

UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCAMELICA

(CREADA POR LEY Nº 25265)



FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE AGROINDUSTRIAS

TESIS

**“EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL TIPO DE COCCIÓN
EN EL CONTENIDO DE ANTOCIANINAS EN
PAPA NATIVA
(Azul Llumchuy Waqachi)”**

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN
CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS PRODUCTOS AGROINDUSTRIALES
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERÍA:

AGROINDUSTRIAL

PRESENTADO POR EL BACHILLER:

ESCOBAR LAYME LUCIO

ACOBAMBA - HUANCAMELICA

2014

ACTA DE SUSTENTACIÓN O APROBACIÓN DE UNA DE LAS MODALIDADES DE TITULACIÓN

En la Ciudad Universitaria "Comun Era"; en el auditorio de la Facultad de Ciencias Agrarias, a los 16 días del mes de Enero del año 2014, a horas 4:00 p.m., se reunieron; los miembros del Jurado Calificador, conformado de la siguiente manera:

- PRESIDENTE : Mg.Sc.Ing. Efraín David ESTEBAN NOLBERTO.
- SECRETARIO : Ing. Rafael Julián MALPARTIDA YAPIAS.
- VOCAL : Ing. Jesús ANTONIO JAIME PIÑAS.
- ACCESITARIO : Mg.Sc.Ing. Marino BAUTISTA VARGAS.

Designados con resolución N° 476-2013-CF-FCA-UNH; como miembros del jurado calificador para optar el Título Profesional por la modalidad de: Titulación, del: proyecto de investigación titulado: "EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL TIPO DE COCCIÓN EN EL CONTENIDO DE ANTOCIANINAS EN PAPA NATIVA (AZUL LLUMCHUY WAQACHI)"

Cuyo autor es el graduado:

BACHILLER : Lucio Escobar Layme.

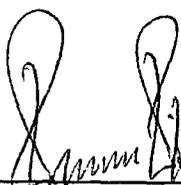
A fin de proceder con la evaluación y calificación de la sustentación del: proyecto de investigación, antes citado.

Finalizado la evaluación; se invitó al público presente y al sustentante abandonar el recinto; y, luego de una amplia deliberación por parte del jurado, se llegó al siguiente resultado:

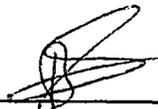
APROBADO: POR: UNANIMIDAD

DESAPROBADO:

En conformidad a lo actuado firmamos al pie.



PRESIDENTE



SECRETARIO


VOCAL

ASESOR:



Ing. Alfonso RUIZ RODRIGUEZ.

DEDICATORIA:

Este presente trabajo de investigación (TESIS), se los dedico a mis padres, a mis hermanos y a mis amigos, personas importantes que, gracias a sus apoyos impresendibles he podido realizar la planificación, organización y ejecución del presente informe...

AGRADECIMIENTOS

- A Dios y mis padres por el constante apoyo para seguir adelante y alcanzar mis propósitos, por la confianza y comprensión que me brindan.
- A mis hermanos (as) (Gregoria, Patricio, Fermina, Miguel, Wilver y Delfin), con quienes compartí momentos de alegría y difíciles, a ustedes mis más sinceros agradecimientos.
- Mi eterna gratitud a mi Alma Mater, la Universidad Nacional de Huancavelica, en cuyas aulas y espacios guardo mis más secretos recuerdos y fue testigo de mi formación profesional.
- A los docentes de la Escuela Académico Profesional de Agroindustrias de la Facultad de Ciencias Agrarias, por sus enseñanzas y consejos que forjaron en mí, que fueron pilares importantes en mi desarrollo profesionales.
- A mi asesor, Ing. Alfonso RUIZ RODRIGUEZ, por brindarme su amistad, apoyo y orientación profesional constante, en la planificación y ejecución del presente trabajo de investigación.
- A mis amigos por sus apoyos incondicionales durante mi formación profesional y la planificación, organización y ejecución del presente trabajo de investigación.
- A la persona muy especial, que durante mi formación profesional y la realización del presente trabajo de investigación, me inspiró inteligencia, sabiduría, responsabilidad y confianza.

