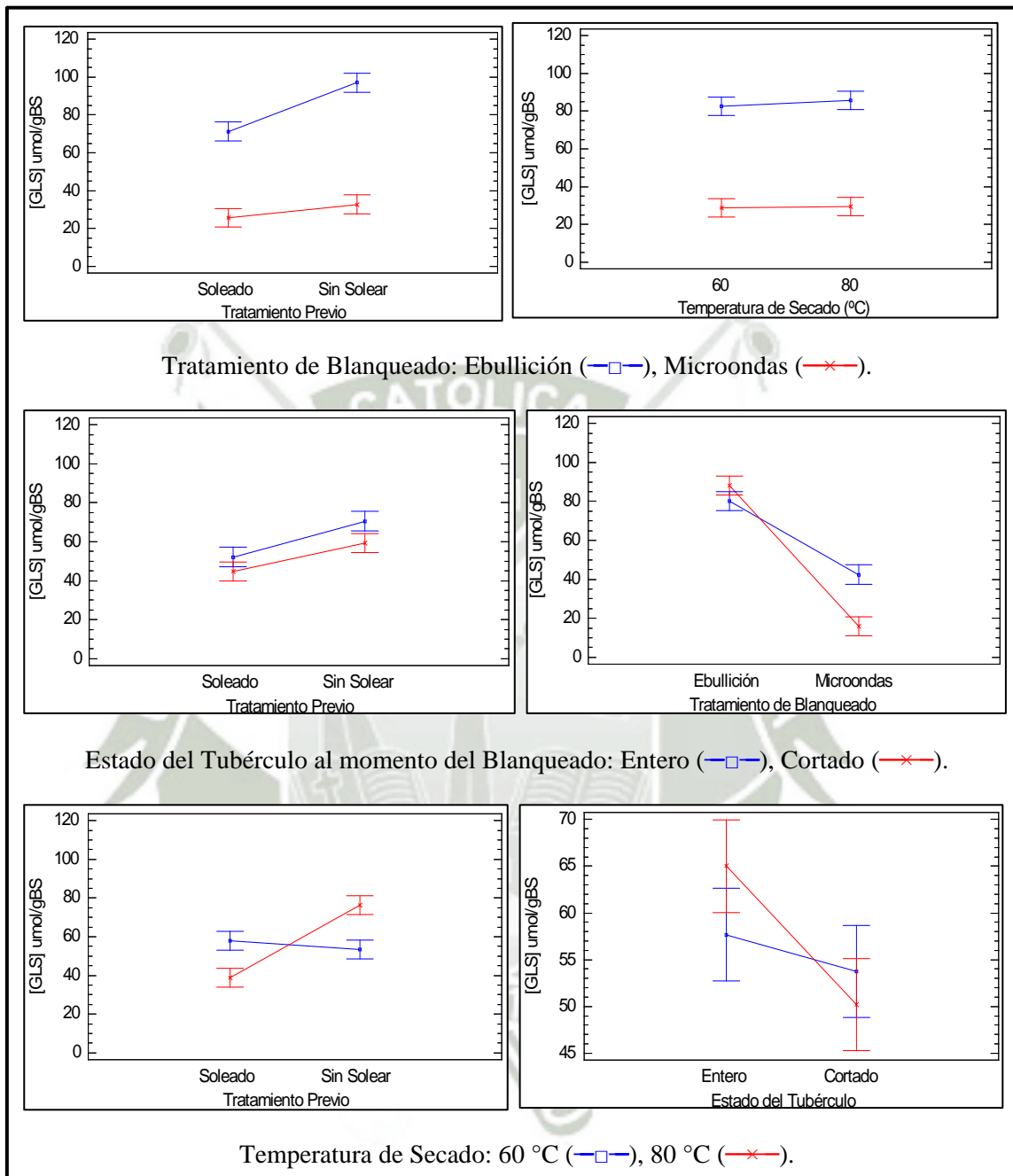


Figura 33. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de GSL totales en mashua morada.

