

LISSETE LOURDES AGUIRRE HUAYHUA

FRANKLIN ORÉ ARECHE

JOVENCIO TICSIHUA HUAMAN

EVALUACIÓN DE FACTORES
DETERMINANTES EN EL
RENDIMIENTO Y ANTIOXIDACIÓN
DE ANTOCIANINAS EXTRAÍDAS EN
MASHUA NEGRA
(*TROPAEOLUM TUBEROSUM*)
POR FLUIDOS SUPERCRÍTICOS (FSC)

AUTORES

Lisete Lourdes Aguirre Huayhua

Franklin Oré Areche

Jovencio Ticsihua Huaman

**EVALUACIÓN DE FACTORES DETERMINANTES EN EL RENDIMIENTO Y
ANTIOXIDACIÓN DE ANTOCIANINAS EXTRAÍDAS EN MASHUA NEGRA
(*TROPAEOLUM TUBEROSUM*) POR FLUIDOS SUPERCRÍTICOS (FSC)**



2021

**EVALUACIÓN DE FACTORES DETERMINANTES EN EL RENDIMIENTO Y
ANTIOXIDACIÓN DE ANTOCIANINAS EXTRAÍDAS EN MASHUA NEGRA
(*TROPAEOLUM TUBEROSUM*) POR FLUIDOS SUPERCRÍTICOS (FSC)**

AUTORES

Lisette Lourdes Aguirre Huayhua
Franklin Oré Areche
Jovencio Ticsihua Huaman

EDITORAÇÃO

Elisete Ana Barp
Gabriel Bonetto Bampi
Gabriela Bueno
Inezia Zanardi
Janice Becker
Josiane Liebl Miranda

Catálogo na fonte - Biblioteca Universitária Universidade do Contestado (UnC)

635.2 A284e	Aguirre Huayhua, Lisette Lourdes Evaluación de factores determinantes en el rendimiento y antioxidación de antocianinas extraídas en Mashua Negra (<i>Tropaeolum tuberosum</i>) por fluidos supercríticos (FSC) : [recurso eletrônico] / Lisette Lourdes Aguirre Huayhua, Franklin Oré Areche, Jovencio Ticsihua Huaman. – Mafra, SC. Ed. da UnC, 2021. 69 f. Bibliografía: f. 62-69 ISBN: 978-65-88712-56-6 1. Mashua negra. 2. Antocianinas. 3. Engenharia agroindustrial. I. Oré Areche, Franklin. II. Ticsihua Huaman, Jovencio. III. Título.
----------------	---



Este libro fue publicado por Editora UNC después de la evaluación del Comité Científico de la
Universidade do Contestado - UNC.



UNIVERSIDADE DO CONTESTADO - UnC

SOLANGE SALETE SPRANDEL DA SILVA

Reitora

LUCIANO BENDLIN

Vice-Reitor

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE DO CONTESTADO - FUnC

ISMAEL CARVALHO

Presidente

AUTORES

Lisete Lourdes Aguirre Huayhua

Franklin Oré Areche

Jovencio Ticsihua Huaman

EDITORAÇÃO

Elisete Ana Barp

Gabriel Bonetto Bampi

Gabriela Bueno

Inezia Zanardi

Janice Becker

Josiane Liebl Miranda



ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	6
CAPÍTULO I – PRINCIPIOS TEÓRICOS DEL RENDIMIENTO Y ANTIOXIDACIÓN DE ANTOCIANINAS EN EXTRACCIÓN POR FLUIDOS SUPERCRÍTICOS (FSC)	8
1.1 MÉTODOS ESPECTRALES PARA LA CARACTERIZACIÓN DE LA ANTOCIANINA	8
1.2 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINA	9
1.3 MÉTODOS PARA DETERMINAR CAPACIDADES ANTIOXIDANTES.....	11
1.4 PROCESO DE EXTRACCIÓN CON FLUIDOS SUPERCRÍTICOS (FSC).....	13
CAPÍTULO II – BASES CONCEPTUALES DE LOS FACTORES DETERMINANTES DEL RENDIMIENTO Y ANTIOXIDACIÓN DE ANTOCIANINAS EN TUBÉRCULOS.....	16
2.1 NOCIONES DE PRESIÓN, TEMPERATURA Y COSOLVENTES	16
2.2 DEFINICIONES DE TUBÉRCULOS	17
2.3 TIPOS DE TUBÉRCULOS	18
2.4 CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS DE LOS TUBÉRCULOS.....	19
2.5 CARACTERÍSTICAS NUTRICIONALES DE LOS TUBÉRCULOS	20
2.6 GENERALIDADES Y CARACTERÍSTICAS DE LA MASHUA (<i>TROPAEOLUM TUBEROSUM RUIZ Y PAVÓN</i>).....	21
2.6.1 Características Taxonómicas	21
2.6.2 Propiedades Botánicas.....	22
2.6.3 Variedades de mashua.....	23
2.6.4 Importancia del Cultivo de Mashua en la Nutrición	24
CAPÍTULO III – FUNDAMENTACIONES BÁSICAS DE ANTOCIANINA Y FLUIDOS SUPERCRÍTICOS	26
3.1 NOCIONES DE ANTOCIANINA.....	26
3.2 ESTRUCTURA DE LAS ANTOCIANINAS	27
Figura 1 – Estructura de la antocianidina	28
3.3 PRINCIPIOS DE FLUIDOS SUPERCRÍTICOS	29
3.4 TIPOS DE FLUIDOS SUPERCRÍTICOS.....	30
3.5 PROPIEDADES DE LOS FLUIDOS SUPERCRÍTICOS.....	31

CAPÍTULO IV – EVALUACIÓN DE FACTORES DETERMINANTES EN EL RENDIMIENTO Y ANTIOXIDACIÓN DE ANTOCIANINAS EXTRAÍDAS EN TUBÉRCULOS POR FLUIDOS SUPERCRÍTICOS (FSC): ESTUDIO DEL CULTIVO DE MASHUA NEGRA (<i>TROPAEOLUM TUBEROSUM</i> RUIZ Y <i>PAVÓN</i>).....	33
4.1 OBJETIVO GENERAL	33
4.2 HIPÓTESIS GENERAL	33
4.3 TIPO DE INVESTIGACIÓN	34
4.4 NIVEL DE INVESTIGACIÓN	34
4.5 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.....	34
4.6 MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN	36
4.6.1 Análisis Físico-Morfológico y Químico-Proximal de la Materia Prima.....	36
4.6.2 Análisis Fisicoquímicos del Extracto por Fluidos Supercríticos	37
4.7 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES	38
4.8 POBLACIÓN	39
4.9 MUESTRA.....	39
4.9.1 Técnica de muestreo	39
4.10 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOPIACIÓN DE DATOS	39
4.10.1 Procedimiento de Recolección de Datos.....	40
4.11 TÉCNICA DE PROCESAMIENTO DE DATOS	42
4.12 PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS DATOS.....	42
4.12.1 Caracterización Físico-Morfológica y Fisicoquímica de la Mashua Negra (<i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz y Pavón)	43
4.12.2 Efecto de las Condiciones del Proceso de Extracción Supercrítico (Temperatura, Presión y Cosolvente) en el Rendimiento de las Antocianinas Extraídas de Mashua Negra (<i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz y Pavón)	46
4.13 CONCLUSIONES.....	57
4.14 RECOMENDACIONES	58
CAPÍTULO V – CONSIDERACIONES EN TORNO AL RENDIMIENTO Y ANTIOXIDACIÓN EN TUBÉRCULOS: MASHUA NEGRA (<i>TROPAEOLUM TUBEROSUM</i> RUIZ Y PAVÓN)	59
BIBLIOGRAFÍA	62

INTRODUCCIÓN

A lo largo del tiempo, el consumo de diversos alimentos ha contribuido con la asimilación de diferentes nutrientes, entre dichos alimentos se encuentran los tubérculos, estos son un tipo de planta que crece bajo la superficie del suelo y debido al alto nivel de nutrientes que almacenan, son uno de los alimentos con mayor relevancia dentro de la dieta habitual de toda persona. Se debe resaltar que todo tubérculo tiene dentro de sus características la presencia de cierta coloración de acuerdo con el tipo al que pertenece, siendo las antocianinas los agentes responsables de estas diversas pigmentaciones: rosa, rojo, azul, morado, entre otros. De esta manera, Cutti (2019, p. 22) señala que:

Dado que las antocianinas imparten un color característico a las frutas y verduras, impactan en un parámetro de calidad clave al influir en la aceptación sensorial del consumidor. Una propiedad importante de las antocianinas es su actividad antioxidante, que desempeña un papel importante en la prevención de enfermedades neuronales y cardiovasculares, cáncer y diabetes, entre otras.

Bajo dicha premisa, se comprende que las antocianinas además de ser un factor que determina la pigmentación de frutas y verduras (también utilizada como sustituto de coloraciones artificiales), contribuye a su vez con la prevención de enfermedades debido a su actividad antioxidante. Sin embargo, en la pigmentación en los alimentos, se registran inconvenientes por causa de la poca estabilidad que estas presentan, viéndose afectadas por elementos como la temperatura, el nivel de acidez, la luz, los disolventes y su propia estructura.

En ese sentido, se resalta que la antocianina puede ser afectada fácilmente, lo que implica también que se impacten los niveles de rendimiento y antioxidación que tengan los alimentos que presentan este compuesto, por lo que para determinar los niveles de antioxidación de los tubérculos, es necesario realizar una serie de procesos químicos para su extracción, siendo una de las técnicas la denominada extracción por fluidos supercríticos. Desde esta perspectiva, Reyes (2018, p. 8), argumenta lo siguiente:

Un fluido supercrítico es un estado de la materia en la que se encuentra bajo condiciones de presión y temperatura superior a su punto crítico, en el que no se pueden distinguir el estado gaseoso del estado líquido. En este punto el compuesto es compresible, comportándose como un gas y tiene la densidad de un líquido y, por lo tanto, su poder disolvente.

De este modo, se entiende que el proceso de extracción por fluidos supercríticos se da bajo condiciones de presión y temperatura altas, donde no hay una distinción entre el estado gaseoso y el líquido, asimismo, tiene un alto poder disolvente.

Cabe resaltar que existen numerosos tipos de fluidos supercríticos, siendo el más usado el dióxido de carbono debido a los bajos costos y mayor nivel de comercialización, así como los niveles de pureza que tiene para llevar a cabo el procedimiento; además, es un compuesto que no es inflamable ni tóxico a diferencia de otros disolventes orgánicos, lo que significa también que contribuye indirectamente a reducir los niveles de contaminación ambiental y, de esta manera, permite una alimentación saludable y sostenible.

CAPÍTULO I

PRINCIPIOS TEÓRICOS DEL RENDIMIENTO Y ANTIOXIDACIÓN DE ANTOCIANINAS EN EXTRACCIÓN POR FLUIDOS SUPERCRÍTICOS (FSC)

Las antocianinas son elementos que se encargan de la pigmentación de ciertos alimentos (frutas y verduras), dándoles tonalidades de coloración rosa, rojo, azul y morado; sin embargo, las propiedades de las antocianinas se ven afectadas por distintos factores, lo que repercute en los niveles de rendimiento y antioxidación de los alimentos, por lo que para determinar dichos niveles es necesario que los alimentos atraviesen procesos de extracción de antocianina, en este caso a través del proceso por fluidos supercríticos (FSC).

1.1 MÉTODOS ESPECTRALES PARA LA CARACTERIZACIÓN DE LA ANTOCIANINA

El color de los alimentos influye en su nivel de aceptación dentro de una dieta alimenticia y con ello ingerir los nutrientes que estos puedan tener. Dentro de dicho contexto, la antocianina, la cual da una determinada coloración a los alimentos, es un elemento beneficioso para la salud, por lo que existe una variedad de métodos para caracterizarla y cuantificarla. En ese sentido, Davalos (2019) señala que uno de los métodos de espectrales para caracterizar las antocianinas es la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), la cual se caracteriza por ser rápida, sensitiva y cuantitativa. Asimismo, indica que:

La cuantificación de cromatogramas es, sin embargo, complicada por la falta de disponibilidad de estándares puros de antocianinas. Aunque en el pasado algunos estándares de antocianinas han estado comercialmente disponibles, en muchos casos el aislamiento preparativo de antocianinas puras es todavía necesario (DAVALOS, 2019, p. 27).

Dicho de otro modo, es una práctica habitual que solo un estándar de antocianina es usado y los demás picos de antocianinas son cuantificados en contra de dicho estándar. Asimismo, agrega que el método es llevado exclusivamente en columnas C18 (Octadecyl-siloxane).

Por su parte, Hernández et al. (2017) desarrollan el método de espectroscopia de infrarrojo cercano (NIR), el cual corresponde a un método alternativo que permite analizar un gran número de muestras en corto tiempo sin la necesidad de realizar un proceso de extracción de los compuestos. De igual manera, señalan que:

El NIR es un método simple, de bajo costo, que permite obtener los resultados en tiempo real, y es de gran utilidad en programas de mejoramiento donde se debe analizar gran número de muestras en períodos de tiempo relativamente cortos (HERNÁNDEZ et al., 2017, p. 220).

En este sentido, se entiende que el método de espectroscopia de infrarrojo cercano (NIR) es el más utilizado para cuantificar los niveles de antocianina, debido a los bajos costos que requiere para ser llevado a cabo y su facilidad para trabajar con grandes cantidades y obtener resultados en tiempo real. Asimismo, Mejía (2016) hace referencia a un tipo de método por espectroscopia de UV-Visible, el cual caracteriza e identifica el tipo de antocianina que corresponde, en dicho método el espectro de absorción depende del pH. Asimismo, agrega que:

Este último consiste en el uso de un agente blanqueador que decolorara a las antocianinas sin afectar a los compuestos interferentes. Se obtiene una medida de la absorbancia máxima en la región visible, seguida por la decoloración. Los agentes blanqueadores más empleados son bisulfito de sodio y peróxido de hidrógeno (MEJÍA, 2016, p. 26).

Por lo tanto, se determina que existe una variedad de métodos para caracterizar y cuantificar las antocianinas, los cuales van a estar supeditados por los niveles de pH, así como la toxicidad y costos que se requieren para realizar dichos procedimientos.

1.2 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINA

Para determinar los niveles de antocianina es necesario realizar procesos de extracción, los cuales están diferenciados de los procesos de caracterización expuestos en el apartado anterior, pues esta extracción corresponde a una técnica de separación de productos orgánicos. Así, en su investigación, Huapaya (2018) fundamenta los siguientes cinco modelos de extracción:

- Maceración: se da al presentar al sólido un solvente hasta que se impregne en su estructura y disuelva las partes solubles a temperatura ambiente de acuerdo con el tiempo determinado, tomando en cuenta que los sólidos deben encontrarse sumergidos. Asimismo, “si el tiempo de maceración se retrasa, los conservadores deberían utilizarse para evitar modificaciones microbianas” (HUAPAYA, 2018, p. 17).
- Agitación: se da al añadir el solvente a la muestra en un vaso precipitado a través de un agitador donde se mezclará el solvente con la materia prima, de esta manera se tendrá como resultado el extracto final.
- Cocciones: se da cuando los fluidos obtenidos se someten a un proceso de ebullición de sustancias vegetales con agua u otro solvente. Es así como la muestra se coloca en un vaso precipitado, seguidamente se añade el solvente y pasa a ser hervido en diferentes tiempos, por lo que la temperatura de extracción debe ser ideal para que no afecte la estructura del extracto.
- Lixiviación: consiste en evacuar y recuperar el compuesto soluble de un sólido, considerándolo con una disolución (líquida). En este sentido, el sólido puede tratarse de una mezcla heterogénea (ya sea sólido o fluidos), así como una mezcla homogénea, estos sólidos presentan diferentes estructuras, por lo que la descomposición es fundamental para adaptar la superficie de contacto con lo soluble.
- Asistida por ultrasonido: se da cuando la propagación de ondas ultrasónicas en un medio líquido genera burbujas de cavitación debido a la variación de la presión, de esta manera, el colapso de las burbujas produce un aumento en la presión y temperatura, facilitando la destrucción de la superficie del material.

Por otra parte, Herrera y Rodríguez (2016) añaden dos tipos de extracción adicional:

- Extracción con solventes (ES): también considerada como extracción por solventes soxhlet. Se da con material seco colocado en un papel filtro, luego este se coloca dentro de un tubo extractor, mientras que en un balón se

coloca etanol; se calienta considerando que el flujo del agua en el condensador sea suficiente y se gradúa la intensidad del calor para impedir la ebullición violenta del etanol, después se calienta hasta que recircule y reduzca la coloración del extracto más solvente y, finalmente, se rotavapora y almacena.

- Extracción asistida por radiación con microondas (EAM): se toma una muestra del fruto deshidratado y triturado, se añade etanol y se somete a radiación con microondas convencional, se expone a tiempos diferentes de acuerdo con la potencia de los vatios; el extracto obtenido se filtra a vacío y el sobrenadante se rotavapora a vacío para finalmente ser almacenado.

Junto a los métodos de extracción expuestos en los párrafos precedentes, Jurado, Cifuentes y Hurtado (2020) adicionan el siguiente método de extracción:

- Extracción por fermentación simultánea (EFS): se da a través de un extracto crudo mediante la fermentación alcohólica de la muestra, utilizando levaduras. Además, las cáscaras de los elementos a analizar son lavadas con agua destilada y maceradas con ácido cítrico estéril inoculado, lo que permite desarrollar la fermentación del producto, esto debe darse a una temperatura controlada y en varios ciclos con las mismas condiciones para ser finalmente centrifugado.

Consecuentemente, existen una variedad de métodos de extracción para analizar las antocianinas, todo ello dependerá de los recursos, tiempo y compuestos que el investigador utilice, asimismo, se deben considerar los niveles de temperatura con la finalidad de no obstruir el proceso ni afectar la materia.