ÍNDICE

RESUMEN.....	13
INTRODUCCIÓN.....	14
CAPÍTULO I: PROBLEMA.....	15
1.1. Planteamiento del problema.....	15
1.2. Formulación del problema.....	16
1.3. Objetivo.....	16
1.3.1. Objetivo general.....	16
1.3.2. Objetivos específicos.....	16
1.4. Justificación.....	16
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	18
2.1. Antecedentes.....	18
2.1.1. Contenido de antocianinas en papas nativas.....	18
2.2. Bases teóricas.....	19
2.2.1. La Papa.....	19
2.2.2. La Papa Azul Llumchuy Waqachi.....	19
2.2.3. Composición de la papa.....	19
2.2.4. Siembra de papas andinas.....	21
2.2.5. Caracterización campesina.....	21
2.2.6. Clasificación campesina.....	22
2.2.7. Usos.....	22
2.2.8. Métodos de cocción.....	22

A. por inmersión:.....	22
B. Por fritura:.....	23
2.2.9. Antocianinas.....	23
2.2.10. Estructura.....	24
2.2.11. Las Antocianinas como colorantes naturales.....	25
2.2.12. Estabilidad de las antocianinas.....	26
2.2.13. Polimerización de las antocianinas.....	30
2.2.14. Antioxidantes.....	31
2.2.15. Radicales libres.....	32
2.2.16. Técnicas de extracción y cuantificación de antocianinas.....	33
2.2.17. Técnicas cromatográficas.....	34
2.2.18. Técnicas espectrofotométricas.....	34
2.2.19. Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).....	34
2.3. Hipótesis.....	35
2.4. Definición de términos.....	35
2.5. Identificación de variables.....	36
2.5.1. Variables Independientes:.....	36
2.5.2. Variable Dependiente.....	36
2.6. Definición operativa de variables e indicadores.....	36
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN.....	37
3.1. Ámbito de estudio.....	37
a. Ubicación política:.....	37
b. Ubicación geográfica:.....	37

c. Duración:	37
3.2. Tipo de investigación.....	37
3.3. Nivel de investigación.....	37
3.4. Método de investigación.....	37
3.5. Diseño de investigación.....	38
3.5.1. Descripción pasos de diseño de investigación realizada.....	39
3.5.2. Análisis de resultados.....	40
3.6. Población, muestra, muestreo.....	40
3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	41
3.8. Procedimiento de recolección de datos.....	41
3.9. Técnicas de procesamiento y análisis de datos.....	42
CAPITULO IV. RESULTADOS	43
4.1. Presentación de resultado.....	43
4.1.1. Análisis de contenido de antocianinas totales de la papa nativa (<i>Azul Llumchuy Waqachi</i>) sin cocción.....	43
4.1.2. Análisis de contenido de antocianinas totales de la papa nativa (<i>Azul Llumchuy Waqachi</i>) con la cocción por inmersión.....	44
4.1.3. Análisis de concentración de antocianinas totales de la papa nativa (<i>Azul Llumchuy Waqachi</i>) con la cocción por fritura.....	44
4.1.4. Porcentaje de la pérdida de contenido de antocianinas por los tipos de cocción.....	45
4.1.5. Análisis estadístico del contenido de antocianinas.....	45
4.1.6. Comparaciones de medias para el contenido de antocianinas.....	46
4.1.7. Tiempo y temperatura durante la cocción.....	47
4.1.8. Análisis fisicoquímico de la papa nativa (<i>azul Llumchuy Waqachi</i>).....	48

4.2. Discusión.....	49
4.2.1. Características químico proximal de la papa nativa <i>Azul Llumchuy Waqachi</i>	49
4.2.2. Contenido de antocianinas totales de la papa nativa (<i>Azul Llumchuy Waqachi</i>). 50	
CONCLUSIONES.....	52
RECOMENDACIONES.....	53
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.....	54
ANEXOS.....	66