Fuente: Statgraphics Centurion XV

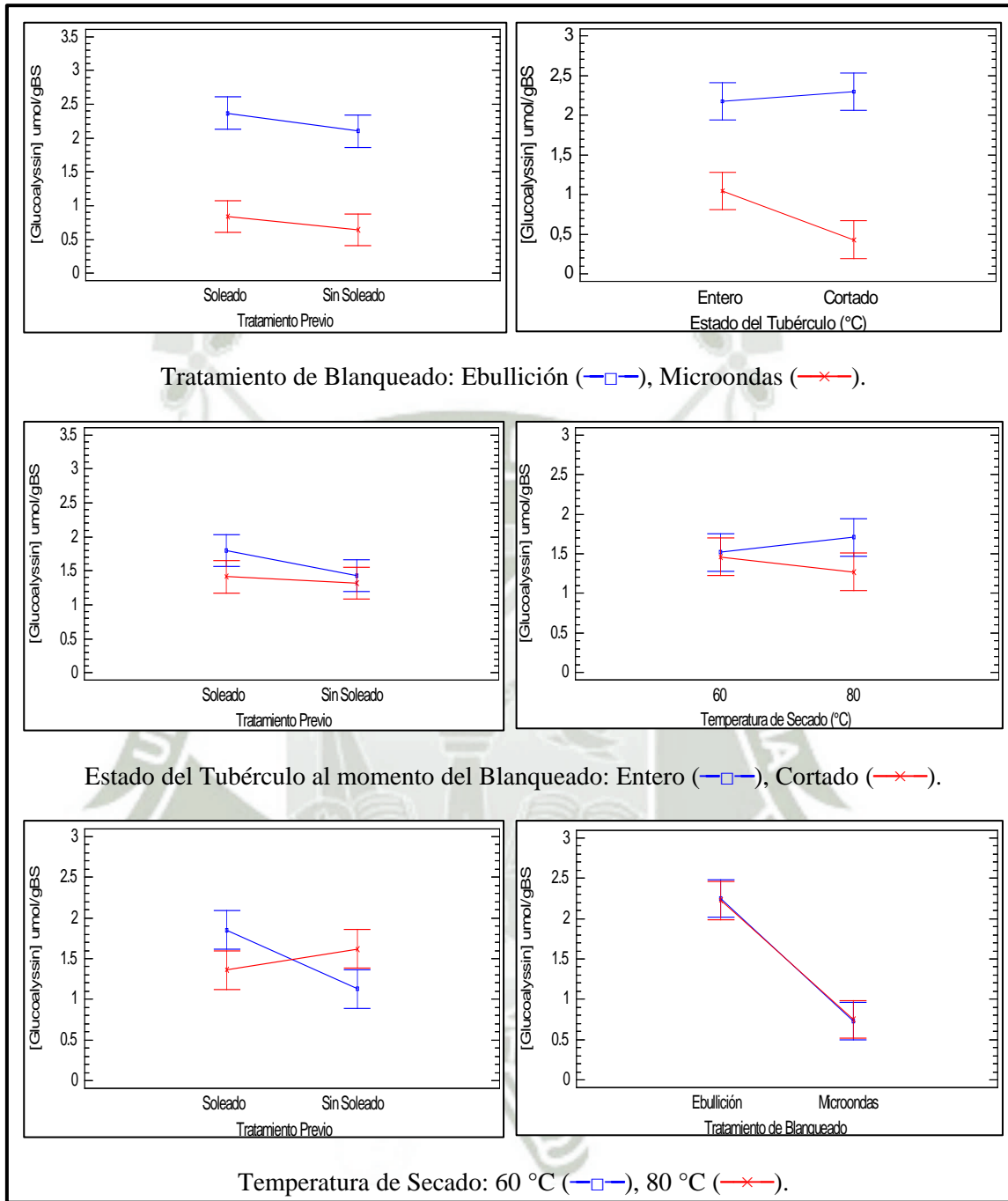


Figura 34. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucoalyssin en mashua morada.

Fuente: Statgraphics Centurion XV

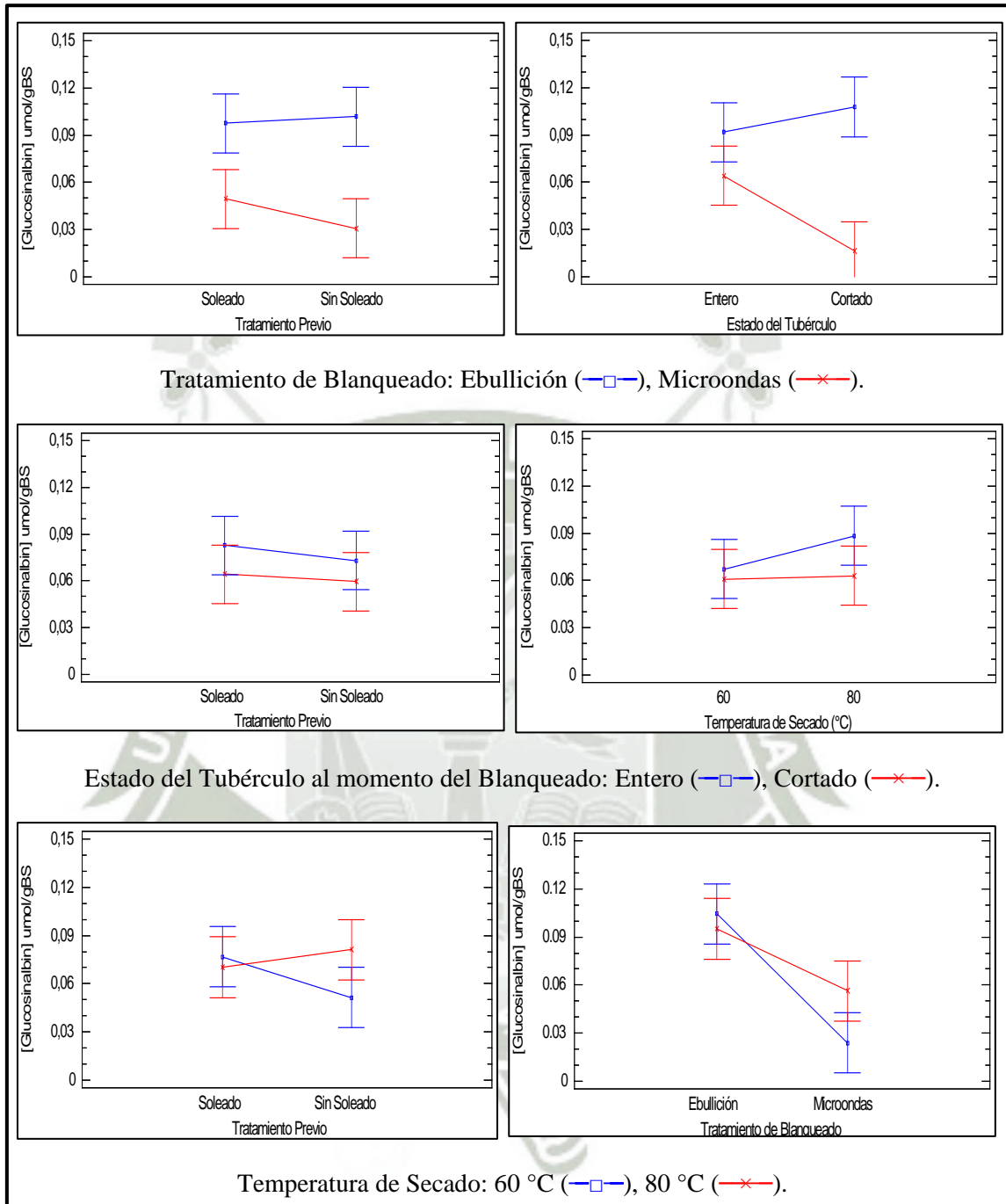


Figura 35. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucosinabin en mashua morada.