1.3 MÉTODOS PARA DETERMINAR CAPACIDADES ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes que se encuentran en los alimentos son aquellos que contribuirán a la estimulación de las defensas ante la reacción sobre el oxígeno del medio. En este sentido, existen diversos métodos para determinar la capacidad antioxidante que tienen los múltiples alimentos, debido a la complejidad de los

mecanismos de oxidación. Así, Diez (2018) expone los siguientes cinco tipos de métodos para determinar la capacidad antioxidante:

- ORAC: a través de este método se conoce el valor total antioxidante de un alimento y el valor de cada uno de los antioxidantes por separado, el cual está expresado en μ moles equivalentes Trolox por gramo. Este está basado en la habilidad antioxidante que posee para bloquear los radicales libres por donación de un átomo de hidrógeno. Donde “el radical peroxilo que se genera oxida a la fluoresceína produciendo productos no fluorescentes, por lo que se puede cuantificar la presencia de antioxidantes a partir de la disminución de la pérdida de fluorescencia” (DIEZ, 2018, p. 11).
- DPPH (*2,2-difenil-1-picrilhidracilo*): corresponde a un radical orgánico nitrogenado y estable de color violeta, este se va perdiendo de manera progresiva al entrar en contacto con las sustancias antioxidantes que dona un átomo de hidrógeno u otro radical. Asimismo, el antioxidante dona hidrógeno u otro radicalario al DPPH, por lo que se va a reducir a DPPH-H, en este sentido, el color se hará más débil, así como disminuirá a su vez la absorbancia.
- Folin-Ciocalteu: es un método que determina los fenoles totales, en el que un reactivo amarillo de Folin-Ciocalteu reacciona con restos fenólicos, tomando una coloración azul; sin embargo, esta reacción también se da para determinar la capacidad antioxidante, donde se extrae una disolución acuosa en metanol, la concentración en rotavapor y una lectura espectrofotométrica para expresarse como ppm de ácido cafeico.
- CUPRAC: la determinación de la capacidad antioxidante de la muestra se da en la reducción de Cu^{2+} a Cu^{+} con un reactivo oxidante llamado cromogénico neocuproina. De esta manera, los polifenoles ($-\text{OH}$) se oxidarán a formas quinolónicas ($=\phi$) y el Cu^{2+} será reducido a Cu^{+} coloreado.
- Ensayo de FRAP: método indirecto de transferencia de electrones, el cual está basado en el poder que tienen los antioxidantes con la finalidad de reducir el Fe^{3+} , midiendo el Fe^{2+} que resulta de la espectrofotometría UV-visible. De este modo, el complejo férrico-2,4,6-tripiridil-s-triazina, incoloro será reducido a un complejo ferroso coloreado.

Por su parte, Bohorquez (2018) añade el método ABTS, el cual es un radical que tiene la ventaja de medir la capacidad de compuestos hidrofílicos y lipofílicos, así como la representación de absorbancia. Además, señala que:

Se basa en la capacidad antioxidante del ABTS para secuestrar aniones radicales de larga vida. En el ensayo el ABTS es oxidado por radicales peróxido, por persulfato de potasio, por peróxido de hidrógeno, peroxidasa de rábano u otro oxidante hasta formar el catión radical ABTS (BOHORQUEZ, 2018, p. 22).

De esta forma, el autor indica que se presenta una coloración verde-azul y en la medición de los compuestos con capacidad antioxidante la reacción directa disminuye el color del catión radical ABTS.

Finalmente, Contreras (2019) agrega un método por ensayo de transferencia de electrones simples (SET), en el cual la acción antioxidante es simulada con sonda de potencial redox, esto implica que reaccionan con una sonda coloreada (agente oxidante) en lugar de radicales peroxilo. Los ensayos basados en este método pueden medir la capacidad que tiene un antioxidante para reducir un oxidante, lo que generará una variación en la coloración al reducirse. Asimismo, la intensidad del cambio de la coloración estará relacionada con la concentración de antioxidantes.

1.4 PROCESO DE EXTRACCIÓN CON FLUIDOS SUPERCRÍTICOS (FSC)

La extracción con fluidos supercríticos (FSC) es una operación unitaria para obtener los compuestos activos de un alimento. En este sentido, Torres (2018) define que la extracción por fluidos supercríticos explota el poder del disolvente de estos en condiciones que se encuentran por encima de la temperatura y presión crítica, de manera tal que se obtienen los extractos libres de solventes, por lo que el proceso de extracción es más rápido en comparación con el método de extracción con disolventes orgánicos convencionales. Además, añade que:

El uso de CO₂ en el método de fluidos supercríticos, logra una alta selectividad de microcomponentes valiosos en productos naturales. La selectividad del CO₂ también es apropiada para la extracción de aceites esenciales, pigmentos, carotenoides, antioxidantes, antimicrobianos y

sustancias relacionadas que son usadas como ingredientes en alimentos, medicina y perfumería (TORRES, 2018, p. 11).

Por tanto, se comprende que en el proceso de extracción por fluidos supercríticos se da el uso de CO₂, el cual es un compuesto importante para la determinación de las antocianinas. Cabe resaltar que su importancia se destaca por la variedad de sectores en los que puede ser usado, como alimentos, perfumería u otros.

Para Vilca (2019), la extracción por fluidos supercríticos reemplaza los métodos de separación tradicional gracias a las ventajas que tiene en su procedimiento por ser amigable con el medioambiente y reducir los niveles de toxicidad. Asimismo, indica que la extracción se lleva a cabo en cuatro etapas siendo estas:

La primera es un ajuste de temperatura mediante resistencias que aportan energía térmica, el solvente previamente escogido se calienta hasta elevarlo por encima de su temperatura crítica. La segunda etapa es un proceso de presurización en la que el disolvente ya calentado llega a un valor superior a su presión crítica. La tercera etapa es la fase de extracción y el fluido ya en las condiciones deseadas permanece en contacto con la muestra que lleva consigo el soluto. Por último, queda la etapa de separación, aquí el gas se descomprime por debajo de su presión crítica dejando al soluto libre en el recipiente del equipo (VILCA, 2019, p. 9-10).

A su vez, Reyes (2018) añade las ventajas y desventajas que poseen los fluidos supercríticos.

En cuanto a las ventajas refiere las siguientes:

- Penetra dentro de un sólido poroso con mayor facilidad, por lo que se da una extracción más rápida.
- La disolución del fluido es controlada en función a la presión y/o temperatura.
- Se hace pasar fluido fresco a través de una muestra continuamente.
- Son recuperados fácilmente del extracto mediante despresurización.
- Los compuestos termolábiles pueden extraerse sin ningún daño, debido a las bajas temperaturas.
- Utiliza disolventes no hostiles para el medioambiente.
- Puede ser reciclado y los niveles de contaminación ambiental minimizados.

En cuanto a las desventajas refiere las siguientes:

- Debido a su naturaleza, requiere niveles altos de presión para la extracción.
- Se requiere un alto costo de inversión en equipo y mantenimiento.
- La compresión necesita medidas elaboradas de recirculación para reducir costos energéticos.
- Disuelve pocos compuestos no polares.
- El uso de modificadores altera la polaridad del CO₂, por lo que se puede requerir después un proceso de separación adicional.

CAPÍTULO II

BASES CONCEPTUALES DE LOS FACTORES DETERMINANTES DEL RENDIMIENTO Y ANTIOXIDACIÓN DE ANTOCIANINAS EN TUBÉRCULOS

Los tubérculos han formado parte de la dieta alimenticia de múltiples familias a lo largo del tiempo y en los diversos territorios, todo ello se debe a sus cualidades nutricionales, las cuales no solo se aplican a las condiciones del cultivo, sino también son inherentes del alimento, donde influyen factores como la pigmentación. Dentro de este contexto, se encuentran las antocianinas que son compuestos que determinan la coloración de ciertos alimentos, entre ellos la diversidad de tubérculos, contribuyendo con múltiples beneficios para la salud del ser humano. Se debe resaltar que las antocianinas a su vez se ven subordinadas por una serie de factores que determinan su rendimiento y antioxidación.

2.1 NOCIONES DE PRESIÓN, TEMPERATURA Y COSOLVENTES

Factores como la presión, temperatura y cosolventes son aquellos elementos que contribuyen o afectan en el rendimiento y proceso de antioxidación de las antocianinas en los tubérculos. De este modo, Viguera (2019) indica que la presión afecta directamente la densidad, por lo que la densidad del CO₂ tiende a mejorar la solubilidad, mientras tanto la temperatura es un factor que tiene doble impacto sobre la solubilidad, dado que por un lado desciende la densidad del CO₂, además de aumentar la presión del vapor del soluto, lo que implica mejorar la concentración del soluto en la fase supercrítica. Por su parte, Rodríguez (2019) añade el concepto de cosolvente, el cual también es denominado como modificador, pues argumenta que constituye una herramienta en la selectividad de una extracción o separación cromatográfica. Asimismo, indica que:

Es un componente adicional, generalmente de volatilidad intermedia, que se agrega en pequeñas cantidades al solvente supercrítico con la finalidad de aumentar la solubilidad del soluto en la fase supercrítica, logrando así separaciones más efectivas. El incremento de solubilidad es debido al hecho de que los cosolventes son seleccionados de modo que interactúan más fuertemente con el soluto que con el solvente supercrítico, creando un

puente de hidrógeno o fuertes interacciones dipolo-dipolo (RODRÍGUEZ, 2019, p. 11).

De esta forma, se comprende que los cosolventes se utilizan en ocasiones donde los solventes tradicionales no resultan por sí mismos, además, el autor agrega que elementos como el etanol o metanol son los cosolventes con mayor utilidad debido al pequeño tamaño que tienen y los fuertes enlaces de hidrógeno con el soluto.

2.2 DEFINICIONES DE TUBÉRCULOS

Los tubérculos son una de las fuentes de nutrientes que está incluida en la dieta de diferentes familias a nivel mundial, estos tienen una diversidad de presentaciones para hacer agradable su consumo. Dicho de este modo, Bonete et al. (2016) exponen que los tubérculos son un tipo de tallo engrosado, cuyas raíces tuberosas se generan por un proceso similar en el órgano del mismo nombre, estos están originados por la necesidad de ciertas plantas por acumular reservas, formadas en su mayoría por almidón. Además, añaden que:

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, algunos de ellos corresponden a tubérculos y raíces tuberosas (BONETE, et al. 2016, p. 39).

Bajo la premisa precedente, se resalta también que los tubérculos tuvieron sus inicios en América, por lo que la alimentación a base de estos elementos fue de gran aporte calórico y nutritivo para las poblaciones durante décadas; no obstante, dichos hábitos alimenticios fueron modificándose con la introducción de nuevos cultivos y productos.

De otro lado, Apacclla (2018) señala que los tubérculos son tallos modificados y constituyen principalmente el almacenamiento de carbohidratos. A su vez indica lo siguiente:

El tubérculo tiene el extremo basal y el extremo distal, donde las yemas se distribuyen sobre la superficie de la papa en forma espiral, concentrándose en la parte apical y se encuentran en las axilas de las hojas membranosas

denominadas “cejas”. De acuerdo con la especie, pueden ser superficiales o profundas y cada ceja contiene varias yemas (APACCLLA, 2018, p. 11).

Por consiguiente, se determina que los tubérculos hacen referencia a un tipo de tallo que constituye una modificación para engrosarse, asimismo, estos son una fuente de reservas nutricionales, por lo que se les atribuye grandes beneficios alimenticios para el consumo humano. A su vez, Damián (2019) argumenta también que los tubérculos se caracterizan por tener raíces muy ramificadas, tallos gruesos y una altura promedio entre 0.05 a 1 m, asimismo, estos tienen presencia de hojas y flores agrupadas, formando un producto alargado y redondeado. En cuanto a su reproducción o plantación, pueden ser vegetativos o pueden reproducirse a través de las semillas, cuya cosecha se da en suelos arenosos principalmente.

Finalmente, se resalta que la mayor variedad de tubérculos que existe a nivel mundial tuvo sus orígenes en regiones americanas y pasaron a extenderse por distintos territorios, en este sentido, se ve reflejada la importancia del consumo de dicho alimento debido a sus valores nutricionales y a su diversidad de presentaciones.

2.3 TIPOS DE TUBÉRCULOS

Los tubérculos han sido productos que se originaron hace varios siglos en la historia nutricional del mundo, con el pasar del tiempo y la tecnología también se han producido múltiples cambios genéticos en dichos elementos, contribuyendo a la formación de una amplia diversidad de estos. De esta manera, Damián (2019) argumenta que existen dos tipos de tubérculos: los de tallo o rizomas engrosados y los de raíz o radicales.

- Tubérculos de tallo o rizomas engrosados: Son de fácil identificación, dado que se forman cerca de la superficie del suelo siendo el mismo tallo parte de él, formándose así el tubérculo. Otros de este tipo son la zanahoria, oca, nabo, jengibre, entre otros.
- Tubérculos de raíz o radicales: Caracterizados por una amplia raíz que funciona como un órgano de almacenamiento para la planta, la cual se

produce al final, en medio de la raíz o involucrada completamente, tal es el caso de la papa, yuca, entre otros.

Por tanto, se concluye que los tubérculos se encuentran clasificados por el tipo de raíz, así como por la formación que tienen, manteniendo una amplia variedad de dichos alimentos. Cabe mencionar que cada tipo de tubérculo va a estar determinado por una serie de características tanto botánicas como nutricionales, las cuales van a definir el tipo de producción y consumo para la dieta de una persona.

2.4 CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS DE LOS TUBÉRCULOS

Al presentarse una clasificación para los tubérculos, estos se verán determinados por una diferenciación respecto a sus características botánicas. En este sentido, Pazos (2017) hace referencia a las características de algunos tubérculos que se producen en los Andes, menciona que son estructuras vegetales de tallos que, principalmente, fueron engrosados para acumular nutrientes, asimismo, estos tienen la capacidad de formar yemas, las cuales son estructuras que formarán nuevas plantas que utilizan los nutrientes de la reserva acumulada en el tubérculo para su crecimiento. Respecto a su cosecha, el autor indica que:

Presentan una cosecha entre los 6 a 8 meses, dependiendo del tubérculo, a partir del envejecimiento general de las hojas; sin embargo, el tratamiento de cosecha depende de la especie, pues ciertos tubérculos andinos requieren de un proceso de suberización para formar una cáscara que recubre el tubérculo, como la papa y la oca, mientras que en otros no, como en el melloco (PAZOS, 2017, p. 6).

A su vez, se indica que en el caso de los tubérculos andinos el tiempo de vida útil tiene un máximo de quince días, siempre y cuando se mantengan las condiciones de almacenamiento ideales; por otro lado, los tubérculos como la oca requieren de un proceso de exposición al sol, lo que le da un mayor tiempo de vida útil.

De esta manera, se concluye que las características que presentan los diferentes tubérculos que se producen van a estar determinadas de acuerdo con el tipo de suelo en el que son cultivados, el territorio, el tiempo de vida, el nivel de

consumo, el cuidado y la región a la que pertenecen, por lo que pueden existir ocasiones donde un mismo tubérculo presente características diferenciadas considerando los factores mencionados anteriormente.

2.5 CARACTERÍSTICAS NUTRICIONALES DE LOS TUBÉRCULOS

Los tubérculos fueron uno de los alimentos más antiguos incluidos en la dieta de los pobladores, este hecho se debe en gran parte por los múltiples beneficios nutricionales que mantienen, los cuales han logrado que se sostengan poblaciones enteras a lo largo del tiempo. Así, Mejía et al. (2018) mencionan que en el caso de la mashua, también llamada cubio, y el ulluco son tubérculos que contienen propiedades antioxidantes y antibacterianas, además de aminoácidos esenciales, minerales y vitaminas. Además, señalan que las mencionadas están asociadas a tubérculos como la oca y la papa en relación con sus propiedades de repeler insectos por la presencia de fitoquímicos.

Por otro lado, Salto (2016) añade que los valores nutritivos de los tubérculos están relacionados por sus funciones reguladoras, como es el caso de la papa, tubérculo de mayor producción y consumo, la cual mantiene un alto contenido en vitaminas hidrosolubles, minerales y fibra. También menciona las siguientes propiedades:

- Fuente de vitaminas, cerca del 40 % de dosis diaria recomendada de vitamina C, además de vitaminas del complejo B.
- Rica en minerales como el potasio y proteínas.
- Fuente de fenoles y libre de grasa.
- Niveles mínimos de azúcares solubles.
- Baja densidad energética, rápida digestión.

Por tanto, se concluye que la variedad de tubérculos mencionados presenta también una variedad de propiedades nutritivas, las cuales tienen en común ser fuente de vitaminas, minerales, proteínas, asimismo, se les atribuye propiedades antioxidantes y antimicrobianas, resaltando nuevamente su alto valor nutricional para ser incorporados en una dieta de consumo diario.

2.6 GENERALIDADES Y CARACTERÍSTICAS DE LA MASHUA (*TROPAEOLUM TUBEROSUM* RUIZ Y PAVÓN)

A través del tiempo se ha desarrollado y clasificado una variedad de cultivos de tubérculos, los cuales han tenido una notable presencia en la dieta de diferentes poblaciones a nivel mundial, permitiéndoles tener una nutrición adecuada y accesible, en este sentido, uno de los tubérculos con mayor relevancia después de la papa, olluco y oca, es la mashua o *Tropaeolum tuberosum*.

Cuadro 1 – Nombres de la mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón)

Nombre	País
Cubio	Colombia
Mashua, mashwa	Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia
Añu	Perú, Bolivia
Mishwa	Bolivia
Cubio	Colombia
Isaño	Perú, Bolivia y Argentina
Apiña mama	Bolivia

2.6.1 Características Taxonómicas

La mashua es un tubérculo originario de la región andina, lo que implica que es una planta que puede ser cultivada a bajas temperaturas, afirmándose que es una de las más resistentes al frío. Así, Ramón (2017) expone que la mashua pertenece a la familia *Tropaeolaceae*, familia pequeña y homogénea de plantas herbáceas, en su mayoría trepadoras. Además, afirma que “la familia incluye tres géneros y los tres tienen la capacidad de formación de tubérculo. El género más grande es *Tropaeolum*, que contiene 86 especies, distribuidas desde el sur de México hasta todo lo largo de América del Sur” (RAMÓN, 2017, p. 6).