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N° 01. Composición de la papa.....	20
Cuadro N° 02. Definición operativa de variables e indicadores.	36
Cuadro N° 03. Diseño experimental de la Investigación.....	38
Cuadro N° 04. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.	41
Cuadro N° 05. Procedimiento de recolección de datos.	41
Cuadro N° 06. ANVA en un Diseño Completamente al Azar-DCA.	42
Cuadro N° 07. Contenido de antocianinas de la papa nativa (Azul Llumchuy Waqachi) sin cocción.....	43
Cuadro N° 08. Contenido de antocianinas de la papa nativa (Azul Llumchuy Waqachi) con la cocción por inmersión.	44
Cuadro N° 09. Contenido de antocianinas de la papa nativa (Azul Llumchuy Waqachi) con la cocción por fritura.....	44
Cuadro N° 10. Porcentaje de la pérdida del contenido de antocianinas por efecto de los tipos de cocción.	45
Cuadro N° 11. Análisis de varianza del contenido de antocianinas para los tratamientos	46
Cuadro N° 12. Comparaciones de medias para el contenido de antocianinas para los tratamientos.	46
Cuadro N° 13. Tiempo y temperatura durante la cocción.....	47
Cuadro N° 14. Análisis químico proximal.	48
Cuadro N° 15. Comparación de características químico proximal de la papa nativa (Azul Llumchuy Waqachi) con otras papas nativas.	49
Cuadro N° 16. Comparación de contenido de antocianinas de la papa nativa (Azul Llumchuy Waqachi) con otras papas.	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 01. Estructura básica de las antocianinas.	25
Figura N° 02. Estructura de antocianinas a diferentes pH.	27
Figura N° 03. Neutralización del radical libre por un antioxidante.	32
Figura N° 04. Diseño de la investigación.	38
Figura N° 05. Pasos de diseño de investigación realizada.	39
Figura N° 06. Diagrama de flujo de evaluación de contenido de antocianinas.	40
Figura N° 07. Comparaciones de medias para el contenido de antocianinas para los Tratamientos.	47
Figura N° 08. Tiempo y temperatura durante la cocción.	48
Figura N° 09. Comparación de características químico proximal de la papa nativa (Azul Llumchuy Waqachi) con otras papas nativas.	49
Figura N° 10. Comparación de contenido de antocianinas de la papa nativa (Azul Llumchuy Waqachi) con otras papas.	51

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N° 01. Certificado de análisis de laboratorio.	67
Anexo N° 02. Imágenes de los procedimientos de la ejecución del proyecto.	68
Anexo N° 03. Procedimientos de análisis de contenido de antocianinas, con el análisis estadístico en los tipos de cocción de la papa nativa (Azul Llumchuy Waqachi).	74
Anexo N° 04. Procedimientos de análisis de contenido de antocianinas en los tipos de cocción de la papa nativa (Azul Llumchuy Waqachi).	76
Anexo N° 05. Procedimientos de análisis químico proximal de la papa nativa (Azul Llumchuy Waqachi).	77

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo, evaluar el efecto del tipo de cocción de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*), sobre las antocianinas, la cual es de la especie *Solanum tuberosum* subesp, es una papa nativa andígena del Perú; y cuyas potencialidades son escasas y hasta ahora poco conocido. Esta investigación ampara su valor científico en la necesidad de obtener datos del contenido de antocianinas en alimentos después de la cocción para poder aprovecharlos en mayor cantidad estos efectos biológicos se han atribuido a la propiedad antioxidante a través de la desactivación de radicales libres y la captura del oxígeno. El análisis de las antocianinas totales, por el método de HPLC, determinó la mayor pérdida de antocianinas en el tipo de cocción por inmersión que fue de 0,1861 g /100 g muestra (40,9 % de pérdida) y el menor pérdida de antocianinas fue en el tipo de cocción por fritura, que es de 0,2620 g /100 g muestra (16,8 % de pérdida); utilizando como patrón al la materia prima, que contiene 0,3149 g /100 g muestra (equivalente al 100 % de antocianinas que contiene la papa Azul Llumchuy Waqachi). Las cuales fueron tratados con los parámetros de cocción: 30min /89 °C, 2-3min /180 °C y 0min/T° ambiente respectivamente.

Estos resultados como los resultados de análisis estadístico revelan a la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) como un tubérculo, fuente importante de antocianinas y capacidad antioxidante, y la manera más adecuada de conservar las antocianinas durante la cocción es por el tipo de cocción por fritura, para su aprovechamiento óptimo en la alimentación y su uso agroindustrial como fuente importante de antocianinas y flavonoides.

Palabras claves: efecto, cocción, antocianinas, Azul Llumchuy Waqachi, HPLC – MS/MS.