Fuente: Statgraphics Centurion XV

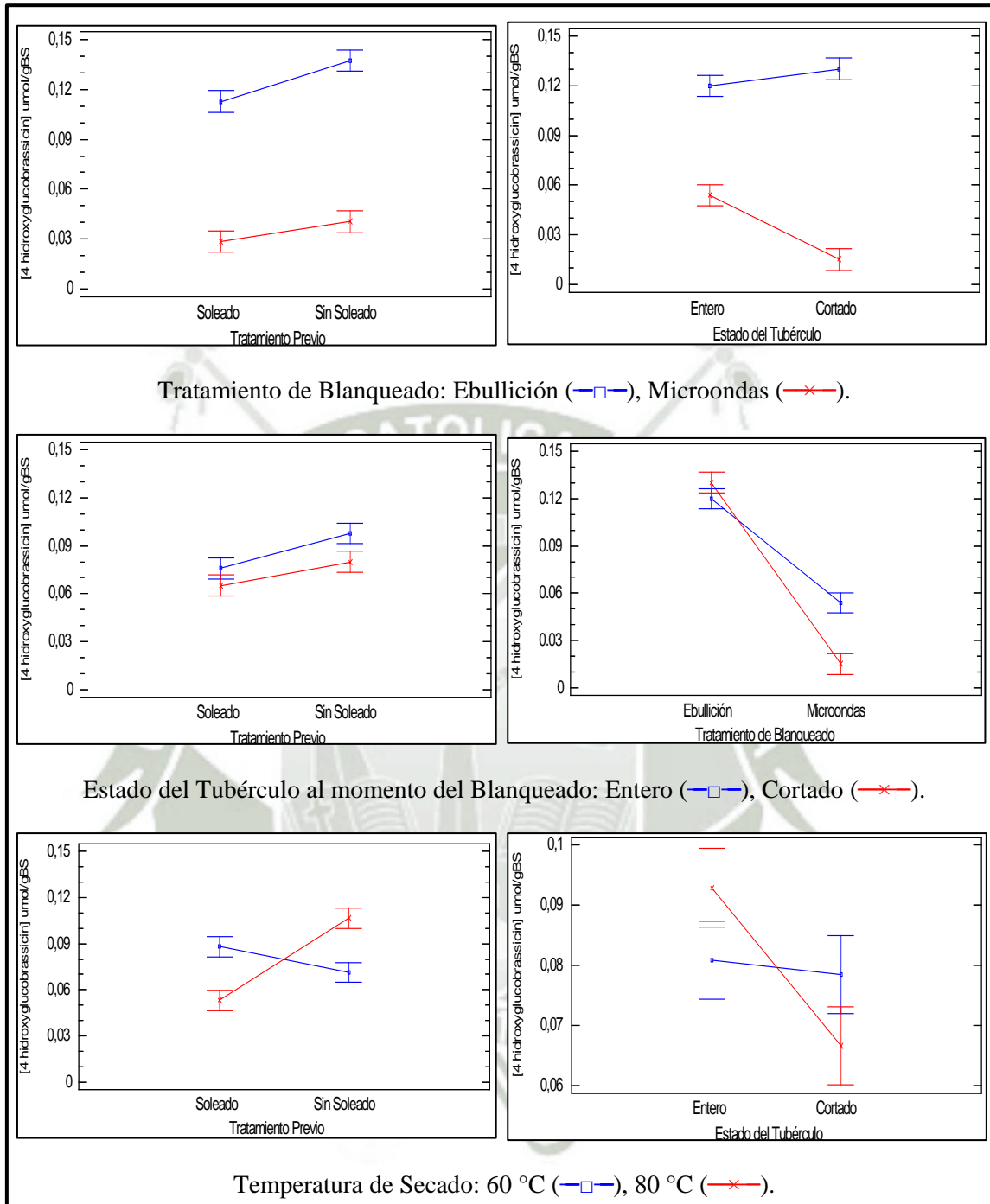


Figura 36. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de 4-Hydroxyglucobrassicin en mashua morada.

Fuente: Statgraphics Centurion XV

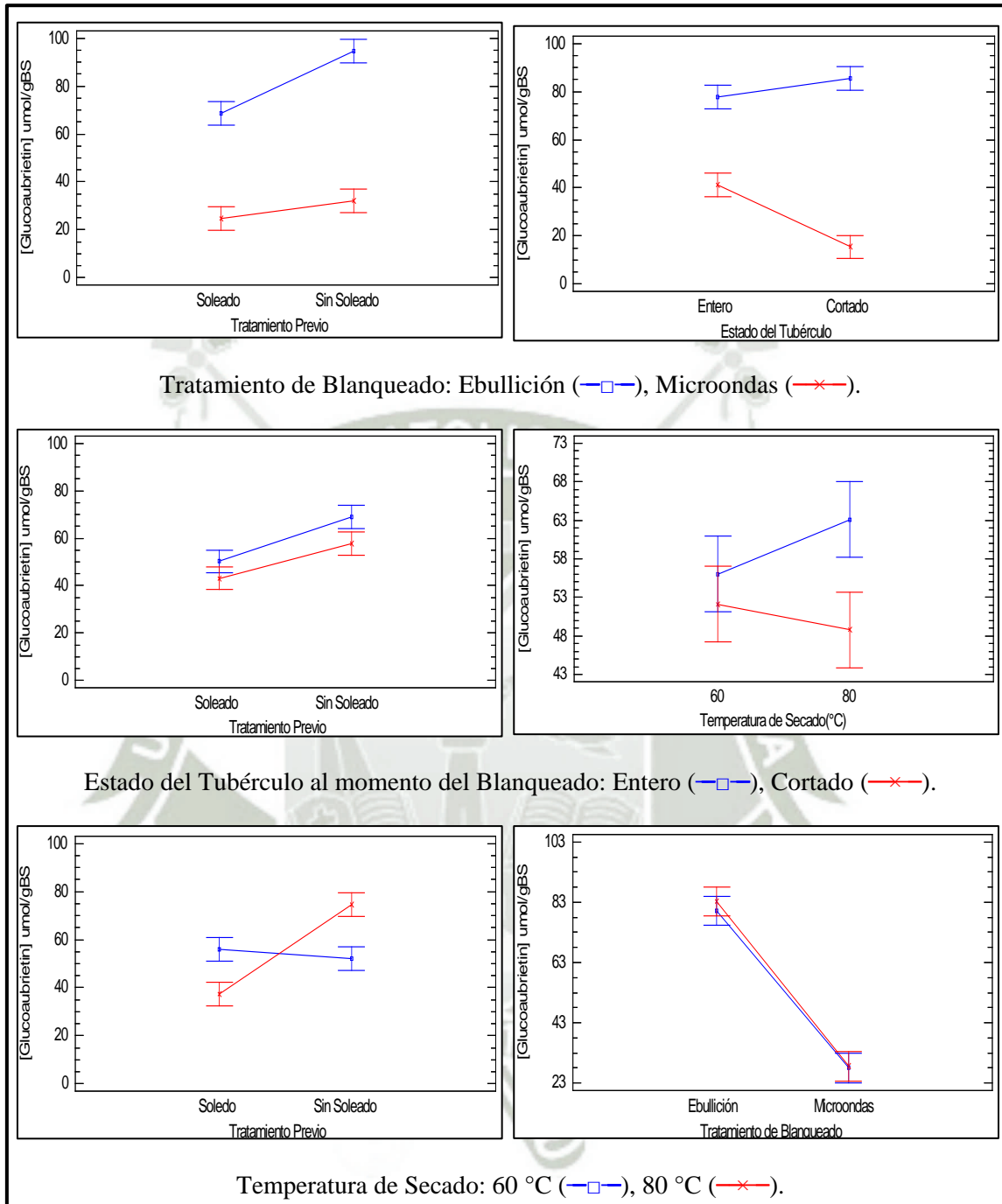


Figura 37. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de Glucoabrietin en mashua morada.

Fuente: Statgraphics Centurion XV

Anexo 16. Análisis de varianza multifactorial para la actividad mirosinasa en mashua, variedad amarilla.