A su vez, la especie *Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón se divide en dos subespecies, siendo la cultivada *T. tuberosum* ssp. *tuberosum* la subespecie salvaje *T. tuberosum* ssp. *silvestre*. En cuanto a su clasificación taxonómica, Ramón (2017), basando su investigación en diferentes autores, indica que corresponde a:

- Reino: *Plantae*
- División: Angiosperma
- Tipo: Angiospermales

- Clase: Dicotiledóneas
- Subclase: Archidamideas
- Orden: Geraniales
- Familia: *Tropaeolaceae*
- Género: *Tropaeolum*
- Especie: *Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón

2.6.2 Propiedades Botánicas

La mashua es un cultivo que se encuentra en la región andina, por lo que la forma de cultivo y reproducción ha sufrido numerables cambios a lo largo del tiempo; sin embargo, existen características que se han logrado mantener durante generaciones aun considerando las diferencias en el suelo, el sembrío y la cosecha. Valle (2017) establece que la mashua es una planta anual, herbácea de 20-80 cm, desprovista de pelos y glándulas en todas las partes, la cual durante la fase de crecimiento es erecta y varía a semipostrada y, ocasionalmente, se convierte en trepadora a través de pecíolos táctiles.

Referente a sus hojas, estas son alternas y brillantes, sus flores son solitarias, zigomorfas y nacen en las axilas de las hojas. Respecto al fruto, este es esquizocarpo, formado de tres mericarpos insemínados indehiscentes y su semilla botánica es viable. Asimismo, añade que:

Sus tallos son cilíndricos y tienen de 3-4 mm de espesor con ramificación, pueden variar en color de verde a púrpura-gris con diversos grados de pigmentación. El color del follaje varía desde el amarillo-verde a verde oscuro. Las hojas tienen de 5-6 cm de ancho, son tri o penta lobuladas. Los tubérculos son menos variables de forma que los de la oca y el olluco (VALLE, 2017, p. 15).

Respecto a su color, este varía entre una coloración amarillo-blancuzca a púrpura-gris y negra; las yemas axilares del tubérculo suelen ser profundas, anchas y estrechas, sin brácteas. Una propiedad relevante es que la mashua es autofértil, a su vez, al ser una especie rústica tiene una alta resistencia a las bajas temperaturas y suelos pobres, por lo que no presenta la necesidad de fertilizantes, asimismo, su ciclo de cultivo varía entre los 6 y 9 meses, generando un mayor rendimiento en

cultivo frente a otras especies tuberosas andinas. Además, Valle (2017, p. 16) añade que:

Sembrada a 1 metro de distancia entre planta y planta, alcanza estaturas que van desde los 35 cm a los 70 cm. La temperatura óptima para su desarrollo debe estar entre 12 y 14 °C y puede almacenarse por hasta seis meses en lugares con ventilación y frío.

Bajo la premisa anterior, se resaltan las propiedades inherentes al cultivo de la mashua, las cuales corresponden a un cultivo de bajo costo debido a la facilidad de siembra que tiene, así como la baja o inexistente necesidad de utilizar fertilizantes. Asimismo, se le añade que es una planta resistente a plagas e insectos como el gorgojo, por lo que se toma este cultivo como un elemento que ayuda a hacer cercos de protección para otros cultivos, debido a su alta resistencia.

De esta manera, se concluye que la mashua es uno de los tubérculos con mayores niveles de producción por la gran facilidad que se tiene respecto a su reproducción y su gran variedad. Se debe mencionar que dicho tubérculo también presenta múltiples beneficios para la nutrición del ser humano, como para su salud, generando que sea uno de los alimentos de mayor consumo en las regiones andinas.

2.6.3 Variedades de mashua

La mashua es uno de los tubérculos de mayor relevancia en la alimentación de las regiones andinas, por su alta durabilidad, facilidad de producción y gran diversidad. Dentro de sus características, Alemán, (2019) menciona que, de acuerdo con la coloración, se clasifican en tubérculos de color uniforme, en su mayoría blancos, los cuales contienen altos niveles de antocianinas y se manifiestan con franjas longitudinales rojas o moradas.

Por su parte, Del Águila (2018) añade que existen más de cien tipos de mashua, los cuales son reconocidos por sus tonos: occeañu, yanaañu, puccañu, yuracañu, ckelloañu o sapalluañu, checcheañu y muruañu.

Según las investigaciones repasadas en los párrafos precedentes, se determina que no hay una sola forma de clasificar las variedades de mashua que

existen, dado que se han registrado más de cien tipos de mashua; sin embargo, se resalta que las clasificaciones van a estar determinadas por el color, textura, forma, entre otras características, las cuales van a contribuir para la elección de su consumo y su inclusión en la dieta de las personas.

Cuadro 2 – Variedades de mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón)

Variedad	Color
Occe añu, occe izaño	Plomizo
Yana añu, Chiara izaño	Negruzco
Puca añu, Chupica izaño	Rojizo
Muru añu	Morado
Chhecce añu	Gris
Zapallo añu, izañu	Amarillo
Checche izaño	Amarillo con ojos azules
Wilajachasquiri izaño	Amarillo con rayas rojas
Yurac añu	Blanco

2.6.4 Importancia del Cultivo de Mashua en la Nutrición

La mashua es ampliamente reconocida por sus valores nutricionales y medicinales para la humanidad, tan igual o mayor que el tubérculo más consumido: la papa. En ese sentido, Taipe (2017) menciona que la mashua tiene un alto contenido de proteínas, incluso mayor al de la papa, de igual manera, esta contiene carbohidratos, fibra, ácido ascórbico y calorías, además de una alta concentración de glucosinolatos aromáticos, los cuales al ser hidrolizados se transforman en isotiacinaatos, estos son los responsables de darles el picor característicos a este tubérculo. El factor descrito a su vez tiene propiedades antibióticas, anticancerígenas y diuréticas. Asimismo, añade que:

Algunas variedades de este tubérculo pueden contener apreciables cantidades de carotenos (vitamina A), vitamina C, además, tiene una cantidad elevada de aminoácidos esenciales como lisina, aminoácido limitante en muchos cereales y leguminosas. Además, contiene minerales como el K, P, Fe, Mn, Zn, Cu (TAIPE, 2017, p. 5).

El autor también expone que se da un incremento de la dulzura en su almacenamiento, debido a la hidrolización de los almidones en azúcar y, como ya se mencionó, su valor nutricional supera al de la papa. Por otro lado, Alemán (2019),

agrega que la mashua tiene propiedades nutricionales que estimulan el crecimiento, pues contiene altos niveles de vitamina C, lo que contribuye con el mantenimiento de los cartílagos y ayuda a la absorción del hierro y con ello a prevenir la anemia e infecciones y a estimular el sistema inmune, asimismo, “presenta un alto contenido de fibra, por ende, estimula la motilidad intestinal. El fósforo, el calcio y carotenoides precursores de vitamina A también están presentes. Cabe recalcar que sus colores amarillos y anaranjados indican un considerable contenido de carotenoides” (ALEMÁN, 2019, p. 11), estos poseen una actividad antioxidante, por lo que se les atribuye propiedades capaces de prevenir o retrasar los daños celulares.

Por consiguiente, se concluye que la mashua posee altos valores nutricionales, relacionados íntimamente a un mantenimiento y mejora en la salud de la población, por lo que resulta fundamental la creación de políticas nutricionales que den a conocer dichas propiedades y promuevan el consumo de este tubérculo en la sociedad en general.

Tabla 1 – Composición química en 100 g de mashua fresca (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón)

Componentes	Cantidad		
	(Arbizu y Tapia, 1982)	Collazos et al., 1996)	(Meza et al., 1997)
Humedad (g)	79.10-88.8	87.4	86
Carbohidratos (g)	-	9.8	11
Proteína (g)	1.13-2.65	1.5	1.6
Grasa (g)	-	0.7	0.6
Cenizas (g)	0.56-1.08	0.6	0.8
Fibra (g)	-	0.9	0.8
Azúcares (g)	5.37-9.33	-	-
Potasio (mg)	1.28-1.76	-	-
Fósforo (mg)	0.61-0.83	29	42
Calcio (mg)	-	12	7
Hierro (mg)	-	1.0	1.2
Vitamina A (mg)	-	-	15
Tiamina (mg)	-	0.10	0.06
Riboflavina (mg)	-	0.12	0.08
Niacina (mg)	-	0.67	0.6
Vitamina C (mg)	-	77.5	67

CAPÍTULO III

FUNDAMENTACIONES BÁSICAS DE ANTOCIANINA Y FLUIDOS SUPERCRÍTICOS

El incremento de la producción y consumo de la mashua se debe en gran parte a las propiedades nutricionales y medicinales que dicho alimento contiene y para determinar estas propiedades, es necesario que el tubérculo atraviese una serie de procesos experimentales como la extracción por fluidos supercríticos, el cual tiene la finalidad de descubrir los beneficios que presenta como la antocianina, de esta manera, se busca certificar su utilidad propiciando un mayor consumo a nivel poblacional.

3.1 NOCIONES DE ANTOCIANINA

De acuerdo con los argumentos de los capítulos precedentes, se ha mencionado que la antocianina es la encargada de dar la coloración a una diversidad de frutas y verduras, además de que a este elemento también se le atribuyen otras propiedades beneficiosas para la salud del ser humano. De este modo, Rolón (2018, p. 23) indica que:

Las antocianinas representan el grupo más importante de pigmentos hidrosolubles detectables en la región visible por el ojo humano. Estos pigmentos son responsables de la gama de colores que abarcan desde el rojo hasta el azul en varias frutas, vegetales y cereales, y se encuentran acumulados en las vacuolas de la célula.

Asimismo, menciona que las antocianinas son glucósidos, los cuales pertenecen a la familia de los flavonoides compuestos por dos anillos aromáticos, A y B, unidos por una tercera cadena C. De igual manera, existen seis tipos de antocianinas en las flores y frutas: “la cianidina (rojo), delphinidina (azul), malvidina (púrpura), pelargonidina (anaranjado), peonidina (rojo-marrón) y la petunidina (rojo oscuro)” (ROLÓN, 2018, p. 23). Así pues, se comprende que las antocianinas son los agentes responsables de las diferentes coloraciones de los alimentos, cubriendo una gama de colores desde el amarillo hasta el azul y morado.

Por otra parte, Ballesteros y Díaz (2017) añaden que las antocianinas tienen funciones en la planta como la atracción de polinizadores para la posterior dispersión de semillas y la protección de las plantas contra los efectos de la radiación ultravioleta, y se utilizan como colorantes naturales para ciertos alimentos. Además, señalan que:

El color de las antocianinas es determinado por el número y la orientación de los grupos hidroxilo y metoxilo de la molécula. Los aumentos en la hidroxilación originan desplazamientos hacia tonos azules, mientras que aumentos en las metoxilaciones originan tonos rojos (BALLESTEROS; DÍAZ, 2017, p. 16).

A su vez, se afirma que es estudiada por su aplicabilidad como indicador de pH debido a la baja cantidad de electrones que posee. De igual manera, se determina que las antocianinas son fundamentales por el impacto sensorial que poseen sobre los alimentos, lo cual tiene gran influencia en el procesamiento de estos y, por ende, su repercusión en la salud humana, debido a los múltiples beneficios que estas contienen. Además, las industrias alimentarias las utilizan como sustituto de los colorantes artificiales, generando un mayor atractivo para el consumo de ciertos alimentos. Por otro lado, también tienen un rol importante por sus propiedades antidiabéticas, por su facultad de controlar los lípidos y secretar insulina, así como sus efectos vasoprotectores. Por lo tanto, se concluye que las antocianinas no solo cumplen el papel de pigmentar los alimentos naturales, sino también tienen una notable importancia en la industria alimentaria y, sobre todo, en la salud del ser humano.

3.2 ESTRUCTURA DE LAS ANTOCIANINAS

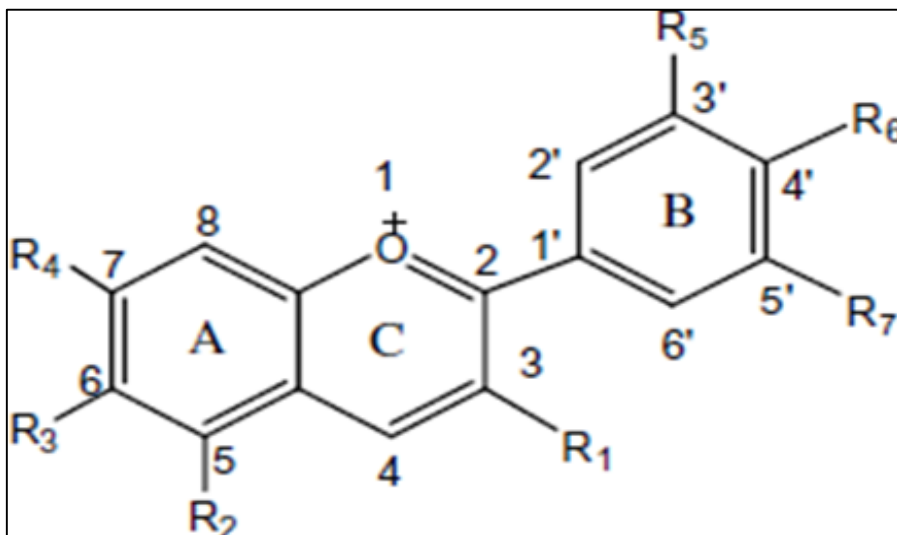
Las antocianinas químicamente se consideran glucósidos de las antocianidinas, esto significa que es la aglicona la que se une al azúcar a través de un enlace β -glucosídico. En ese sentido, Zárate (2019) indica que las antocianidinas (agliconas) son la estructura principal de las antocianinas, señalando que:

Está formado por un anillo [A] unido a un anillo heterocíclico que contiene oxígeno y, finalmente, está unido por un enlace carbono-carbono a un tercer anillo aromático [B]. Si las antocianidinas se encuentran en forma de glucósido (unido a un azúcar), se conocen como antocianinas (ZÁRATE, 2019, p. 19-20).

Por lo que se comprende que las antocianinas se dan por la formación de las antocianidinas junto a un azúcar. A su vez, se agrega que las variedades de antocianinas se diferencian por el número de hidroxilados y azúcares que están unidos a su estructura. Asimismo, la presencia del color que presentan las antocianinas estará determinada por la cantidad de grupos hidroxilos (OH) y metóxilo (OCH₃) que se encuentren en el anillo [B] de cada antocianina.

Por su parte, Suárez, Yazán y Narváez (2018) indican que en la estructura de las antocianinas se da una formación de puentes de hidrógeno; sin embargo, estos van a estar determinados por los enlaces polares OH y carbonilo, dado que el grupo OH es un donador de protones, lo cual potencializa la capacidad antioxidante de los antociánicos, y estos al involucrarse con los puentes hidrogenados producidos en la copigmentación intermolecular afectan la propiedad en los complejos de antocianina-copigmento.

Figura 1 – Estructura de la antocianidina



Nota. Castañeda-Ovando et al. (2009)

Figura 2 – Estructura de las principales antocianidinas

Name	Abbreviations	Substitution pattern						
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
Apigeninidin	Ap	H	OH	H	OH	H	OH	H
Arrabidin	Ab	H	H	OH	OH	H	OH	OMe
Aurantidinidin	Au	OH	OH	OH	OH	H	OH	H
Capensinidin	Cp	OH	OMe	H	OH	OMe	OH	OMe
Carajurin	Cj	H	H	OH	OH	H	Ome	OMe
Cyanidin	Cy	OH	OH	H	OH	OH	OH	H
Delphinidin	Dp	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH
Europinidin	Eu	OH	OMe	H	OH	OMe	OH	OH
Hirsutidin	HS	OH	OH	H	OMe	OMe	OH	OMe
3'-HydroxyAb	3'OHAb	H	H	OH	OH	OH	OH	OMe
6-HydroxyCy	6OHCy	OH	OH	OH	OH	OH	OH	OH
6-HydroxyDp	6OHDp	OH	OH	OH	OH	OH	OH	OH
6-HydroxyPg	6OHPPg	OH	OH	OH	OH	H	OH	H
Luteolin	Lt	H	OH	H	OH	OH	OH	H
Malvidin	Mv	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OMe
5-MethylCy	5-MCy	OH	OMe	H	OH	OH	OH	H
Pelargonidin	Pg	OH	OH	H	OH	H	OH	H
Peonidin	Pn	OH	OH	H	OH	OMe	OH	H
Petunidin	Pt	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OH
Pulchellidin	Pl	OH	OMe	H	OH	OH	OH	OH
Riccionidin A	RiA	OH	H	OH	OH	H	OH	H
Rosinidin	Rs	OH	OH	H	OMe	OMe	OH	H
Tricetinidin	Tr	H	OH	H	OH	OH	OH	OH

Nota. Castañeda-Ovando et al. (2009)

3.3 PRINCIPIOS DE FLUIDOS SUPERCRÍTICOS

Los fluidos supercríticos es uno de los métodos de extracción de antocianina que se utiliza para medir la capacidad antioxidante que presenta el compuesto. En este sentido, Bastidas y Campos (2018) fundamentan que el principio básico del método de extracción por fluidos supercríticos se debe al cambio en las propiedades de transporte y la solidez del solucionador en dicho estado, siendo el caso del dióxido de carbono como fluido uno de los factores que compiten por el efecto de los sólidos solutos. Asimismo, añaden que:

El aumento de la temperatura incrementa la presión de vapor del soluto y, por lo tanto, la solubilidad. Sin embargo, a medida que aumenta la temperatura, la densidad del CO₂ disminuye y los sólidos-sólidos tienden a disminuir. Cuando la presión excede el punto crítico de dióxido de carbono (7.38 MPa), la densidad del fluido no depende mucho de la temperatura, la presión de vapor del soluto se vuelve dominante y aumenta la solubilidad del soluto a temperatura ambiente (BASTIDAS; CAMPOS, 2018, p. 20).