Tabla 50. ANOVA multifactorial para la actividad mirosinasa en mashua, variedad amarilla.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Estado del Tubérculo	651547.	1	651547.	2.37	0.1494
B:Tiempo de Blanqueado	3.08774 E7	2	1.54387 E7	56.24	0.0000
C:Tratamiento de Blanqueado	3.54146 E7	1	3.54146 E7	129.00	0.0000
INTERACCIONES					
AB	57149.9	2	28575.0	0.10	0.9019
AC	495759.	1	495759.	1.81	0.2039
BC	2.03632 E7	2	1.01816 E7	37.09	0.0000
ABC	33726.8	2	16863.4	0.06	0.9407
RESIDUOS	3.29427E6	12	274523.		
TOTAL (CORREGIDO)	9.11876E7	23			

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

*Número de casos: 24

Anexo 17. Gráficos de Dispersión y Gráficos de Medias para actividad mirosinasa mashua, variedad amarilla.

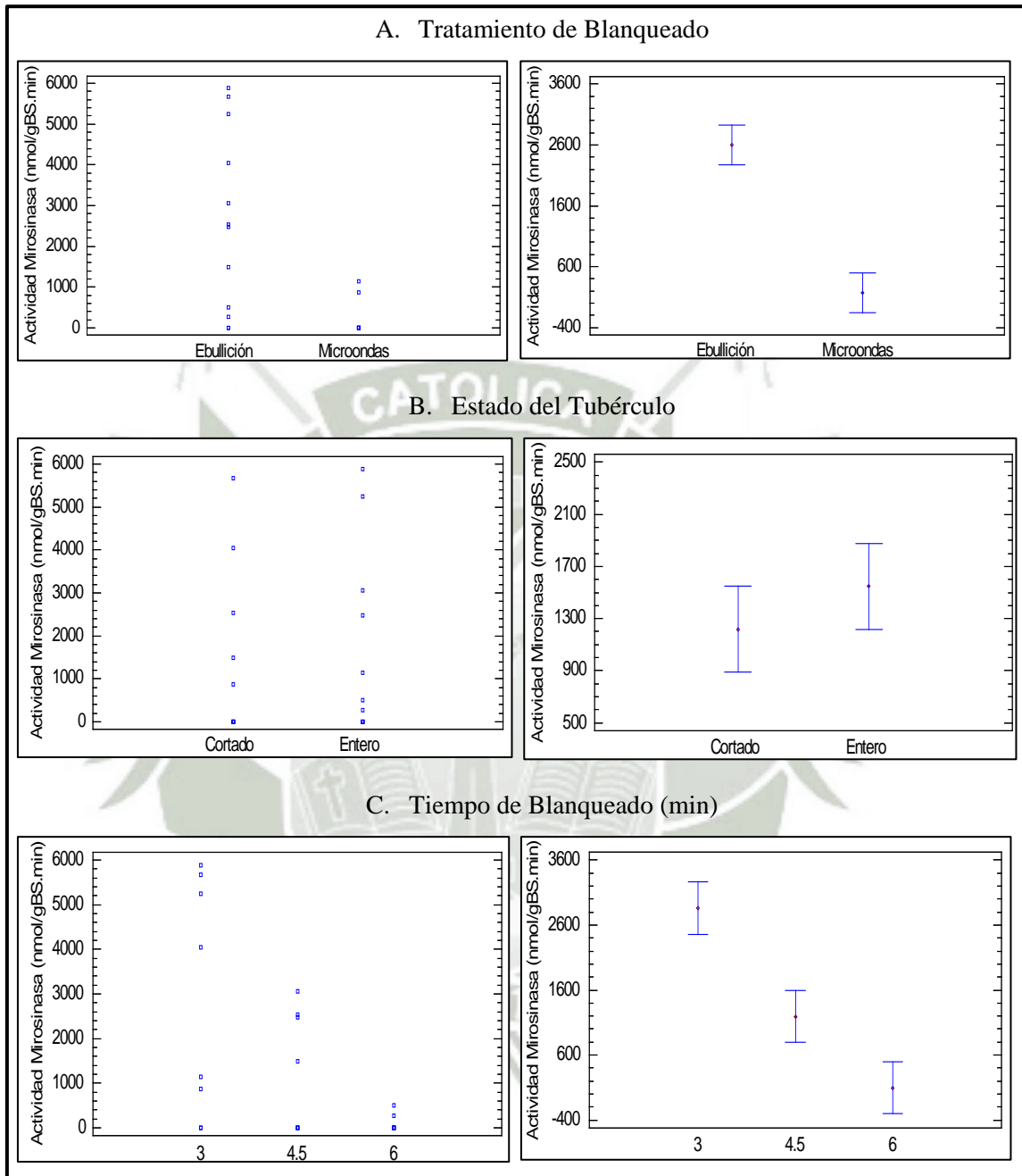


Figura 38. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para la actividad mirosinasa en mashua amarilla.

Fuente: Statgraphics Centurion XV

Anexo 18. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza 95% para actividad mirosinasa en mashua, variedad amarilla