También se añade otro principio de los fluidos supercríticos, siendo estos usados como agentes solventes de extracción, eliminados por depresión gradual hasta alcanzar la presión y temperatura ambiente, dando así una esencia pura, de

acuerdo con las condiciones de la extracción. Se debe recalcar que este método tiene ventajas por su alto rendimiento y compatibilidad con el medioambiente, así como la fácil eliminación y reciclaje.

Por último, las bajas temperaturas utilizadas para la extracción pueden cambiar los componentes esenciales, requiriendo bombas de alta presión y extractores que pueden soportar altas presiones.

3.4 TIPOS DE FLUIDOS SUPERCRÍTICOS

Para Reyes (2018), la extracción por fluidos supercríticos, de igual modo que otros métodos de extracción con disolventes líquidos, presenta dos maneras de extracción: estática y dinámica.

- Estática: en el tipo de extracción por fluidos supercríticos por la modalidad estática, la celda de extracción es presurizada con el fluido y mantiene cerrada la válvula de salida del extractor. Luego de finalizar la extracción, la válvula es abierta dejando pasar el fluido con los analitos extraídos al sistema de colección.
- Dinámica: en la extracción por fluidos supercríticos por modalidad dinámica, el fluido se deja circular de forma continua a través de la celda de extracción, asimismo, se mantienen las válvulas de entrada y salida del extractor abiertas durante el período de extracción; en dicho caso, el flujo sigue su proceso a través del sistema de extracción fijado por la presión de trabajo y las características del restrictor.

Cabe mencionar que la extracción de fluidos supercríticos dinámicos da mejores resultados y más rápidos, dado que, en dicha forma de operación, durante el proceso de extracción, se produce la renovación continua del fluido que entra en contacto con la muestra, lo que implica que sea difícil que el fluido pueda saturarse. De otro lado, el modelo de extracción de fluidos supercríticos estático permite alcanzar un equilibrio de reparto del analito entre la matriz y el fluido. De esta manera, realizando una comparación entre ambos tipos de extracción de fluidos

supercríticos, se resalta que la extracción que se da en la mayoría de los casos es la extracción estática antes que la dinámica.

3.5 PROPIEDADES DE LOS FLUIDOS SUPERCRTICOS

Según Bastidas y Campos (2018), las propiedades de los fluidos supercríticos son los siguientes:

- El valor de entalpía de vaporización es cero.
- Cuando la densidad es constante e igual a la densidad crítica, se tiende al infinito la capacidad calorífica a volumen constante.
- Presenta mayores coeficientes de difusión que en líquidos, por lo que la transferencia de materia es más favorable.
- No existe interfase gás-líquido.
- La compresibilidad isotérmica es infinitamente positiva.
- Tiene coeficiente de expansión infinito y positivo.
- La densidad encima del punto crítico depende de la presión y temperatura, más cercana a la de líquidos que gaseosos, esta densidad aumenta si lo hace la presión a temperatura constante y viceversa.
- Viscosidad menor que la de líquidos, lo que le confiere propiedades hidrodinámicas favorables.
- Tiene baja tensión superficial, lo que le permite alta penetrabilidad a través de sólidos porosos y lechos empacados.

Por su parte, Cotera y Yauri (2018) se enfocan en tres propiedades básicas y fundamentales de los fluidos supercríticos, siendo estos: densidad, difusividad y viscosidad, los cuales presentan una variación de acuerdo con la presión y la temperatura.

Referente a la densidad, los autores indican que “la densidad mantiene su valor siempre próximo a los típicos de los líquidos, a la que debe su propiedad como disolvente. Es conocido que la densidad aumenta notablemente al hacerlo la presión cuando la temperatura es constante” (COTERA; YAURI, 2018, p. 10).

Respecto a la difusividad, se señala que los fluidos supercríticos tienen difusividades semejantes a la de los gases, pues disminuye también la difusividad al bajar la temperatura y al aumentar la presión. En cuanto a la viscosidad, Cotera y Yauri (2018) afirman que:

La viscosidad de los fluidos supercríticos es similar a la de los gases, también varía con la presión y con la temperatura, esta aumenta al hacerlo la presión a temperatura constante. Por estas razones los fluidos supercríticos extraen compuestos químicos por la combinación de temperatura y presión (COTERA; YAURI, 2018, p. 10).

A su vez, Carrasco (2018) añade que los fluidos supercríticos se caracterizan porque sus propiedades físicas pueden variar, asimismo, presentan propiedades intermedias entre las de líquidos y gases, por lo que cuando alcanzan altas presiones presentan densidades aproximadas a las de un líquido, teniendo un alto poder solvente; caso contrario, a bajas presiones se dan propiedades de transporte similares a la de los gases, baja viscosidad y alta difusividad. Todo ello significa una reducción en los tiempos de procesamiento y facilita los procesos de transferencia de masa. Además, señala que:

El éxito de una extracción con un fluido supercrítico depende de manera importante de la interacción de este con el soluto, y las propiedades del solvente, lo que puede mejorar de manera importante si se incorpora el uso de cosolventes (CARRASCO, 2018, p. 5).

Por consiguiente, se concluye que gracias a las propiedades mencionadas es que los fluidos supercríticos son un tipo de solvente que resulta atractivo para los procesos de extracción a partir de matrices sólidas, debido al poder solvente y a su selectividad.

CAPÍTULO IV

EVALUACIÓN DE FACTORES DETERMINANTES EN EL RENDIMIENTO Y ANTIOXIDACIÓN DE ANTOCIANINAS EXTRAÍDAS EN TUBÉRCULOS POR FLUIDOS SUPERCRÍTICOS (FSC): ESTUDIO DEL CULTIVO DE MASHUA NEGRA (*TROPAEOLUM TUBEROSUM* RUIZ Y PAVÓN)

Los tubérculos han sido y son uno de los alimentos fundamentales dentro de la dieta del ser humano, por lo que se han desarrollado grandes cultivos a nivel mundial de diferentes tipos de tubérculos con la finalidad de sustentar la alimentación y supervivencia de las familias desde tiempos inmemoriales. Asimismo, los tubérculos presentan factores específicos que determinan su rendimiento y capacidad antioxidante, tal como la antocianina. Esta hace referencia a la pigmentación que presentan los tubérculos, los cuales también tienen beneficios para la salud y la nutrición, este compuesto es extraído a través de múltiples métodos, como el de fluidos supercríticos (FSC).

Por tal motivo, esta investigación se centra en la evaluación de factores determinantes en el rendimiento y antioxidación de antocianinas extraídas de tubérculos mediante fluidos supercríticos (FSC), en específico, el estudio se basa en el cultivo de mashua negra (*Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón*), el cual pretende analizar los factores relevantes para identificar el nivel de rendimiento y antioxidación a través del método de fluidos supercríticos (FSC).

4.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la presión, temperatura y cosolvente sobre el rendimiento y actividad antioxidante de las antocianinas extraídas de la mashua negra (*Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón*).

4.2 HIPÓTESIS GENERAL

La modificación de los parámetros de extracción por presión, temperatura y cosolvente mediante extracción por fluidos supercríticos son factores que determinan

el rendimiento y capacidad antioxidante de las antocianinas extraídas de la mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón).

4.3 TIPO DE INVESTIGACIÓN

La investigación realizada pertenece al tipo aplicada-experimental, pues busca conocer y analizar un tema específico a partir de la aplicación directa mediante la experimentación.

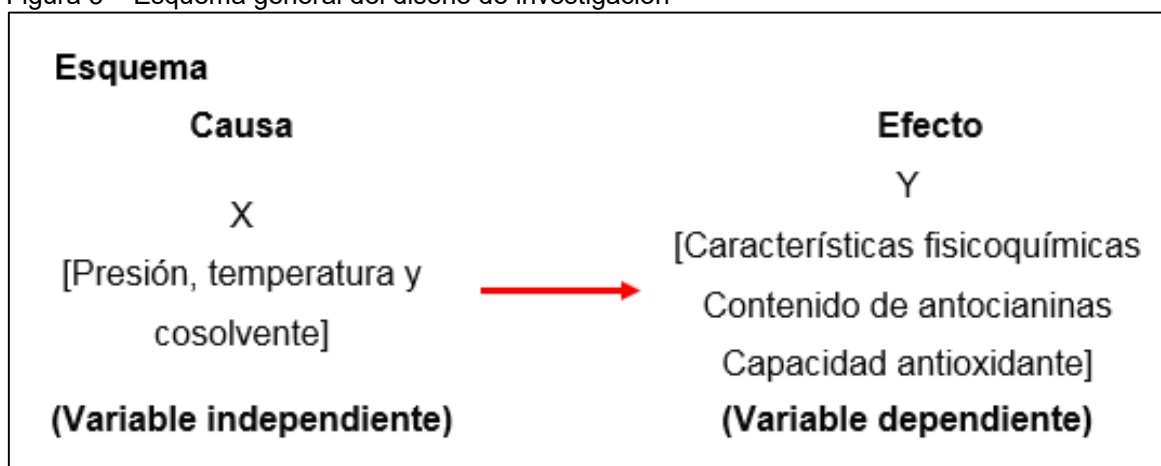
4.4 NIVEL DE INVESTIGACIÓN

El nivel de investigación fue el aplicativo-tecnológico, puesto que se buscó conocer el rendimiento y la capacidad antioxidante de las antocianinas extraídas de la mashua negra a través de la aplicación del método fluidos supercríticos (FSC). De esta manera, se buscó concretizar un hallazgo tecnológico, que contribuya al conocimiento de las propiedades de la mashua e incentive su consumo alimenticio en la población.

4.5 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Dadas las características del trabajo de investigación, se empleó una clasificación de las variables en independientes y dependientes, pues en el estudio se pretendió establecer relaciones entre dichas variables, como se muestra en la Figura 3.

Figura 3 – Esquema general del diseño de investigación



Por tanto, en este estudio se utilizó el diseño Box-Wilson, también llamado diseño compuesto central (CCD), con la finalidad de lograr un máximo de información sobre un proceso a partir de un número mínimo de experimentos, pues comparado con otros diseños, este proporciona la mejor predicción.

Los resultados experimentales, variables de proceso y sus rangos, luego de ser sometido al diseño Box-Wilson, se muestran en la Tabla 4, donde R es la variable respuesta.

Tabla 2 – Esquema del diseño experimental establecido en la investigación

Presión	Temperatura	Cosolvente (Etanol al 80 %)	Antocianinas (mg de cianidina/100 de extracto)	Capacidad antioxidante (µm de Trolox equivalente/100 g)
100	60	3	R	R
150	60	2	R	R
200	60	1	R	R
200	40	3	R	R
200	40	1	R	R
150	40	2	R	R
150	50	2	R	R
100	40	1	R	R
100	50	2	R	R
100	40	3	R	R
100	60	1	R	R
150	50	1	R	R
150	50	3	R	R
200	50	2	R	R
200	60	3	R	R
150	50	2	R	R
150	50	2	R	R

De esta manera, se utilizó una ecuación polinómica de segundo orden para desarrollar un modelo empírico que correlacione las respuestas a las variables independientes. La forma general de la ecuación polinómica de segundo orden fue:

$$Y = \beta_0 + \sum_{j=1}^k \beta_j X_j + \sum_{j=1}^k \beta_{jj} X_j^2 + \sum_i \sum_{j=2}^k \beta_{ij} X_i X_j + e_i$$

Donde:

Y es la respuesta (antocianinas monoméricas y/o capacidad antioxidante)

X_i y X_j son variables (i y j van de 1 a k)

β_0 es el coeficiente de intercepción del modelo; β_j , β_{jj} y β_{ij} son coeficientes de interacción de los términos lineal, cuadrático y de segundo orden, respectivamente; k es el número de variables independientes.

4.6 MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN

El método que se estableció para realizar la presente investigación fue el método deductivo, porque se evaluó el efecto de la presión, temperatura y cosolvente sobre el rendimiento de las antocianinas y su actividad antioxidante extraídas de la mashua negra por fluidos supercríticos, partiendo de premisas generales hasta llegar a los fenómenos concretos mencionados.

Para la evaluación de las características físico-morfológicas, químico-proximal y fisicoquímicas de la mashua fresca y el extracto de mashua extraídas mediante fluidos supercríticos, se aplicaron las siguientes metodologías:

4.6.1 Análisis Físico-Morfológico y Químico-Proximal de la Materia Prima

- a) Longitud y ancho de fruto: Método recomendado por Villamizar y Ospina (1995).
- b) Peso del fruto: Método recomendado por Villamizar y Ospina (1995).
- c) Determinación de humedad y materia seca: Método recomendado por la Association of Analytical Communities (AOAC) y Horwitz (1997).

- d) pH: Método recomendado por la Association of Analytical Communities (AOAC) y Horwitz (1997).
- e) Acidez: Método recomendado por la NTC 4106 - 1997.
- f) Sólidos solubles: Método refractométrico por la Association of Analytical Communities (AOAC) y Horwitz (1997).
- g) Evaluación de antocianinas totales monoméricas: Método recomendado por Fuleki & Francis (1968), y modificado por Giusti & Wrolstad (2003).
- h) Capacidad antioxidante: Método propuesto por Brand-Williams y Berset (1995), con posteriores modificaciones.

4.6.2 Análisis Fisicoquímicos del Extracto por Fluidos Supercríticos

- a) Evaluación de antocianinas totales monoméricas: Método propuesto por Fuleki y Francis (1968), y modificado por Giusti y Wrolstad (2003).
- b) Perfil antocianico del extracto de mashua: Método propuesto en el que se realizó:
 - Hidrolisis ácida de las antocianinas: En esta se obtiene aglicones por separación de los azúcares y otras sustancias (ácidos ligados a la estructura antociánica), con la finalidad de identificar las antocianidinas en el extracto. Para disolver 1 ml del acuoso acidificado con 10 ml de HCl.
 - Poner en contacto con gas nitrógeno, luego cerrar herméticamente por 45 minutos a 100 °C y enfriar. Después purificar en un cartucho C-18.
 - Determinación de las antocianinas por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC-DAD): El HPLC permite identificar el tipo de antocianinas de la muestra purificada en el cartucho C-18, este pasa por un filtro de polipropileno Whatman de 0.45 mm antes de la inyección en el equipo HPLC. La separación de las antocianinas se llevó a cabo en una columna C-18 Waters Symmetry (4.6 mm x 150 mm, y 3.5 m), usando un sistema HPLC que constaba de un módulo de separación Waters en un rango de flujo de 0.8 mL/min; la fase móvil: A, ácido fórmico al 10 % en agua grado HPLC; B acetonitrilo; la gradiente utilizada fue de 0-1 min a 95 % de A y 5 % de B; 2 min a 90 % de A y 10 % de B; 20 min a 80 % de A y

20 % de B y a los 25 min 95 % de a A y 5 % de B. Por tanto, se llevó a cabo una detección simultánea a las longitudes de onda: 520 nm para antocianinas.

c) Capacidad antioxidante: Método propuesto por Brand-Williams y Berset (1995).

d) Determinación del rendimiento: Mediante la fórmula que se muestra a continuación:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Antocianinas recuperadas}}{\text{Antocianinas iniciales}} \times 100$$

4.7 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Se detalla la matriz de operacionalización de las variables, se establecen los componentes, indicadores e ítems desarrollados en esta investigación.

Cuadro 3 – Operacionalización de las variables

Variable	Definición	Indicador	Unidad	Fuente y/o instrumento
Presión, temperatura, cosolvente	Son las variables de trabajo que se manipularán en el equipo de extracción de fluidos supercríticos, a las que se someterá el extracto de mashua negra.	Temperaturas de trabajo: 40 °C, 50 °C y 60 °C. Presión de trabajo: 100, 150 y 200. Bar flujo de cosolvente: 1, 2 y 3 ml/min.	°C Bar ml/min	Equipo de extracción de fluido supercrítico
Antocianinas totales	Son pigmentos solubles presentes en el extracto de la mashua negra y su contenido se expresará en función al rendimiento.	Rendimiento (contenido de tacys)	% (Tacys monoméricas mg/100 g de muestra)	Espectrofotómetro Hplc
Capacidad antioxidante	Es la capacidad que tiene el extracto sobre las especies reactivas que tiene el extracto de mashua negra.	% de inhibición	μmol TE/g	Espectrofotómetro

4.8 POBLACIÓN

Se consideró como población del estudio a la producción de mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón) proveniente del distrito de Acobamba, provincia de Acobamba, departamento de Huancavelica, ubicado a 3,423 m s. n. m., con una temperatura máxima media de 10.1 °C, una temperatura media de 11.2 °C y una temperatura mínima media de 3.4 °C, además de una precipitación de 67.5 mm.

4.9 MUESTRA

La muestra utilizada fueron los diferentes extractos de mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón) que están en función a la metodología usada para la extracción y cuantificación de las antocianinas monoméricas y la capacidad antioxidante.

4.9.1 Técnica de muestreo

En esta investigación se utilizó la técnica de muestreo aleatorio simple, formándose la unidad de muestreo con todos los extractos de mashua que se disponían.