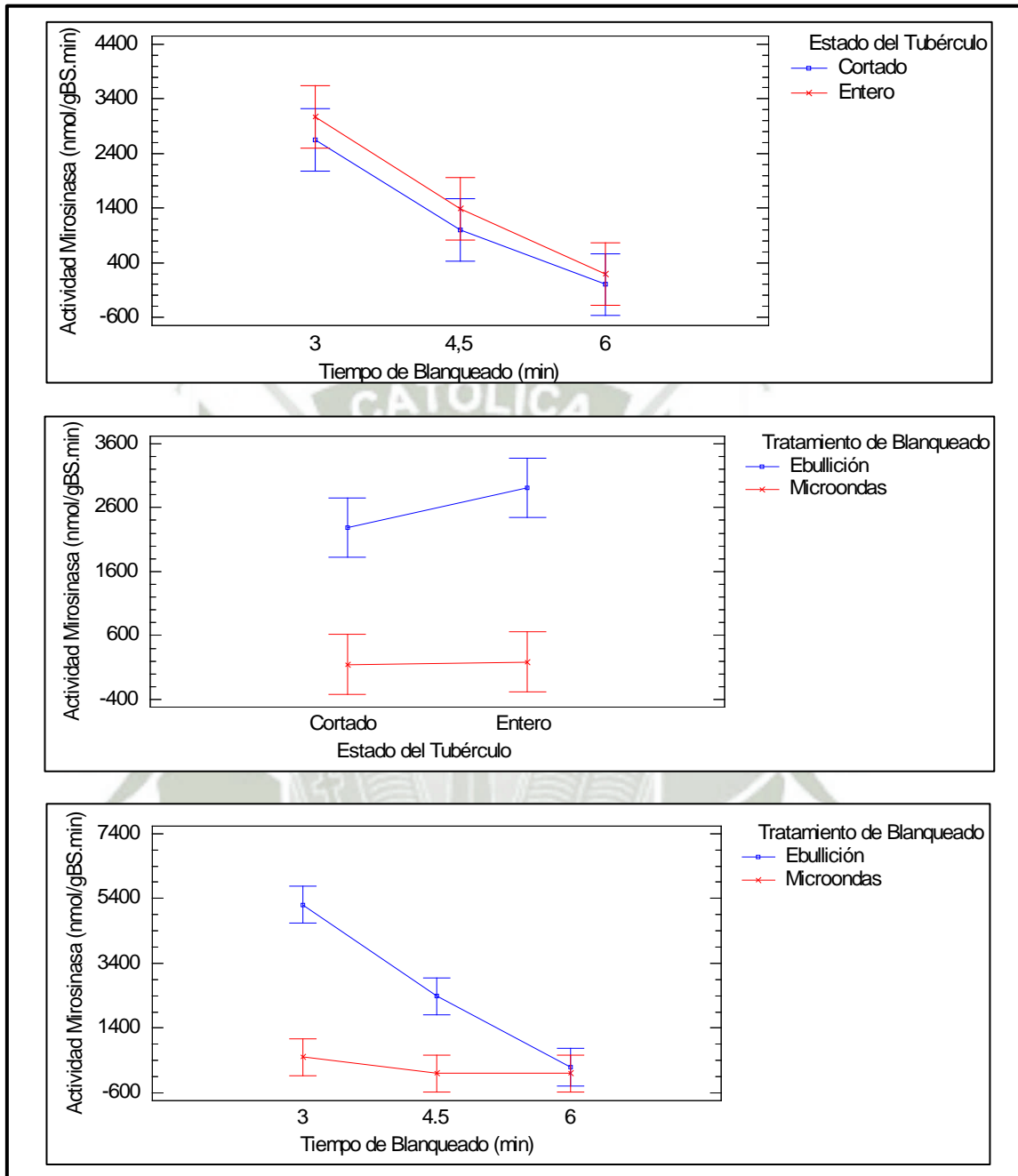


Figura 39. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para la actividad mirosinasa en mashua amarilla.

Fuente: Statgraphics Centurion XV

Anexo 19. Análisis de varianza multifactorial para la actividad mirosinasa en mashua, variedad morada.

Tabla 51. ANOVA multifactorial para la actividad mirosinasa en mashua, variedad morada.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Estado del Tubérculo	267230.	1	267230.	177.86	0.0000
B:Tratamiento de Blanqueado	2.81021 E6	1	2.81021 E6	1870.38	0.0000
C:Tratamiento Previo	1.02032E6	1	1.02032 E6	679.09	0.0000
INTERACCIONES					
AB	267230.	1	267230.	177.86	0.0000
AC	22295.7	1	22295.7	14.84	0.0049
BC	1.02032 E6	1	1.02032 E6	679.09	0.0000
ABC	22295.7	1	22295.7	14.84	0.0049
RESIDUOS	12019.9	8	1502.48		
TOTAL (CORREGIDO)	5.44191 E6	15			

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

*Número de casos: 16

Anexo 20. Gráficos de Dispersión y Gráficos de Medias para actividad mirosinasa mashua, variedad morada

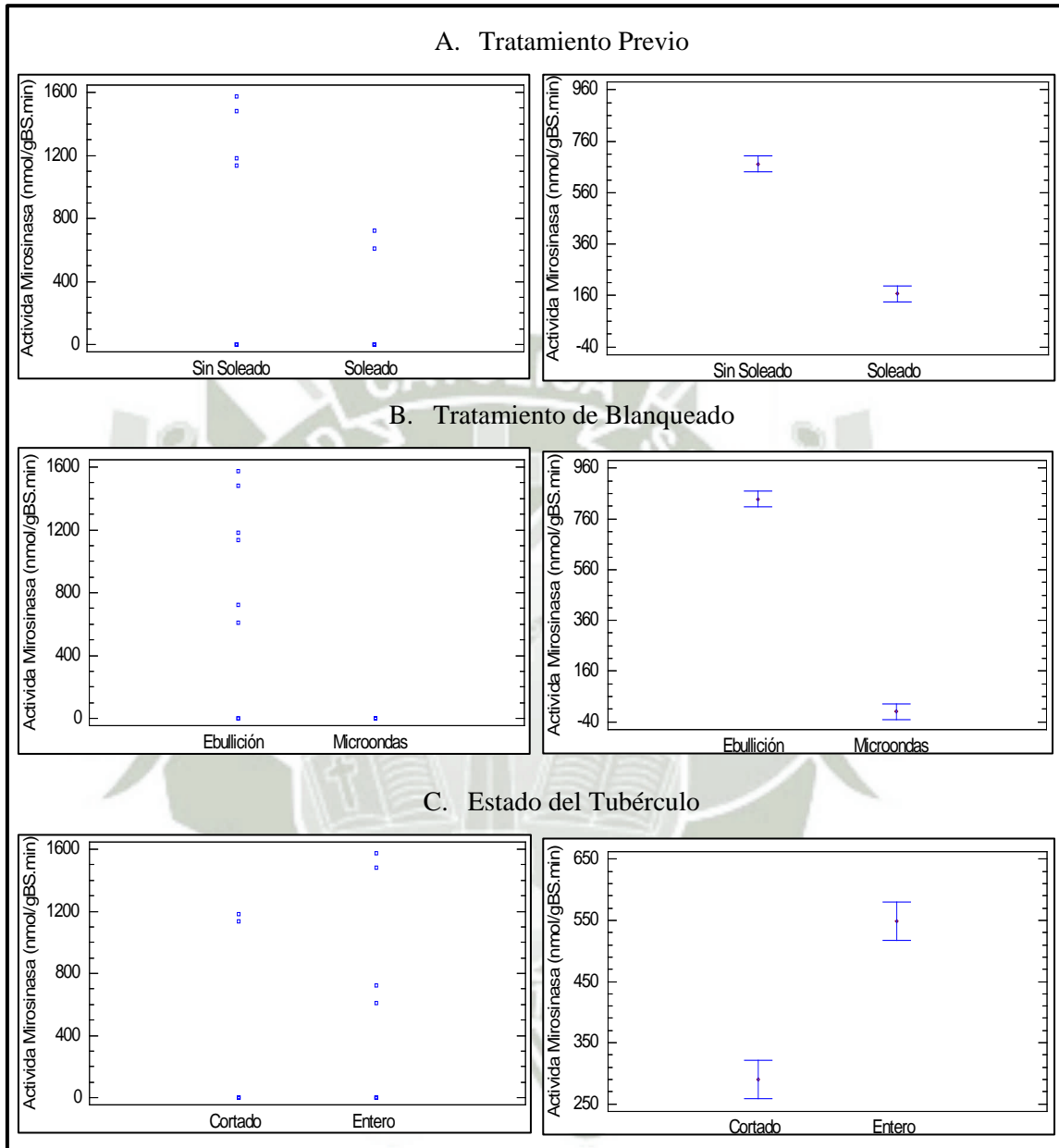


Figura 40. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para la actividad mirosinasa en mashua morada.

Fuente: Statgraphics Centurion XV

Anexo 21. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza 95% para actividad mirosinasa en mashua, variedad morada.

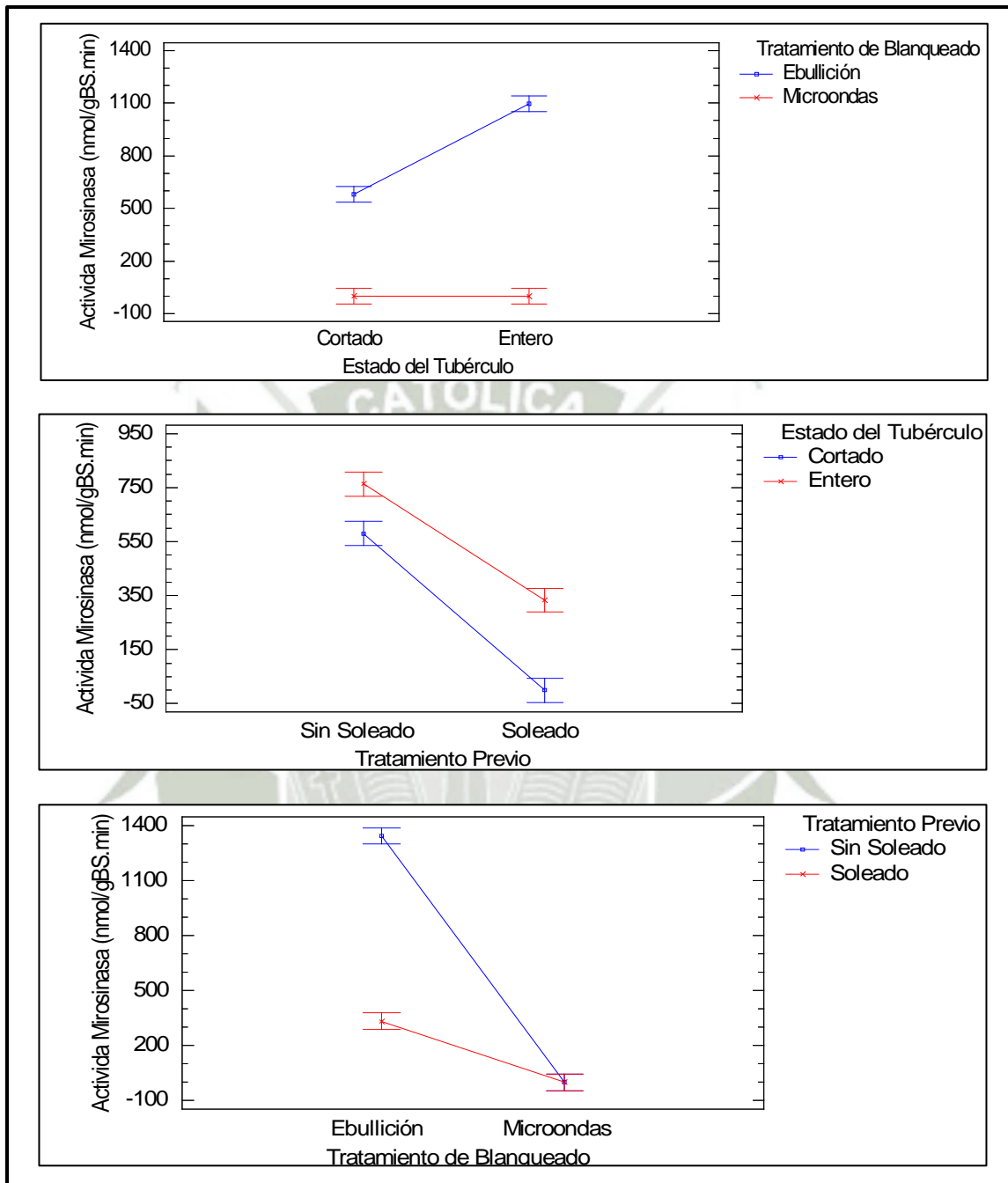


Figura 41. Gráficos de Interacciones e intervalos de confianza al 95% para la actividad mirosinasa en mashua morada.

Fuente: Statgraphics Centurion XV

Anexo 22. Degradación enzimática de los glucosinolatos.

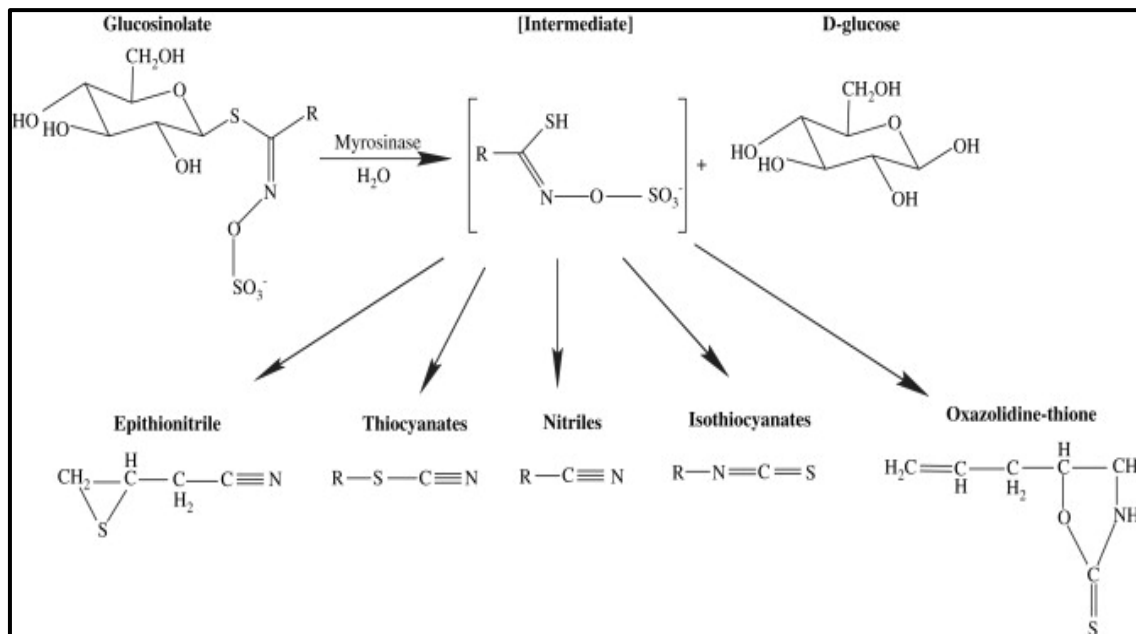


Figura 42. Degradación enzimática de un glucosinolato catalizada por la Mirosinasa.