4.10 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOPIACIÓN DE DATOS

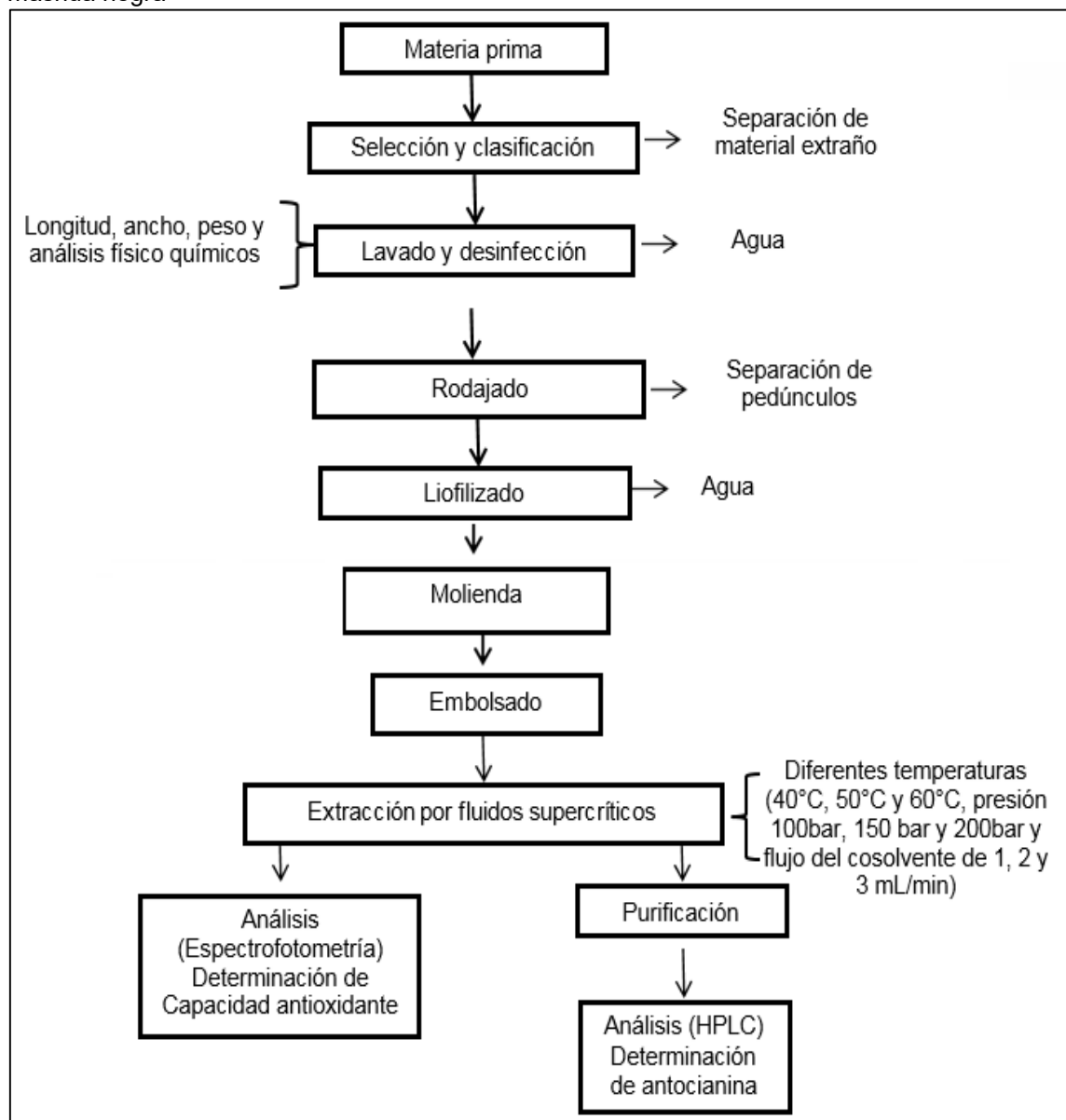
Se utilizó como técnica de investigación la observación indirecta, pues los valores de las propiedades fisicoquímicas y químico-proximalas no pueden ser observados directamente debido a que forman parte de procesos internos, por lo que se utilizaron diferentes equipos e instrumentos para luego valorar los datos. Como instrumento de dicha técnica, se utilizó la guía de observación.

Asimismo, para los diferentes análisis, se utilizaron diversos métodos propuestos en los trabajos de investigación, normas técnicas y protocolos validados.

4.10.1 Procedimiento de Recolección de Datos

La recolección de datos se realizó de acuerdo con las diferentes variables de estudio propuestas en este trabajo de investigación, para lo cual se siguió el diagrama de flujo que se detalla en la Figura 4.

Figura 4 – Diagrama de flujo para la obtención de extractos por fluidos supercríticos a partir de la mashua negra



- Materia prima: Se utilizó el cultivo de la mashua negra proveniente de la zona de Acobamba - Huancavelica, este cultivo se recolectó en un estadio

maduro en el que se evaluaron sus características físico-morfológicas (longitud, ancho y peso) y fisicoquímicas (pH, acidez y sólidos solubles). Además, las plantas recolectadas presentaron el estadio maduro en el cual también se evaluó la longitud y el ancho.

- Selección y clasificación: Esta operación se realizó manualmente, donde se procedió a eliminar la materia prima con signos de deterioro, daños o con indicios de pudrición y su clasificación se realizó de acuerdo con el tamaño.
- Lavado y desinfectado: La mashua fresca fue lavada a fin de eliminar sus impurezas de la superficie, como por ejemplo, tierra. El proceso fue manual, para la desinfección del cultivo se sumergió la mashua en una solución de 50 ppm de hipoclorito de sodio por 3 minutos.
- Rodajado: Esta operación se realizó en forma manual con el uso de cuchillos a un espesor de 1 a 2 mm, con la finalidad de facilitar el secado por liofilización.
- Liofilización: Las rodajas de mashua se deshidrataron hasta obtener una humedad aproximada de 5 %, esta operación se realizó a una presión de vacío de 133×10^{-3} mBar y a una temperatura en el condensador de -40°C .
- Molienda: Las rodajas secas de mashua se sometieron a molienda en un Molino Marca IKA por un tiempo de 5 minutos, luego se realizó el análisis granulométrico.
- Embolsado: La harina obtenida de la operación de molienda se envasó en bolsas de polietileno de alta densidad selladas herméticamente, luego estas fueron cubiertas por bolsas de color negro hasta su uso, quedando impermeable al aire y al vapor de agua.
- Extracción por fluidos supercríticos: Esta operación se realizó con la finalidad de obtener las antocianinas de la mashua negra, para ello, se tomaron muestras liofilizadas para la extracción de las antocianinas en las que se manejaron diferentes temperaturas (40°C , 50°C y 60°C), presiones (100 bar, 150 bar y 200 bar) y flujo de cosolvente (1 ml/min, 2 ml/min y 3 ml/min) trabajados de acuerdo con la optimización de los diferentes tratamientos.
- Purificación: El extracto obtenido en la operación anterior se purificó en un rota vapor a presión de vacío y a una temperatura de 40°C , con la finalidad

de recuperar el soluto mediante la evaporación rápida del disolvente y eliminar el etanol presente en el extracto.

- Análisis: Los extractos obtenidos de la operación de extracción de fluidos supercríticos se llevaron al análisis de antocianinas monoméricas totales con capacidad antioxidante mediante espectrofotometría (génesis 10s). Finalmente, al extracto de mayor contenido de antocianinas se realizó el perfil antocianico mediante la técnica del HPLC.DAD, luego se procedió con las siguientes dos últimas operaciones.
- Purificación: Las muestras extraídas por fluidos supercríticos se purificaron en columnas cromatográficas C18, las cuales previamente fueron acondicionadas con metanol y con agua acidulada por la que se pasó el extracto antocianico. Asimismo, la elución se realizó con agua acidulada con la finalidad de eliminar compuestos de carácter hidrofílico y luego con etanol acidulado para recuperar los compuestos antocianicos, además, el purificado fue resuspendido en etanol absoluto.
- Análisis del perfil antocianico: Al producto resultante, denominado extracto purificado. se le determinó el perfil antocianico mediante el HPLC–PAD (Jasco LC-4000).

4.11 TÉCNICA DE PROCESAMIENTO DE DATOS

Establecidos los tratamientos de los valores de las antocianinas monoméricas y la capacidad antioxidante, los datos se procesaron en el *software* Design-Expert 7.0.0 Trial. de superficie y respuesta (MSR) por Central Composite.

4.12 PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS DATOS

El análisis de los datos se presenta mediante tablas simples y medidas de resumen: media, desviación típica (DT). Asimismo, los coeficientes de regresión lineal, cuadráticos y de interacción involucrados en el modelo y su efecto se analizaron mediante el análisis de varianza (ANOVA) a un nivel de 5 %, en los que

se ajustaron los modelos usando el paquete 12.0.0. Trial de Design-Expert Statistical.

4.12.1 Caracterización Físico-Morfológica y Fisicoquímica de la Mashua Negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón)

La mashua negra fue obtenida en el distrito de Acobamba, provincia de Acobamba, región de Huancavelica. Esta tiene aproximadamente un período de crecimiento entre 7 a 7.5 meses, se realizó la caracterización físico-morfológica evaluándose el diámetro, longitud y peso (ver Tabla 3).

Tabla 3 – Análisis físico-morfológico de la mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón)

Medida	Media	N.º	Desviación típ.
Diámetro (cm)	3.89	15	0.25
Longitud (cm)	7.77	15	2.34
Peso (g)	50.71	15	20.03

En la National Research Council (1989) se establece que el período de crecimiento del cultivo varía entre 5 meses y algunas variedades pueden tardar hasta 8 meses. Por su parte, Valladolid et al. (1994) mencionan que su fase de crecimiento está entre seis a ocho meses, al respecto Tapia y Valverde (2004) establecen que el cultivo se cosecha entre 180 a 210 días y que en su cuarta etapa se da la tuberización donde se cumple el índice de cosecha. El cultivo de la mashua obtenido para esta investigación se encuentra dentro de los períodos de crecimiento establecidos por los autores y se evidencia que este tiene una variabilidad en la longitud, diámetro ecuatorial y peso, sobre todo en los pesos que son muy variables, pues se tienen cónicos cortos, cónicos alargados y cilíndricos rectos o curvos.

Así, Robles (1982) señala que el tamaño de los tubérculos varía de 5.0 a 15.0 cm de largo y de 3.0 a 6.0 cm de ancho, al respecto se puede señalar que dentro de las características del cultivo de la mashua negra, en este estudio, se encuentra dentro de los valores establecidos por el autor y que su variabilidad se da por las propiedades inherentes del cultivo (procedencia, variedad, fases fenológicas, entre otras).

Figura 5 – Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón)



Con respecto al color negro de la mashua evaluada en la investigación, Valladolid et al. (1994) señalan que la coloración de los tubérculos es variada y existen al menos nueve colores entre blanco amarillento, amarillo pálido, amarillo, amarillo naranja, naranja, rojo grisáceo, rojo grisáceo oscuro, púrpura grisáceo y negro, siendo dominante el amarillo con ojos negruzcos o anaranjados, todos ellos en distintas tonalidades. Asimismo, Cahuana (2014) señala que se pueden encontrar cultivos de mashua con fondo claro con color secundario, distribuido en las yemas. Las yemas de la mashua son siempre profundas, anchas y estrechas, sin brácteas.

Se puede señalar que la mashua investigada, como se aprecia en la Figura 5, presenta un color púrpura grisáceo o negro tanto en la cascara como en la parte comestible. En ese sentido, Chirinos et al. (2007) afirman que la mashua tiene compuestos fenólicos similares a la frambuesa y otras bayas, debido a la presencia de compuestos antocianicos y que estos deben ser caracterizados.

Tabla 4 – Análisis fisicoquímicos de la mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón)

Análisis	Media	N	Desviación típ.
pH	5.5	5	0.02
Acidez (% de Ac, ascórbico)	0.0769	5	0.001
% de sólidos solubles	24	5	0.05

Con respecto a la acidez total (ver Tabla 7), esta se expresa en función al ácido ascórbico, pues es el ácido orgánico predominante en los tubérculos. Asimismo, se tiene un alto porcentaje de sólidos solubles, ello por la acumulación de azúcares totales en el cultivo. Al respecto, Rodríguez et al. (2010) señalan que hay una correlación positiva entre el estado de madurez y el aumento de los sólidos totales y es una de las características que refleja la madurez. Además, Osterloch et al. (1996) mencionan que los sólidos solubles están compuestos por 80 % a 95 % de azúcares y que estos últimos se encuentran disueltos en el jugo celular.

Por su parte, Espinosa (2007) señala que los valores de pH varían en cada estadio de madurez y que dicha variación depende del incremento de síntesis de ácidos orgánicos del ciclo de Krebs o a una fijación de CO₂ en el ácido. Esta fase puede caracterizarse también por una movilización de sustancias orgánicas hacia las semillas que muestran su máximo crecimiento en el cultivo. Además, García et al. (2003) indican que los niveles de acidez expresados en el ácido predominante varían, y que su variabilidad se debe principalmente a la altura sobre el nivel del mar, temperatura y tipo de suelo donde se maneja el cultivo.

En esta investigación, la mashua negra fue lavada y cortada en láminas para después ser llevada a un liofilizador a fin de reducir su humedad hasta un aproximado de 5 %, luego del secado se sometió a una molienda hasta conseguir un índice de finura de 3.96 (ver Tabla 5).

Tabla 5 – Análisis de granulometría de la mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón) liofilizada

N.º de Tamiz	Abertura de malla (mm)	Material retenido	Factor	Subtotal
30	0.595	53	5	265
50	0.297	19	4	76
70	0.210	10	3	30
80	0.177	9	2	18
100	0.149	7	1	7
PLATO		2	0	0
		100		396
Índice de finura				3.96

Se sabe que las harinas finas tienen valores entre 0 a 2, harinas medias entre 2 a 4 y harinas gruesas de 4 a más, al respecto, la harina caracterizada en este estudio se encuentra dentro de la harina media.

El índice de finura tiene relevancia en el proceso de extracción y permite conocer la distribución de partículas finas, medianas y gruesas en el producto resultante, las cuales pueden afectar positiva o negativamente el análisis y la extracción de antocianinas monoméricas. En la misma línea, se indica que bajo ciertos límites de tamaño de partículas, las menores tienen una mayor superficie de contacto sólido respecto al solvente y la velocidad de extracción se incrementa, pero si el tamaño tiende a hacer menor se impide la libre circulación del solvente, produciéndose la obstrucción del medio y dificultando la operación de extracción.

4.12.2 Efecto de las Condiciones del Proceso de Extracción Supercrítico

(Temperatura, Presión y Cosolvente) en el Rendimiento de las Antocianinas Extraídas de Mashua Negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón)

La optimización de la extracción de antocianinas a partir de la mashua negra se realizó aplicando el diseño central compuesto de superficie-respuesta, obteniéndose el análisis de varianza (ANOVA). Para evaluar los coeficientes de regresión lineal y de interacción, se utilizó el *software* Design-Expert versión 12 a un valor de “p” de 0.05, en donde se estableció 17 tratamientos y se interaccionó la variable temperatura que va de 40 °C a 60 °C, presión de 100 bar a 200 bar y el flujo de cosolvente de 1 a 3 ml/min como se detalla en la Tabla 9.

Se estableció que el rendimiento de extracción de las antocianinas está influenciado por el tiempo de extracción, pH, relación sólido-líquido y temperatura de extracción. En este estudio se evidencia que la temperatura, la presión y el flujo del cosolvente tuvieron influencias significativas en el rendimiento de antocianinas totales y estas se registraron entre 84.92 a 105.82 (mg de cianidina/100 de extracto).

Al respecto, Rostagno y Prado (2013) encontraron que un mayor volumen del solvente puede disolver el soluto de manera más efectiva, lo que lleva a un mejor rendimiento de la antocianina en la extracción; sin embargo, no se puede afirmar que el alto contenido del flujo del cosolvente presentó mayores rendimientos, si no que estos se ven influenciados por la interacción de las variables evaluadas.

Tabla 6 – Antocianinas monoméricas extraídas por fluidos supercríticos del extracto de mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón)

Presión	Temperatura	Cosolvente	Antocianinas (mg de cianidina/100 de extracto)		
100	60	3	85.26	+-	1.7
150	60	2	104.27	+-	3.1
200	60	1	100.36	+-	0.9
200	40	3	100.27	+-	0.1
200	40	1	101.21	+-	1.2
150	40	2	104.98	+-	0.5
150	50	2	105.82	+-	1.4
100	40	1	85.33	+-	8.9
100	50	2	85.33	+-	3.8
100	40	3	84.92	+-	7.5
100	60	1	85.73	+-	0.2
150	50	1	105.12	+-	3.1
150	50	3	104.33	+-	0.4
200	50	2	100.29	+-	3.0
200	60	3	100.26	+-	2.5
150	50	2	105.80	+-	0.7
150	50	2	105.82	+-	0.9

Se recalca que Cacace y Mazza (2003) establecen que una temperatura excesiva podría descomponer la antocianina en el extracto, este hecho se evidencia en todos los tratamientos con temperaturas de trabajo de 60 °C, pues se tiene un bajo contenido frente a las extracciones por fluidos supercrítico a 50 °C.

Por su parte, Merken y Beecher (2000) mencionan que las antocianinas son moléculas polares; por lo tanto, los disolventes más comunes utilizados en las extracciones son mezclas acuosas de etanol, metanol o acetona, ello se cumple en la investigación, pues se logró la extracción del pigmento antocianico a partir de la mashua negra usando etanol al 80 %. Al respecto, Ku y Mun (2008) señalan que en la industria de alimentos se prefiere el etanol debido a la toxicidad del metanol. En las extracciones de antocianinas de grosellas negras, se usó una solución acuosa de EtOH al 80 % encontrando una alta eficiencia en la extracción de antocianinas, cumpliendo con lo que afirman Romani et al. (1999) sobre que el tipo de disolvente, la concentración y la temperatura afectan la transferencia de masa y, por ende, el proceso de extracción.

De acuerdo con los métodos de extracción, se señala que es necesario utilizar medios débilmente ácidos para evitar su hidrólisis (ácido fórmico o acético); en el caso de la extracción con HCl 0.1 % en MeOH también se han obtenido aglicones, pero bajo estas condiciones no es posible saber si los aglicones se

producen en la hidrólisis o durante la extracción. En este sentido, se ha propuesto una amplia variedad de técnicas de extracción en fase sólida, teniendo a la extracción por fluidos supercríticos (SPE) como base para la investigación.

La Tabla 7 permite establecer el análisis de la varianza que valida los términos de la ecuación polinómica en base al valor F en $p < 0.05$ y el coeficiente de regresión que se utilizó para hacer cálculos estadísticos y R^2 , confirmando la idoneidad de la ecuación.