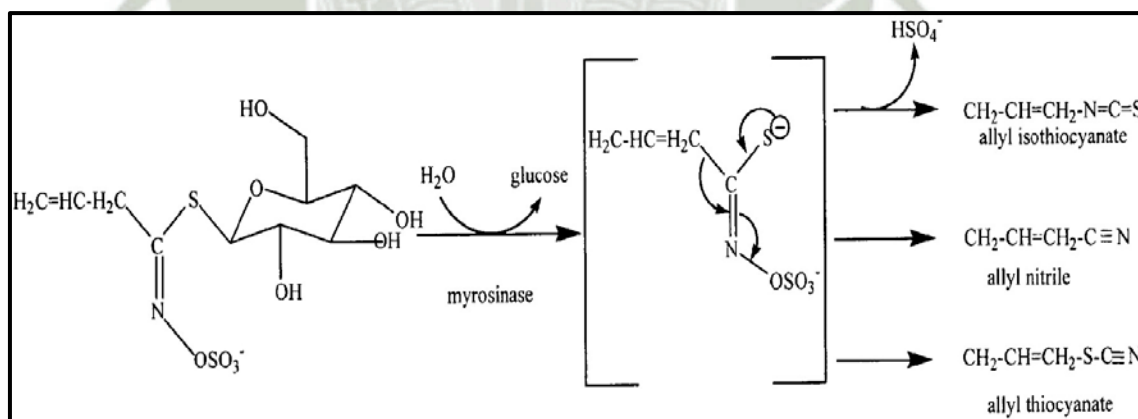


Figura 43. Degradación enzimática del Sinigrin (2-propenil glucosinolato) catalizada por la Mirosinasa.

Anexo 23. Cromatogramas, espectros de absorción y curva de calibración del Sinigrin.

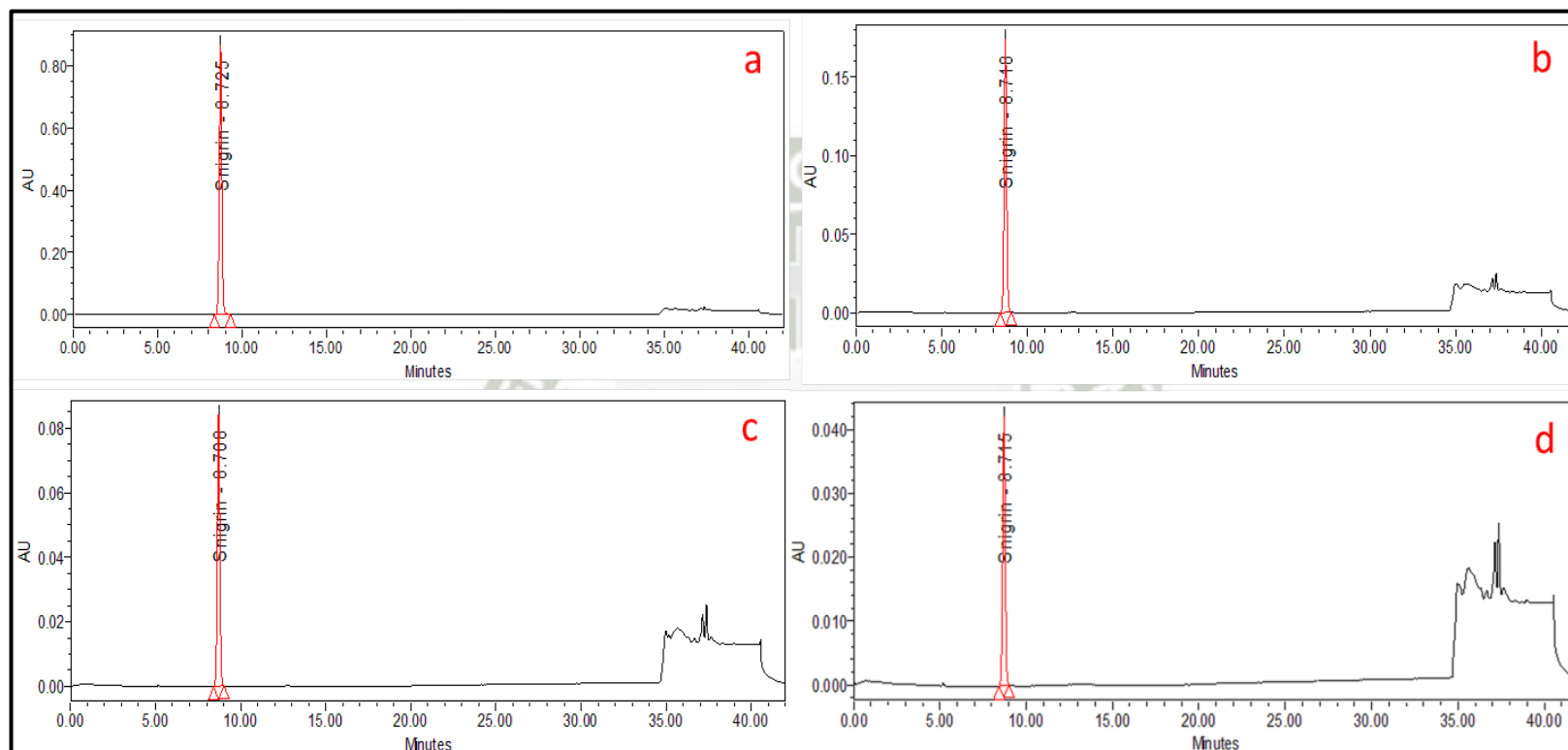


Figura 44. Perfiles cromatográficos de Sinigrin. (a) 0.476 mg/ml; (b) 0.0952 mg/ml; (c) 0.0476 mg/ml; (d) 0.0238 mg/ml.