Los valores experimentales y predichos (ver Tabla 8) se obtuvieron utilizando el diseño central compuesto de RSM. El R^2 del contenido total de antocianinas fue de 0.9981, 0.9957 y 0.9902, respectivamente, ello indica que el modelo es altamente significativo y fue un buen ajuste para los datos experimentales.

Tabla 7 – Análisis de la varianza para la superficie respuesta del contenido de antocianinas monoméricas (mg de cianidina/100 de extracto) obtenidas por extracción de fluidos supercríticos de la mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón)

Fuente	Suma de cuadrados	DF	Cuadrado medio	Valor F	p – Valor
Model	1196.16	9	132.91	411.06	< 0.0001
A-Presion	574.99	1	574.99	1778.34	< 0.0001
B-Temperatura	0.072	1	0.072	0.22	0.6504
C-Cosolvente	0.73	1	0.73	2.26	0.1766
AB	0.32	1	0.32	1	0.3515
AC	3.40E-03	1	3.40E-03	0.011	0.9212
BC	0.074	1	0.074	0.23	0.6471
A2	389.8	1	389.8	1205.58	< 0.0001
B2	0.17	1	0.17	0.52	0.4945
C2	0.059	1	0.059	0.18	0.6812
Residual	2.26	7	0.32		
Lack of Fit	2.26	5	0.45	2776.66	0.0004
Pure Error	3.26E-04	2	1.63E-04		
Cor Total	1198.42	16			

Asimismo, la validación del modelo polinómico se refrenda con los datos expuestos en la Tabla 11, teniendo un CV menor de 10 (para su validez deben estar por debajo de 10).

Tabla 8 – Estadísticos del RMS en la extracción de antocianinas por fluidos supercríticos de la mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón)

Estadísticos	Valor
Std. Dev.	0.57
Mean	97.95
C.V. %	0.58
PRESS	11.79
R-Squared	0.9981
Adj R-Squared	0.9957
Pred R-Squared	0.9902
Adeq Precision	47.296

El análisis de regresión del contenido total de antocianinas se presenta en la ecuación, la cual está basada en valores del coeficiente de regresión (β), temperatura, presión y cosolvente, afectando significativamente el contenido total de las antocianinas. Este hecho se da de acuerdo con los resultados de investigaciones anteriores: el contenido total de antocianinas de la fruta berberis asiática, utilizando RSM e incrementándose significativamente ($p < 0.001$) con el aumento de la temperatura y la presión. En la investigación realizada, el contenido total de antocianinas fue positivo y estuvo influenciado por la presión ($\beta_1 = 1.61996$), temperatura ($\beta_2=0.2828$) y el flujo del cosolvente ($\beta_3 = 0.09357$), por lo que el rendimiento de las antocianinas se incrementó con los valores crecientes de las tres variables. Los resultados podrían explicarse por transferencia de masa y estabilidad de antocianinas. La aplicación del proceso de regresión de la superficie de respuesta se presenta en el polinomio predicho presentado en la ecuación:

$$\begin{aligned} \text{Antocianinas} = & -34.08879 + 1.61996 \cdot \text{Presión} + 0.28280 \cdot \text{Temperatura} \\ & - 0.093570 \cdot \text{Cosolvente} - 4.01250 \times 10^{-4} \cdot \text{Presión} \cdot \text{Temperatura} - \\ & 4.12500 \times 10^{-4} \cdot \text{Presión} \cdot \text{Cosolvente} + 9.61250 \times 10^{-3} \cdot \text{Temperatura} \cdot \text{Cosolvente} \\ & - 4.82474 \times 10^{-3} \cdot \text{Presión}^2 \\ & - 2.50345 \times 10^{-3} \cdot \text{Temperatura}^2 - 0.14885 \cdot \text{Cosolvente}^2 \end{aligned}$$

Por tanto, el efecto de la interacción entre las tres variables fue positiva, variando de 84.92 a 105.82 mg de cianidina/100 g de extracto. Estos valores son más altos que los hallados por Xu y Chang (2008) en la extracción de antocianinas de la soja negra, teniendo 50 mg/100 g cuando se extrae con el uso del solvente

acetona / agua / ácido acético (70: 29.5:0.5). Por otro lado, es más bajo que el resultado de Takeoka et al. (1997), quienes demostraron que el contenido total de antocianinas del frijol negro se encuentra por encima de 213 mg/100 g cuando se extrae con HCl al 0.5 % en metanol. Estas diferencias pueden ser atribuidas a diferencias tanto en la matriz alimenticia, así como en los métodos de extracción utilizados.

Además, se generaron las Figuras 6 y 7 de la superficie de respuesta para diferentes interacciones, en las que se identifican las condiciones óptimas para la operación de extracción máxima de antocianinas totales del extracto de mashua de esta investigación.

Figura 6 – Contenido de antocianinas monoméricas totales en función a la interacción temperatura, presión y cosolvente

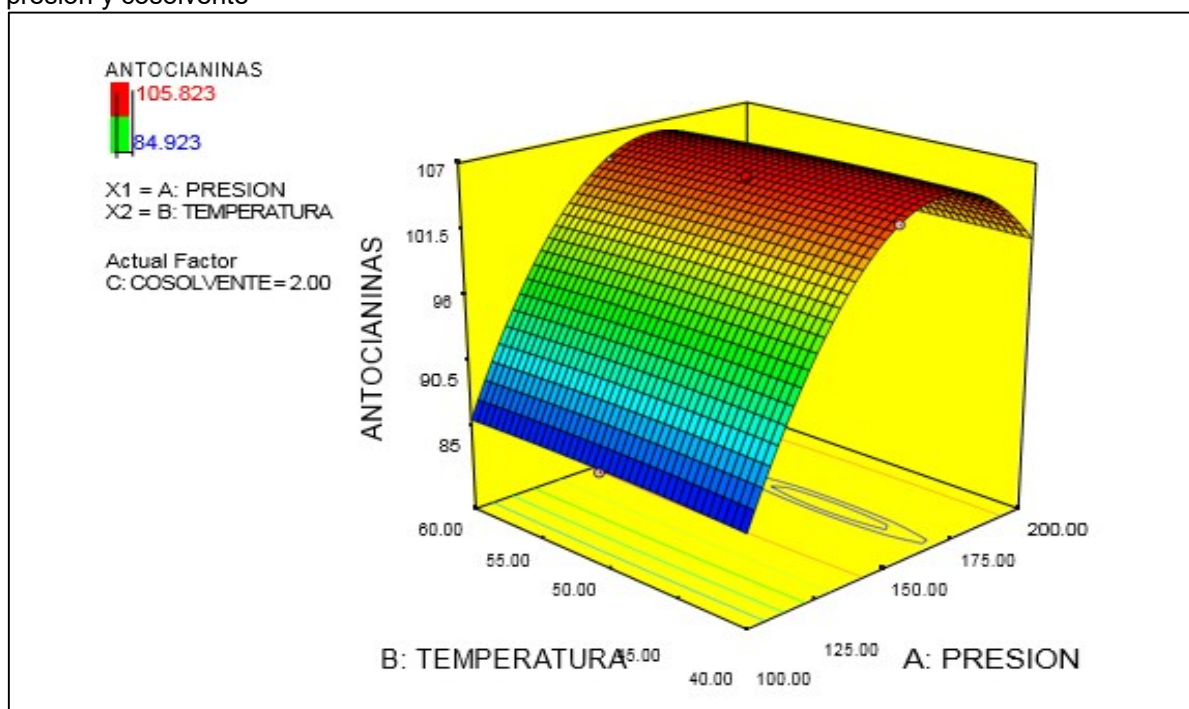
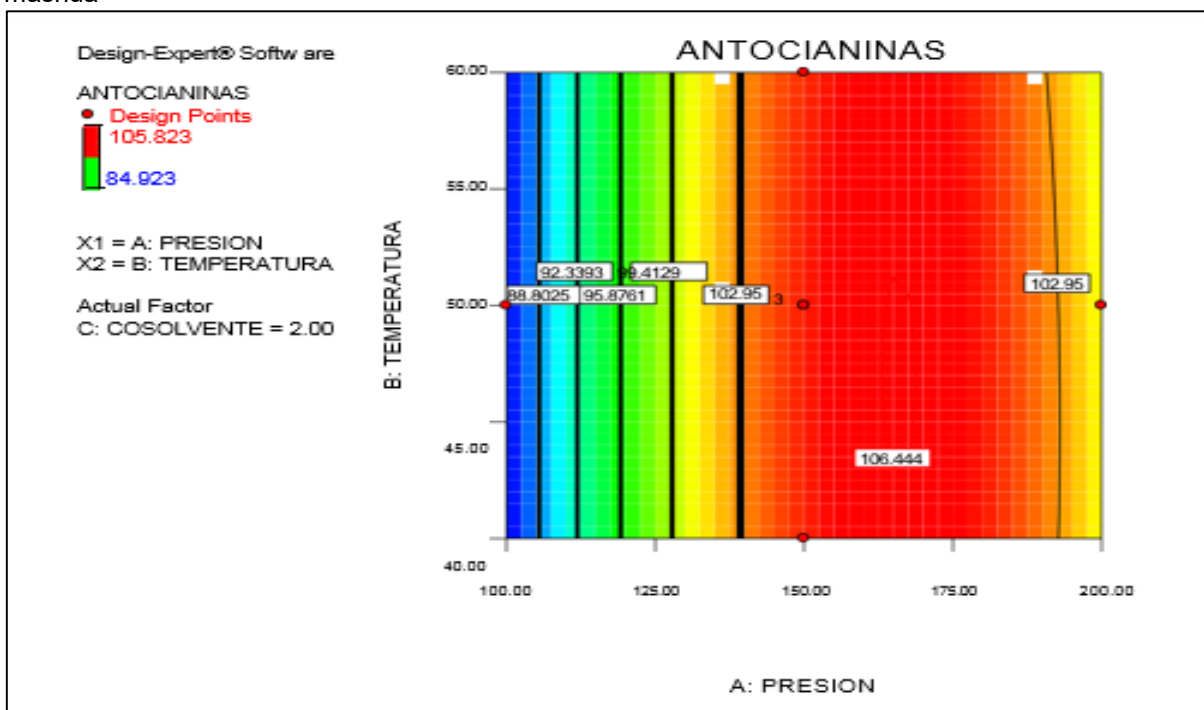


Figura 7 – Interacción temperatura, presión y cosolvente en la EFS de las antocianinas del extracto de mashua



Al tratamiento que presentó el mayor contenido de antocianinas monoméricas (tratamiento 17 establecido en la Tabla 9) se le realizó el perfil antocianico por HPLC de la mashua negra, cuyos resultados se presentan en la Tabla 9 y Figura 8.

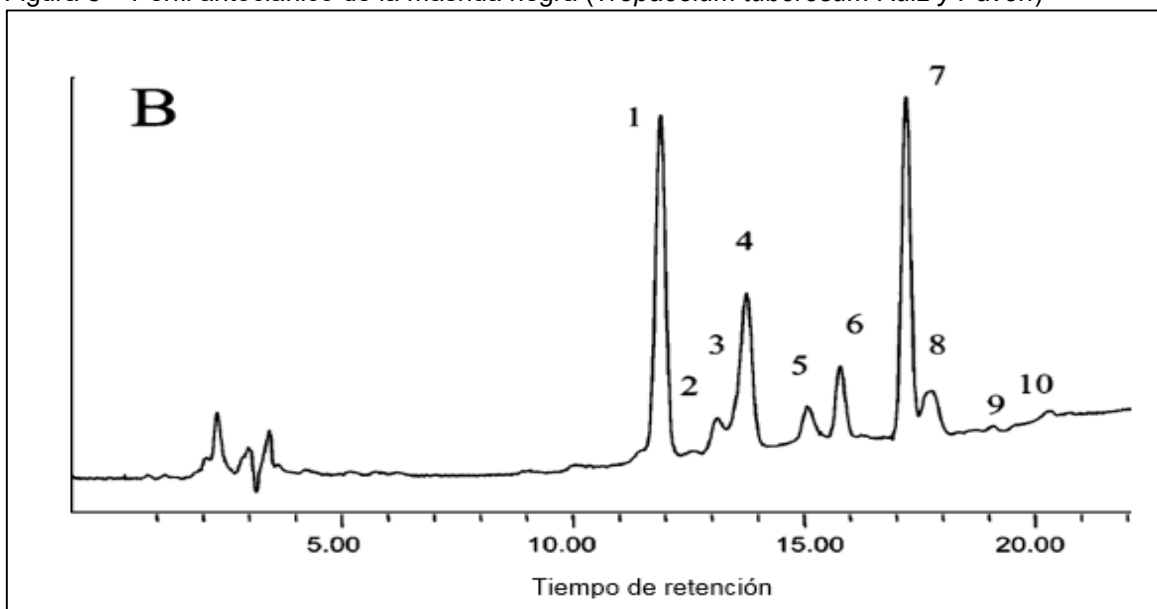
Los datos espectrales DAD-UV / visibles para los picos 2, 5 y 6 mostraron valores máximos de absorbancias que corresponden a las antocianinas que están presentes en la mashua negra. Al respecto, Durst y Wrolstad (2001) han informado que durante la extracción de fase inversa, la liberación de mono o di glucósidos de las antocianinas son característicos en tiempos de retención tempranos comparados a las antocianinas aciladas, que aparecen a veces en la retención posterior. Además, Ju y Howard (2003) observaron que el metanol es el solvente más eficiente en la extracción de antocianinas.

Tabla 9 – Perfil cromatográfico del contenido de antocianinas extraídas por fluidos supercríticos del extracto de mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón)

Antocianinas	N.º de pico	Tiempo de retención	Antocianinas (ppm)
Delfinidina 3-glucósido	pico 2	13.2	250
Cianidina 3-glucósido	pico 5	15.02	125
Cianidina 3-rutinósido	pico 6	15.9	89

La Tabla 9 presenta el perfil cromatográfico de las antocianinas identificadas en el extracto de mashua negra, donde el tiempo de retención varía entre 13.2 a 15.9 minutos y se evidencia que el mayor contenido es la cianidina (ver Figura 8).

Figura 8 – Perfil antociánico de la mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón)



En la Figura 8 se aprecia la actividad antioxidante de las antocianinas extraídas de la mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón) mediante fluidos supercríticos, usando la técnica DPPH.

La optimización de la evaluación del contenido de la capacidad antioxidante de las antocianinas extraídas de la mashua negra también se aplicó al diseño central compuesto de superficie respuesta, obteniéndose el análisis de la varianza (ANOVA) que se presenta en la Tabla 14, esta muestra los coeficientes de regresión lineal, cuadrático y de interacción calculados mediante el *software* Design-Expert versión 12, a un valor de “p” = 0.05, donde también se estableció que se llevarían a cabo 17 tratamientos en los que se interaccionó la variable temperatura que fue de 40 °C a 60 °C, la presión de 100 bar a 200 bar y el flujo de cosolvente de 1 a 3 ml/min, como se detalla la Tabla 10.

El contenido de la capacidad antioxidante está relacionado con el rendimiento de extracción de las antocianinas presentando un coeficiente de correlación de 0.712** con un valor de $p < 0.05$, el cual fue obtenido mediante el

método DPPH y este varía de 164.94 a 228.04 μM de Trolox equivalente/100 g. En la misma línea de investigación, se ha correlacionado el contenido de las antocianinas monoméricas de la mashua código DP 0224 y ARB 5241 con la capacidad antioxidante, encontrando coeficientes de correlación muy significativos ($r= 0.9136^{**}$ y 0.8548^{**}), estos valores hallados en la correlación son más bajos que los reportados por otros autores. Así, Moyer et al. (2002) han encontrado coeficientes de correlación altos de 0.71 y 0.92 entre el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante en 28 muestras de arándanos (*Vaccinium*) y 37 muestras de frambuesas y zarzamoras (*Rubus*), mientras que en la investigación realizada se evidencian valores del coeficiente de correlación cercanos.

Por su parte, Kuskoski et al. (2003) mencionan que las muestras altas en antocianinas son las que representan la mayor capacidad antioxidante, por lo que es necesario considerar la correlación y que esta no solo dependa de la concentración y la calidad antioxidante, sino que también se debe tomar en cuenta su interacción con otros componentes. Además, Moyer et al. (2002) indican que, para determinar la capacidad antioxidante de distintos tipos de bayas, entre ellas la zarzamora, utilizando el método de ORAC y FRAP, se deben tomar en cuenta factores como la luz y la temperatura, pues estos afectan la capacidad antioxidante de las antocianinas presentes en los mencionados frutos.

Tabla 10 – Capacidad antioxidante de las antocianinas extraídas por fluidos supercríticos del extracto de la mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón)

Presión	Temperatura	Cosolvente	Capacidad antioxidante (μM de Trolox equivalente/100 g)		
100	60	3	164.94	+-	1.3
150	60	2	191.98	+-	2.6
200	60	1	173.95	+-	4.7
200	40	3	173.95	+-	5.2
200	40	1	164.94	+-	1.3
150	40	2	173.95	+-	0.8
150	50	2	182.97	+-	4.1
100	40	1	164.94	+-	6.4
100	50	2	173.95	+-	2.0
100	40	3	164.94	+-	1.75
100	60	1	173.95	+-	3.1
150	50	1	210.01	+-	8.8
150	50	3	210.01	+-	1.6
200	50	2	201.00	+-	0.7
200	60	3	191.98	+-	0.5
150	50	2	219.03	+-	5.1
150	50	2	228.04	+-	0.4

Moyer et al. (2002) indican que el contenido los colores rojos y azules conocidos como antocianinas quedan determinados por factores como variedad, especie, maduración y condiciones de cultivo. Cabe resaltar que la maduración tiene implicancias mayores en la capacidad antioxidante.

Tabla 11 – Análisis de la varianza para superficie de respuesta de la capacidad antioxidante (mg de cianidina/100 de extracto) de los extractos obtenidos por fluidos supercríticos de la mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón)

Fuente	Suma de cuadrados	DF	Cuadrado medio	Valor F	p – Valor	
Model	6684.5	9	742.72	10.28	0.0028	Significancia
A-Presion	398.22	1	398.22	5.51	0.0512	
B-Temperatura	292.57	1	292.57	4.05	0.084	
C-Cosolvente	32.51	1	32.51	0.45	0.5238	
AB	40.64	1	40.64	0.56	0.4776	
AC	162.54	1	162.54	2.25	0.1772	
BC	0	1	0	0	1	
A2	1073.79	1	1073.79	14.87	0.0062	
B2	1611.77	1	1611.77	22.32	0.0021	
C2	16.99	1	16.99	0.24	0.6425	
Residual	505.53	7	72.22			
Lack of Fit	505.51	5	101.1	9621.19	0.0001	Significancia
Pure Error	0.021	2	0.011			
Cor Total	7190.03	16				

La Tabla 11 presenta el análisis de la varianza que valida los términos de la ecuación polinómica en base al valor F en $p < 0.05$ y el coeficiente de regresión que se utilizó para hacer los cálculos estadísticos y R^2 confirmando la idoneidad de la ecuación.

Los valores experimentales y predichos (ver Tabla 12) se obtuvieron utilizando el diseño central compuesto de RSM. El R^2 del contenido total de antocianinas fue de 0.9297, 0.8393 y 0.5153, respectivamente, ello indica que el modelo es altamente significativo y fue un buen ajuste para los datos experimentales. Asimismo, la validación del modelo polinómico se refrenda con los datos expuestos en la Tabla 12, teniendo un CV menor de 10, pues para su validez debe estar por debajo de 10.

Tabla 12 – Estadísticos de la optimización de la extracción de antocianinas para la valorización de la capacidad antioxidante

Estadísticos	Valor
Std. Dev.	8.5
Mean	187.76
C.V. %	4.53
PRESS	3485.11
R-Squared	0.9297
Adj R-Squared	0.8393
Pred R-Squared	0.5153
Adeq Precisión	8.978

La ecuación de la regresión de la capacidad antioxidante se presenta en la ecuación de actividad antioxidante, que en este caso es positiva, por lo que está influenciada por la presión ($\beta_1 = 2,12288$), temperatura ($\beta_2=24,39182$) y el flujo del cosolvente ($\beta_3 = 21.79133$), además, su contenido aumentó con valores crecientes en las tres variables. Los resultados son diferentes a los reportados por Ghafoor, Park y Choi (2010), quienes encontraron que los principales factores de extracción para 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH • +) de actividad de captación en extractos de uva fueron la temperatura de extracción y la presión de extracción del fluido supercrítico. En la misma línea, Belwal et al. (2016) informaron que la temperatura de extracción y la relación sólido-líquido interviene en la actividad antioxidante reductora férrica afectada (FRAP), DPPH • + y ABTS • + en extractos de uva. La aplicación del proceso de regresión de la superficie de respuesta se presenta en el polinomio predicho, presentado en la siguiente ecuación:

$$\begin{aligned} \text{Actividad Antioxidante} = & -559.53305 + 2.12288 * \text{Presión} \\ & + 24.39182 * \text{Temperatura} - 21.79133 * \text{Cosolvente} + 4.50750e-003 * \\ & \text{Presión} * \text{Temperatura} + 0.090150 * \text{Presión} * \text{Cosolvente} + \\ & 0.000 * \text{Temperatura} * \text{Cosolvente} - 8.00782e-003 * \text{Presión}^2 - \\ & 0.24527 * \text{Temperatura}^2 + 2.51796 * \text{Cosolvente}^2 \end{aligned}$$

El efecto de la interacción entre las tres variables fue positiva, variando de 164.94 a 219.125 μM de Trolox equivalente/100 g de extracto de mashua. Los efectos cuadráticos e interacciones de las tres variables en DPPH tuvieron efectos significativos en la actividad. Estos datos registrados son ligeramente más bajos que los resultados que obtuvieron Soriano et al. (2015), pues estos autores encontraron

valores de actividad antioxidante en ABTS en la soja negra que fueron de 170.4 μM equivalentes de Trolox/g. En la misma línea de investigación, se demostró que la actividad de antioxidante en ABTS es aproximadamente 450 μM equivalentes de Trolox/g en la cubierta de semillas de soja negra y 40 μM equivalentes de Trolox/g en soja negra descascarada.

Asimismo, se generaron las Figuras 9 y 10 de la superficie de respuesta para diferentes interacciones, las que se presentan para identificar la condición óptima para la evaluación de la capacidad antioxidante de las antocianinas monoméricas del extracto de mashua negra.

Figura 9 – Contenido de la capacidad de antioxidantes totales en función a la interacción temperatura, presión y cosolvente 1

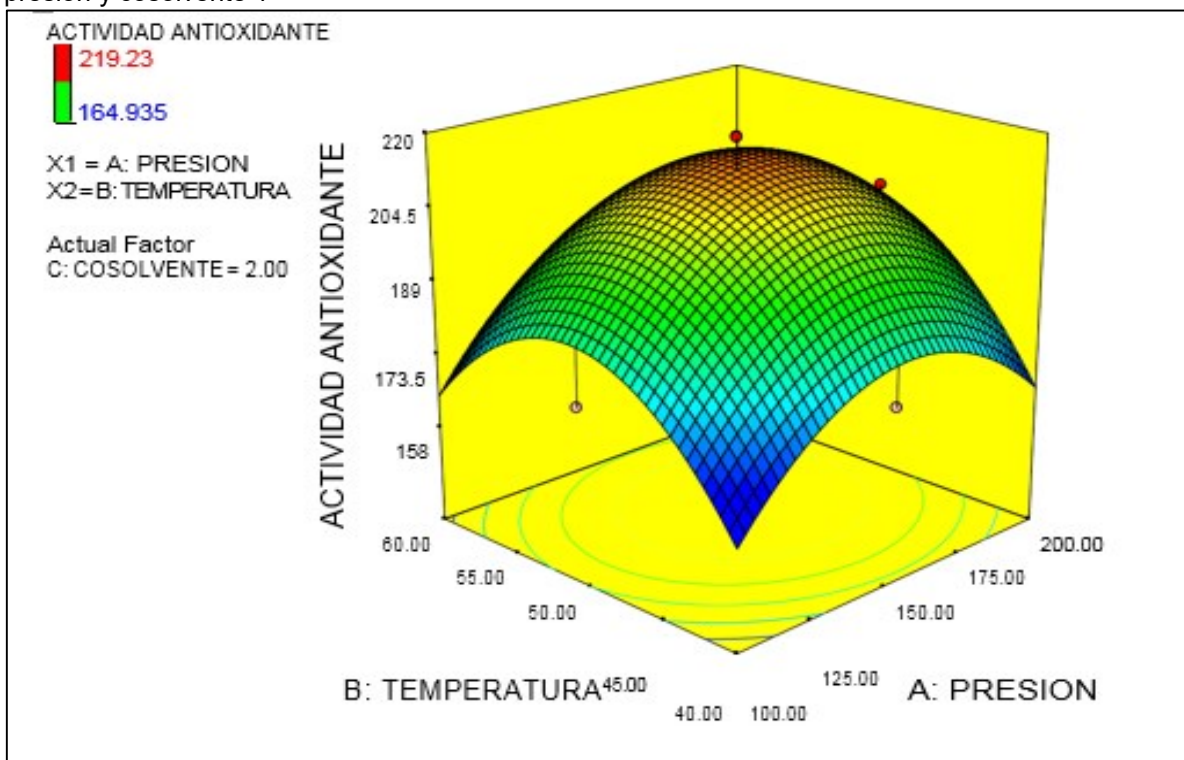
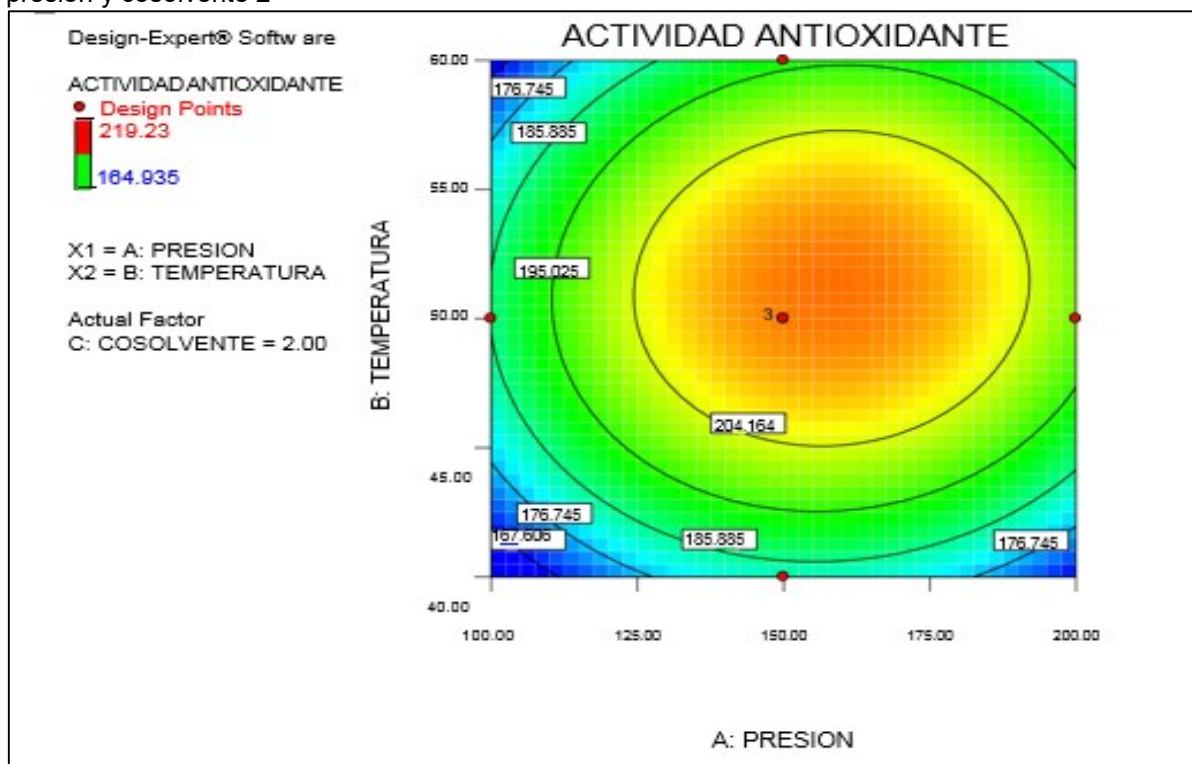


Figura 10 – Contenido de la capacidad de antioxidantes en función a la interacción temperatura, presión y cosolvente 2



4.13 CONCLUSIONES

- Los resultados del estudio muestran que la extracción por fluidos supercríticos a diferentes presiones, temperaturas y flujos del cosolvente es eficiente en la extracción de antocianinas de la mashua negra, pues los valores óptimos de rendimiento de antocianinas monoméricas totales están entre 84.92 a 105.82 mg de cianidina/100 g de muestra.
- El estudio de extracción de fluidos supercríticos en la extracción de antocianinas a partir de la mashua negra permitió obtener un modelo matemático polinómico que predice el rendimiento en función a la interacción de los factores presión, temperatura y flujo del cosolvente.
- La identificación del perfil antocianico delphinidin-3-O-glucósido, cianidin-3-O-glucósido y cianidin-3-rutinoside en el extracto de la mashua negra es un indicador de la valoración del cultivo, haciendo viable su incorporación en los alimentos y las industrias de bebidas.

4.14 RECOMENDACIONES

- Realizar estudios sobre la presencia de otros fotoquímicos en la mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón) a fin de valorizar el cultivo y destacar su valor agregado.
- Realizar trabajos de la estabilidad de las antocianinas en la mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón) a fin de valorar su funcionabilidad como alimento de consumo masivo.

CAPÍTULO V

CONSIDERACIONES EN TORNO AL RENDIMIENTO Y ANTIOXIDACIÓN EN TUBÉRCULOS: MASHUA NEGRA (*TROPAEOLUM TUBEROSUM* RUIZ Y PAVÓN)

La mashua es una de las variedades de tubérculos originaria de las regiones andinas que ha formado parte de la dieta de muchas familias a lo largo de la historia, este producto alimenticio ha servido para establecer la supervivencia y calidad alimentaria de un gran número de pobladores, gracias a sus múltiples beneficios para la salud y su valor nutritivo que se demuestra en la composición físico-química que tiene el tubérculo. En este sentido, Orellano y Valverde (2017) indican que la mashua es uno de los tubérculos más importantes después de la papa, el olluco y la oca, además, esta es cultivada en valles húmedos de Perú, Colombia, Argentina, Ecuador y Bolivia. Asimismo, señalan que:

La mashua contiene elevados contenidos de aminoácidos esenciales como lisina, aminoácido limitante en muchos cereales y leguminosas. En comparación con otras raíces y tubérculos andinos como la oca, melloco, miso, zanahoria blanca, achira y jícama; la mashua tiene un mayor contenido de fósforo, azúcares, proteína y vitamina C (ORELLANO; VALVERDE, 2017, p. 45).

Bajo dicha premisa, se resaltan también los múltiples beneficios para la salud y la nutrición, los cuales a su vez estarán determinados por una diversidad de factores que contribuyen al rendimiento y a la capacidad antioxidante del tubérculo, como es el caso de la antocianina, que más allá de ser el agente responsable de su pigmentación (así como de otras frutas, verduras y cereales), contiene elementos que ayudan a prevenir numerosas dolencias y enfermedades.

Por otra parte, la capacidad de antioxidación es la base, junto a las vitaminas y minerales, para una buena salud en las personas, dado que estos elementos no son producidos en su totalidad por el organismo, implica que es necesario el consumo de alimentos de alto valor nutricional como es el caso de la mashua. Cabe resaltar que la absorción dependerá de factores como la edad, la cantidad de alimento consumido, genética, entre otros. Es así como Taipe (2018, p. 28) afirma que:

Los organismos que consumen y producen niveles de antioxidantes superiores a los normales disfrutan de mejor salud, se enferman menos y en ellos se retrasa considerablemente el envejecimiento. Cuando el cuerpo enferma o envejece se produce un gasto fuerte de antioxidantes, por lo que es necesario procurar que la dieta sea lo más rica posible en los mismos.

Considerando el párrafo precedente, se comprende que los antioxidantes contribuyen notablemente con el mantenimiento de una buena salud, asimismo, el autor manifiesta que estos intervienen sobre enfermedades degenerativas, reducen la fatiga, envejecimiento y, en el mejor de los casos, reducen los efectos secundarios de tratamientos agresivos como corticoides, antibióticos, quimioterapia u otros procedimientos invasivos para el cuerpo del ser humano.

Consecuentemente, se resalta la importancia de la antioxidación que presentan ciertos alimentos como es el caso de la mashua, pues esta contiene la antocianina que es un elemento fundamental a nivel de la salud, gracias a su capacidad antioxidante; sin embargo, el correcto funcionamiento que debe presentar la antocianina puede verse afectado por diversos factores externos, tales como la temperatura, el nivel de acidez, la intensidad de la luz, agentes disolventes o, en su debido caso, la estabilidad en su estructura.

Por ello, se debe medir el nivel de rendimiento y la capacidad antioxidante que presenta la estructura de las antocianinas en los alimentos, en el caso específico de esta investigación: en la mashua negra, por lo que es necesario llevar a cabo una serie de procedimientos. Cabe resaltar que para este estudio se utilizó el método de la extracción por fluidos supercríticos.

Los fluidos supercríticos hacen referencia a la temperatura y presión en la que el gas y el líquido no pueden distinguirse, en este sentido, varían las propiedades de los estados, la densidad del fluido es similar a la del líquido y la viscosidad a la del gas. Asimismo, los fluidos supercríticos tienen la capacidad de extraer algunos compuestos químicos haciendo uso de determinados solventes como el CO₂. Para Moreno (2017, p. 40):

La extracción con fluidos supercríticos es una tecnología favorable al medioambiente que representa una alternativa a los métodos de extracción convencionales y ofrece varias ventajas sobre los métodos clásicos de extracción con disolventes. De hecho, los fluidos supercríticos tienen una alta difusividad y baja densidad, viscosidad y tensión superficial.

Por consiguiente, la extracción con fluidos supercríticos es uno de los métodos más utilizados como alternativa sobre los métodos convencionales, debido a su procedimiento favorable con el medioambiente, la baja toxicidad y la rapidez del proceso. Esto implica también que, al desarrollar el procedimiento sobre el tubérculo, este no se vea afectado por la intervención de agentes químicos, lo que implica un método ideal para determinar el rendimiento y la antioxidación del alimento, a su vez, se busca contribuir con una mayor difusión y consumo de la mashua en la dieta alimenticia de las familias.