Fuente: Software Empower - HPLC

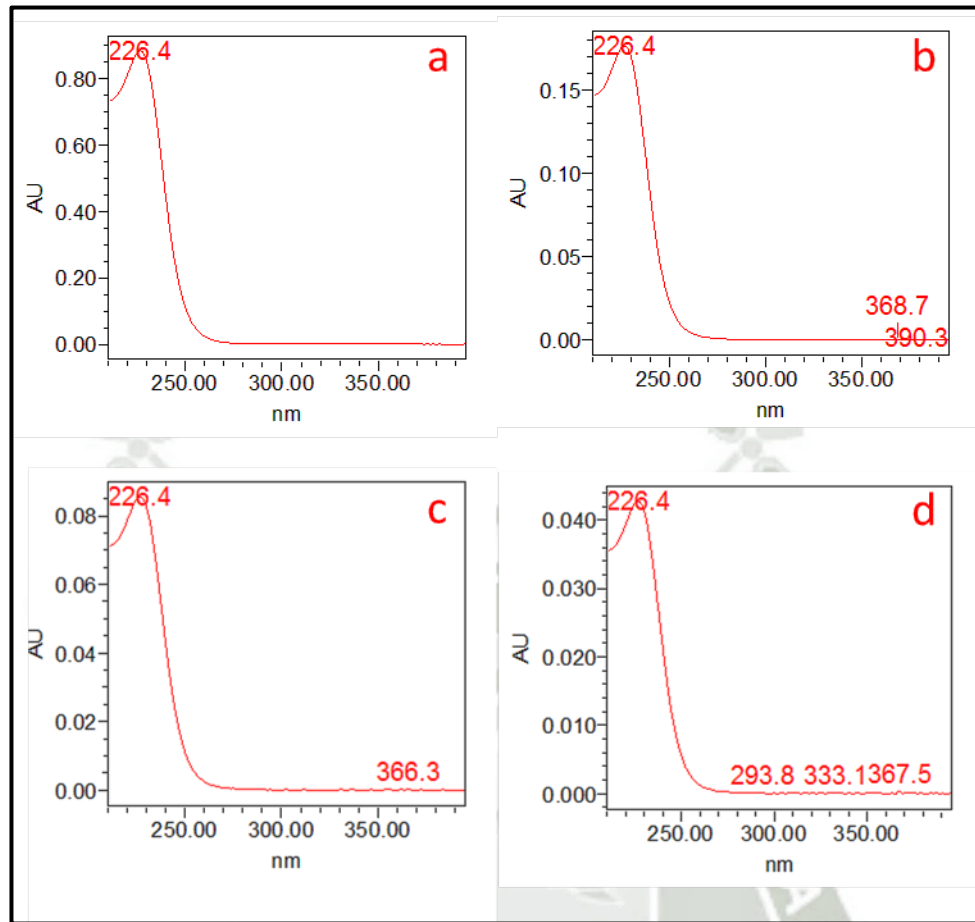


Figura 45. Espectros de absorción - Sinigrin. (a) 0.476 mg/ml; (b) 0.0952 mg/ml; (c) 0.0476 mg/ml; (d) 0.0238 mg/ml.

Fuente: Software Empower - HPLC

Tabla 52. Áreas de los picos cromatográficos en función de concentraciones conocidas ensayadas.

Concentración de Sinigrin (mg/ml)	Área del pico obtenida por HPLC
0.0238	431164.597
0.0477	856468.381
0.0955	1709549.42
0.4776	8543158.12

Fuente: Registro de Investigación

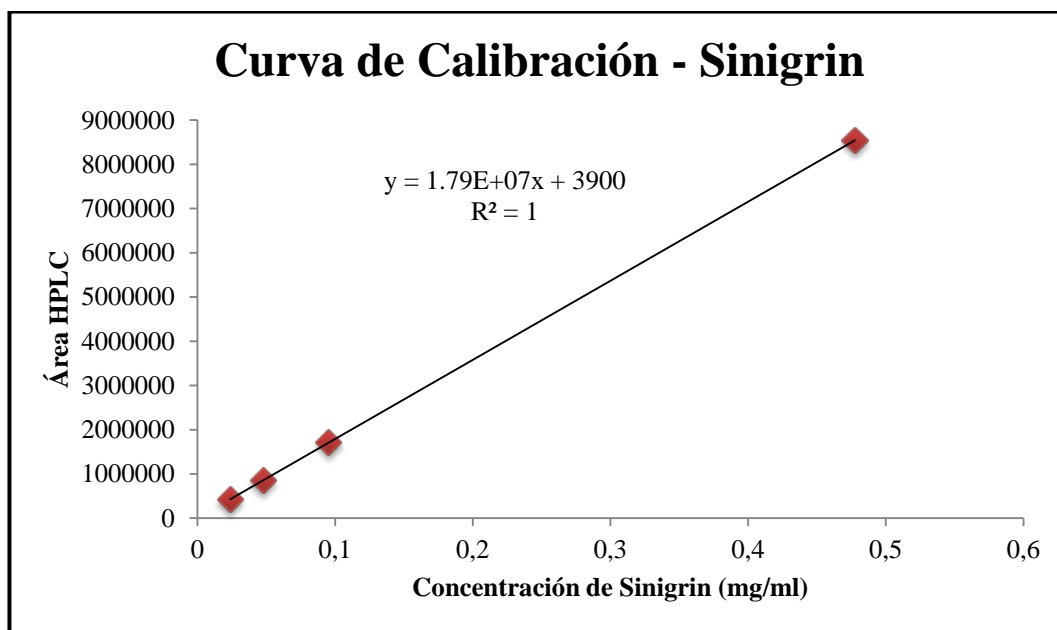


Figura 46. Curva de Calibración del Sinigrin para el Método HPLC de Estándar Interno.

Fuente: Microsoft Office Excel 2010

Anexo 24. Fórmulas empleadas para la cuantificación del contenido de glucosinolatos y actividad mirosinasa.

$$[GSL] = \frac{(A - 3900) * Vf * Vext * FR * Fd * 10^5}{17900000 * Vcol * Wmta * MS * PM}$$

Ecuación 1. Cálculo del contenido de glucosinolatos en micromoles de glucosinolatos por gramo de tejido seco ($\mu\text{mol/gBS}$).

Donde:

- [GSL]: Concentración de Glucosinolatos ($\mu\text{mol/gBS}$)
- A: Área HPLC
- Wmta: Peso de muestra utilizado para preparar el extracto (g.)
- Vext: Volumen del extracto (ml)
- Vcol: Volumen de extracto añadido a la columna (ml)
- Vf: Volumen final (ml)
- FR: Factor de Respuesta
- MS: Contenido de Materia Seca
- PM: Peso Molecular del Glucosinolatos (g/mol)
- Fd: Factor de Dilución

$$MYR = \left[\left(\frac{A_{Bl} - 3900}{17900000} \right) * Vf_{Bl} - \left(\frac{A_{Trat} - 3900}{17900000} \right) * Vf_{Trat} \right] * \frac{Vext * Fd * 10^8}{Wmta * Vcol * MS * PM * t_{Rx}}$$

Ecuación 2. Cálculo de la actividad mirosinasa remanente en nanomoles de sinigrin transformado por gramo de base de tejido seco y por minuto (nmol/gBS.min), mediante la medición de sustrato consumido.

Donde:

- MYR: Actividad Mirosinasa (nmol/gBS.min)
- A_{Bl} : Área HPLC del Blanco
- A_{Trat} : Área HPLC del Tratamiento
- $Wmta$: Peso de muestra utilizado para preparar el extracto (g.)
- $Vext$: Volumen del extracto enzimático (ml)
- $Vcol$: Volumen añadido a la columna (ml)
- Vf_{Bl} : Volumen final del Blanco (ml)
- Vf_{Trat} : Volumen final del Tratamiento (ml)
- MS: Contenido de Materia Seca
- PM: Peso Molecular (g/mol)
- t_{Rx} : Tiempo de Reacción Enzimática (min)
- Fd: Factor de Dilución