BIBLIOGRAFÍA

- Alemán, J. (2019). *Determinación de carotenoides totales en cuatro variedades de mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón) deshidratada* [tesis de licenciatura, Universidad Central del Ecuador]. Repositorio Institucional UCE. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/19948>
- Apacclla, Z. (2018). *Densidad de siembra de semilla sejal de papa (*Solanum tuberosum* L.) en la producción de tubérculos para autoconsumo* [tesis de licenciatura, Universidad Nacional del Centro del Perú]. Repositorio Institucional UNCP. <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/UNCP/5357>
- Arbizu, C. y Tapia, M. (1982). Cultivos marginados, otra perspectiva de 1492. *Colección FAO: Producción y Protección Vegetal*, N.º 26. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- Association of Analytical Communities (AOAC) y Horwitz, W. (1997). *Official Method of Analysis of AOAC International*. Association of Analytical Communities.
- Ballesteros, L., y Díaz, A. (2017). *La antocianina como sustituto de los indicadores de pH sintéticos: un paso hacia los productos verdes* [tesis de licenciatura, Universidad de La Costa]. Repositorio Institucional CUC. <http://repositorio.cuc.edu.co/handle/11323/4893>
- Bastidas, L. y Campos, F. (2018). *Extracción y caracterización de aceite de coco por medio de fluidos supercríticos* [tesis de licenciatura, Universidad Nacional del Centro del Perú]. Repositorio Institucional UNCP. <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/UNCP/5740>
- Belwal, T., Dhyani, P., Bhatt, I., Rawal, R. y Pande, V. (2016). Optimización de las condiciones de extracción para mejorar el contenido fenólico y la actividad antioxidante en *Berberis asiática* frutos, utilizando la metodología de superficie de respuesta (RSM). *Revista Química de Alimentos*, N.º 207, 115-124. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814616304551>
- Bohorquez, R. (2018). *Determinación de actividad antioxidante de extractos de hojas de *Diplostephium phylloides* (Kunth) wedd* [tesis de licenciatura, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales]. Repositorio Institucional UDCA. <https://repository.udca.edu.co/handle/11158/591>
- Bonete, M., Urquiza, C., Guevara, R. y Yáñez, P. (2016). Estudio de cuatro tubérculos y raíces tuberosas no tradicionales de la sierra centro de Ecuador y su potencial de uso en platos de autor. *Revista Qualitas*, N.º 12, 37-67. <https://www.unibe.edu.ec/revista-qualitas-vol-12/>
- Brand-Williams, W. y Berset, C. (1995). Uso de un método de radicales libres para evaluar la actividad antioxidante. *Revista Ciencia y Tecnología de los alimentos*, 28(1), 25-30. <https://bit.ly/3hziOOK>

- Cacace, J. y Mazza, G. (2003). Proceso de transferencia de masa durante la extracción de compuestos fenólicos de bayas molidas. *Revista de Ingeniería Alimentaria*, 59(4), 379-389. <https://bit.ly/3huYZMi>
- Cahuana, R. (2014). *Colección y caracterización morfológica de entradas de Mashua (Tropaeolum tuberosum L.) del Valle del Mantaro* [tesis de licenciatura, Universidad Nacional del Centro del Perú]. Repositorio Institucional UNCP. <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/UNCP/2043>
- Carrasco, C. (2018). *Efecto de la distribución de diámetro de partícula en la extracción con CO₂ supercrítico de aceite de semillas de arándano rojo* [tesis de maestría, Pontificia Universidad Católica de Chile]. Repositorio Institucional UC. <https://repositorio.uc.cl/handle/11534/21984>
- Castaneda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M., Páez-Hernández, M., Rodríguez, J. & Galán-Vidal, C. (2009) Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113(4), 859-871. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.001>
- Chirinos, R., Campos, D., Arbizu, C., Rogez, H., Rees, J., Larondelle, Y., Noratto, G. y Cisneros, L. (2007). Efecto del genotipo, estado de madurez y almacenamiento poscosecha sobre compuestos fenólicos, contenido de carotenoides y capacidad antioxidante, de tubérculos de mashua andina (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón). *Revista de Ciencia de la Alimentación y la Agricultura*, 87(3), 437-446. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.2719>
- Collazos, C.C., Alvistur, J., Vásquez, G., Quiroz, M., Herrera, A., Robles, G., Arias, V., Viñas, T., Urquieta, A., Días, T., Roca, N., Faching, R., y Hernández, F. (1996). *Tablas peruanas de composición de alimentos*. 7 ed. Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, Centro Nacional de Alimentación y Nutrición.
- Contreras, D. (2019). *Determinación de capacidad antioxidante y fenoles totales en semillas de vitis vinifera L. "Vid", del valle de Cañete* [tesis de licenciatura, Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión]. Repositorio Institucional UNJFSC. <http://repositorio.unjfsc.edu.pe/handle/UNJFSC/3064>
- Cotera, Y. y Yauri, F. (2018). *Influencia de la presión y temperatura en la extracción de aceite esencial inka muña (Satureja inkana) por CO₂ supercrítico* [tesis de licenciatura, Universidad Nacional del Centro del Perú]. Repositorio Institucional UNCP. <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/UNCP/4784>
- Cutti, Y. (2019). *Evaluación del contenido de antocianina y sus características fisicoquímicas de la pulpa concentrada de arándano silvestre* [tesis de licenciatura, Universidad Nacional de Huancavelica]. Repositorio Institucional UNH. <http://repositorio.unh.edu.pe/handle/UNH/2875>

- Damián, S. (2019). *Implementación del mantenimiento mejorativo en un equipo lavador de tubérculos por aspersión de tambor en la parroquia Rumipamba del Cantón Quero* [tesis de Licenciatura, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. Repositorio Institucional ESPOCH. <https://bit.ly/2FkjrCx>
- Davalos, D. (2019). *Determinación de parámetros óptimos de extracción de antocianinas en mashua negra (Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón) y evaluación de la actividad antioxidante y polifenoles totales* [tesis de licenciatura, Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac]. Repositorio Institucional UNAMBA, <http://repositorio.unamba.edu.pe/handle/UNAMBA/829>
- Del Águila, S. (2018). *El cultivo e importancia socio-económica-cultural del cultivo de la mashua* [tesis de licenciatura, Universidad Nacional de Educación Enrique Guzmán y Valle]. Repositorio Institucional UNEEGV. <http://200.60.81.165/handle/UNE/4104>
- Diez, L. (2018). *Métodos analíticos para la determinación de antioxidantes en olivas* [tesis de grado, Universidad Complutense de Madrid]. Repositorio Institucional UCM. <https://farmacia.ucm.es/farmacia/tfg-febrero-2018>
- Durst, R. y Wrolstad, R. (2001). Separación y caracterización de antocianinas por HPLC. *Protocolos Actuales en Química Analítica de Alimentos*, 0(1), 7461-7466. <https://bit.ly/2Fkk4vT>
- Espinosa, J. (2007). *Evaluación sensorial*. Editorial Universitaria.
- Fuleki, T & Francis, F.J. (1968)- Quantitative methods for anthocyanins: 1. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. *Journal of Food Science*, 33(1), 72-77. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1968.tb00887.x>
- Fuleki, T. y Francis, F.J. (1968). Métodos cuantitativos para las antocianinas. Extracción y determinación de antocianina total en arándanos. *Revista de Ciencia Alimentaria*, 33(1), 72-77. <https://bit.ly/33rVQI7>
- García, E., Cabello, F. y Revilla, E. (2003). Análisis de antocianinas de uva y vino por HPLC-MS. *Revista de Química Agrícola y Alimentaria*, 51(19), 5622-5629. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf0302207#>
- Ghafoor, K., Park, J. y Choi, YH. (2010). Optimización de la extracción de fluidos supercríticos de compuestos bioactivos de piel de uva (*Vitis labrusca B.*) mediante el uso de metodología de superficie de respuesta, *Revista Ciencia de los Alimentos Innovadores y Tecnologías Emergentes*, 11(3), 485-490. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1466856410000159?via%3Dihub>
- Giusti, M., y Wrolstad, R. (2003). *Caracterización y medición de antocianinas por espectroscopía UV-visible en Protocolos actuales en química analítica de alimentos*. John Wiley y Sons, Inc.

- Giusti, M.M. & Wrolstad, R. E. (2003). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 1, 1-13. DOI: <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>
- Hernández, J., Rosales, A., Molina, A., Miranda, A., Willcox, M., Hernández, JM. y Palacios, N. (2017). Cuantificación de antocianinas mediante espectroscopía de infrarrojo cercano y cromatografía líquida en maíces pigmentados. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 40(2), 219-225. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61051413013>
- Herrera, X. y Rodríguez, K. (2016). *Evaluación del extracto de flavonoles y antocianinas contenidos en el agraz (Vaccinium meridionale swartz) obtenidos a nivel laboratorio por medio de los métodos de extracción por solventes y extracción asistida por microondas* [tesis de licenciatura, Fundación Universidad de América]. Repositorio Institucional UAMERICA. <http://repository.uamerica.edu.co/handle/20.500.11839/478>
- Huapaya, G. (2018). *Influencia de los parámetros de extracción de antocianinas a partir de cáscara de uva (Vitis vinífera) utilizando el método de Taguchi* [tesis de licenciatura, Universidad Peruana Unión]. Repositorio Institucional UPEU. <https://repositorio.upeu.edu.pe/handle/UPEU/1713>
- Ju, Z. y Howard, L. (2003). Efectos del disolvente y la temperatura en la extracción líquida presurizada de antocianinas y fenólicos totales de la piel de uva roja seca. *Revista de Química Agrícola y Alimentaria*, 51(18), 5207-5213. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf0302106>
- Jurado, I., Cifuentes, D. y Hurtado, N. (2020). Evaluación de métodos de extracción de las antocianinas del fruto de *Eugenia malaccensis* y su caracterización por HPLC-ESI-MS. *Revista Cubana de Química*, 32(1), 45-60. <https://bit.ly/33rWNjF>
- Ku, C., y Mun, S. (2008). Propiedades antioxidantes de fracciones monoméricas, oligoméricas y poliméricas en extracto de agua caliente de corteza de *Pinus radiata*. *Revista de Ciencia y Tecnología de la Madera*, N.º 42, 47-60. <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00226-007-0150-9>
- Kuskoski, E., Vega, J., Ríos, J., Fett, R., Troncosoy, A. y Asuero, A. (2003). Caracterización de antocianinas de frutos de baguaçu (*Eugenia umbelliflora Berg*). *Revista de Química Agrícola y Alimentaria*, 51(18), 5450-5454. <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf030014z>
- Mejía, D. (2016). *Extracción y cuantificación de antocianinas en frambuesa (Rubus idaeus L.) a diferentes temperaturas y tiempos de extracción* [tesis de licenciatura, Universidad Nacional de Cajamarca]. Repositorio Institucional UNC, <http://190.116.36.86/handle/UNC/1725>

- Mejía, F., Salcedo, J., Vargas, S., Serna, J. y Torres, L. (2018). Capacidad antioxidante y antimicrobiana de tubérculos andinos (*Tropaeolum tuberosum* y *Ullucus tuberosus*). *Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica* 21(2), 449-456. <https://revistas.udca.edu.co/index.php/ruadc/article/view/1083>
- Merken, HM. y Beecher, GR. (2000). Medición de flavonoides alimentarios mediante cromatografía líquida de alta resolución: una revisión. *Revista de Química Agrícola y Alimentaria*, 48(3), 577-599. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf990872o>
- Meza, G., Cortes, H., Zela, G., y Gonza, V. (1997). *Cultivo de mashua*. Centro de investigación en cultivos andinos. Asociación Arariwa.
- Moreno, D. (2017). *Evaluación del efecto de la presión y temperaturas en la extracción con Co2-supercrítico de glucosinolatos de mashua chispeada (Tropaeolum tuberosum)* [tesis de licenciatura, Universidad Nacional del Centro del Perú]. Repositorio Institucional UNCP. <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/UNCP/4122>
- Moyer, R., Hummer, K., Finn, C., Frey, B. y Wrolstad, R. (2002). Antocianinas, fenólicos y capacidad antioxidante en diversas frutas pequeñas: *Vaccinium, rubus y ribes*. *Revista de Química Agrícola y Alimentaria*, 50(3), 519.525. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf011062r>
- National Research Council (Consejo Nacional de Investigación). (1989). *Cantidad dietética recomendada*. Prensa de Academias Nacionales.
- Orellano, E. y Valverde, J. (2017). *Propiedades físicas, antocianinas y capacidad antioxidante del atomizado de mashua (Tropaeolum tuberosum) encapsulada con maltodextrina* [tesis de licenciatura, Universidad nacional del Centro del Perú]. Repositorio Institucional UNCP. <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/UNCP/4776>
- Osterloch, A., Ebert, G., Held, W., Schulz, E. y Urban, E. (1996). *Almacenamiento de frutas y frutas tropicales - Manual de tecnología alimentaria*. Editorial Ulmer.
- Pazos, G. (2017). *Desarrollo de un prototipo de snack crocante salado con tres tubérculos andinos* [tesis de licenciatura, Universidad de Las Américas]. Repositorio Institucional UDLA. <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/7497>
- Ramón, F. (2017). *Efecto del estrés abiótico poscosecha en las características físico-químicas y de algunos metabolitos primarios de mashua morada (Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón)* [tesis de licenciatura, Universidad Nacional Agraria La Molina]. Repositorio Institucional UNALM <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/3009>
- Reyes, J. (2018). *Extracción con fluidos supercríticos: Aplicaciones de interés farmacéutico* [tesis de licenciatura, Universidad de Sevilla]. Repositorio Institucional US. <https://idus.us.es/handle/11441/82249>

- Robles, R. (1982). *Terminología Genética y Fitogenética*. Editorial Trillas.
- Rodríguez, A. (2019). *Evaluación del etanol como cosolvente en el proceso de extracción con fluido supercrítico – CO₂ para obtener aceite de maíz de la Empresa Grupo Rocío* [tesis de licenciatura, Universidad Nacional de Trujillo]. Repositorio Institucional UNT. <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/15584>
- Rodríguez, L., López, L. y García, M. (2010). Determinación de la composición química y actividad antioxidante en distintos estados de madurez de frutas de consumo habitual en Colombia, mora (*Rubus glaucus* B.), maracuyá (*Passiflora edulis* S.), guayaba (*Psidium guajava* L.) y papayuela (*Carica cundinam*). *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 19(21), 1-9. <https://alimentos hoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/view/45>
- Rolón, N. (2018). *Colorante natural con capacidad antimicrobiana a partir de Morus nigra* [tesis de maestría, Universidad Nacional de Itapúa]. Repositorio Institucional UNI. <https://bit.ly/2Fzplzh>
- Romani, A., Mulinacci, N., Pinelli, P., Vinciery, F. y Cimato, A. (1999). Contenido polifenólico en cinco cultivares toscanos de *Olea europea* L. *Revista de Química Agrícola y Alimentaria*. 47(3), 964-967. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf980264t>
- Rostagno, M. y Prado, J. (2013). *Extracción de productos naturales: principios y aplicaciones*. Red Sociedad de Química.
- Salto, R. (2016). *La biofortificación agronómica para el mejoramiento de la calidad nutricional de tubérculos de cultivares de papa (Solanum tuberosum L.) en la parroquia Guanujo* [tesis de maestría, Universidad Técnica de Ambato]. Repositorio Institucional UTA. <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/24351>
- Soriano, R., Pastore, G. y Pavan, V. (2015). Efecto de la digestión *in vitro* sobre compuestos bioactivos y actividad antioxidante de las cubiertas de semillas de frijol común. *Revista Internacional de Investigación Alimentaria*, 76(1), 74-78. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096399691400756X>
- Suárez, M., Yazán, E. y Narváez, G. (2018). Influencia de la estabilización por copigmentación intermolecular sobre la capacidad antioxidante de antocianinas del fruto de *Vaccinium floribundum* Kunth. *Revista INFOANALÍTICA*, 6(1), 39-53. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7113388>
- Taípe, L. (2017). *Fenoles totales y actividad antioxidante en mashua (Tropaeolum tuberosum) en estado fresco, soleado y cocido de las variedades amarillo zapallo y negra* [tesis de licenciatura, Universidad Nacional del Centro del Perú]. Repositorio Institucional UNCP. <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/UNCP/1592>

- Taípe, V. (2018). *Evaluación del contenido de antocianinas totales, polifenoles totales y capacidad antioxidante de Mashua Morada (Tropaeolum tuberosum) durante el almacenamiento de post cosecha* [tesis de licenciatura, Universidad Nacional de Huancavelica]. Repositorio Institucional UNH. <http://repositorio.unh.edu.pe/handle/UNH/2582>
- Takeoka, G., Dao, L., Full, G., Wong, R., Harden, L., Edwards, J. y Berrios, J. (1997). Caracterización de las antocianinas del frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista de Química Agrícola y Alimentaria*, 45(9), 3395-3400. <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf970264d>
- Tapia, A. y Valverde, F. (2004). *Caracterización de las raíces y los tubérculos andinos en la ecorregión andina del Ecuador*. 3-30. Centro Internacional de la papa.
- Torres, A. (2018). *Determinación de compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante de extractos de orujo (epicarpo) de Vitis vinífera L. var. italia y negra criolla de residuos vitivinícolas como fuente de principios bioactivos aprovechables* [tesis de licenciatura, Universidad Nacional de San Agustín]. Repositorio Institucional UNSA. <http://bibliotecas.unsa.edu.pe/handle/UNSA/5005>
- Valladolid, A., Arbizu, C. y Talledo, D. (1994). *Niveles de ploidia de mashua y sus parientes silvestres*. VII Congreso internacional de Sistemas Agropecuarios Andinos.
- Valle, M. (2017). *Caracterización morfológica y fenología en variedades de Tropaeolum tuberosum (mashua) de interés medicinal* [tesis de licenciatura, Universidad Técnica de Ambato]. Repositorio Institucional UTA. <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/26125>
- Viguera, M. (2019). *Influencia de los parámetros de operación y de la condición del sólido en el proceso de extracción con CO₂ supercrítico. Aplicación en el desarrollo de procesos sostenibles de interés comercial* [tesis de doctorado, Universidad Complutense de Madrid]. Repositorio Institucional UCM. <https://eprints.ucm.es/56621/>
- Vilca, Y. (2019). *Estudio de las condiciones óptimas de extracción mediante fluido supercrítico del extracto de las hojas de chiriyuyo (Kalanchoe pinnata)* [tesis de licenciatura, Universidad Central del Ecuador]. Repositorio Institucional UCE. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/19226>
- Villamizar, F. y Ospina, J. (1995). *Frutas y hortalizas. Manejo tecnológico postcosecha*. Publicaciones SENA.

- Xu, B., y Chang, S. (2008). Capacidad antioxidante de la cubierta de la semilla, el frijol descascarado y la soja negra entera en relación con sus distribuciones de fenólicos totales, ácidos fenólicos, antocianinas e isoflavonas. *Revista de Química Agrícola y Alimentaria*, 56(18), 8365-8373.
<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf801196d>
- Zárate, L. (2019). *Concentrado de antocianinas de mashua (Tropaeolum tuberosum) variedad negra mediante microondas* [tesis de licenciatura, Universidad Peruana Unión]. Repositorio Institucional UPEU.
<https://repositorio.upeu.edu.pe/handle/UPEU/2645>