INTRODUCCIÓN

Las antocianinas pertenecen a un gran y muy distribuido grupo de metabolitos secundarios, que se conocen colectivamente como flavonoides. Las antocianinas son los componentes que otorgan a las plantas colores rojos, azules, morados, particularmente en partes como frutos, flores y hojas. Estos pigmentos fueron consumidos por los hombres a lo largo de incontables generaciones sin causar aparentemente ningún efecto tóxico. La conservación de las antocianinas y antioxidantes como la vitamina C y los flavonoides tienen gran importancia para combatir contra el stress oxidativo, enfermedades cardiovasculares, cáncer y problemas de enfermedades crónicas de esta época. En nuestro país y sobre todo en nuestra región, existen productos con alto contenido de antocianinas y sustancias antioxidantes, uno de ellos son las papas nativas de colores, de los cuales no tenemos datos cuanto contribuyen en nuestra dieta y sobre todo cuanto realmente se utiliza o están disponibles las sustancias antioxidantes luego de ser cocidos. Los fenoles de la papa reducen los niveles de glucosa presentes en la sangre. Pruebas de laboratorio han mostrado que el ácido clorogénico y otros fenoles tienen una fuerte actividad antioxidante sobre lipoproteínas que se relacionan directamente con enfermedades cardíacas. Identificaron en la variedad cuchipelo los tipos de antocianinas que contiene, en crudo, de aquí que nace la presente investigación para poder determinar en el proceso de cocción cuanto realmente se pierde.

Cuentan que antiguamente se utilizaban los tubérculos de esta variedad –que por su forma son difíciles de pelar– para probar la habilidad de las muchachas o nueras para pelarlos, de ahí su nombre en quechua Llumchuy Waqachi, sólo las que pasaban esta prueba podían casarse. Las características agronómicas indican que: rendimiento (Kg por planta) 0.5 – 1.0, número de tubérculos por planta 10 – 24, resistente a la racha, tolerante a la helada, almacenamiento mayor a 5 meses y el rango de adaptación 3200 - 4000 msnm. Andígena y de abundancia escasa.

CAPÍTULO I: PROBLEMA

1.1. Planteamiento del problema.

En la actualidad los alimentos funcionales se presentan como una posible solución a la actual carencia nutricional, ocasionada por una pobre alimentación o por una mala alimentación y los efectos benéficos que presentan en la salud. El consumo de dietas ricas en este tipo de alimentos, generalmente son vegetales, han sido atribuidos principalmente a compuestos bioactivos antioxidantes como: compuestos fenólicos, vitaminas, antocianinas, y carotenoides presentes en estos productos.

El efecto beneficioso de los alimentos vegetales, sobre todo de las frutas se atribuye principalmente a sustancias con actividad antioxidante. Se ha sugerido que estas sustancias aumentan la defensa antioxidante del organismo, contra el "estrés oxidativo", responsable de diferentes tipos de daño celular. En nuestro país y sobre todo en nuestra región, existen productos con alto contenido de sustancias antioxidantes, uno de ellos son las papas nativas de colores, de los cuales no tenemos datos cuanto contribuyen en nuestra dieta y sobre todo cuanto realmente se utiliza o están disponibles las sustancias antioxidantes luego de ser cocidos, la papa es fuente de fenoles los que afectan el pardiamiento de la papa y pueden causar un deterioro durante el almacenamiento o procesamiento. Sin embargo los fenoles presentes en la papa tienen los

siguientes efectos benéficos sobre la salud. Muestran una fuerte actividad antioxidante especialmente los que se encuentran en la cáscara.

El ácido clorogénico ha sido reportado como una sustancia que inhibe algunos procesos relacionados con la iniciación de cáncer. Los fenoles de la papa, legumbres y cereales reducen los niveles de glucosa presentes en la sangre. Pruebas de laboratorio han mostrado que el ácido clorogénico y otros fenoles tienen una fuerte actividad antioxidante sobre lipoproteínas que se relacionan directamente con enfermedades cardíacas (Reyes J., 2007).

Espinoza y Véliz (2009) identificaron en la variedad cuchipelo los tipos de antocianinas que contiene, en crudo, de aquí que nace la presente investigación para poder determinar en el proceso de cocción cuanto realmente se pierde.

1.2. Formulación del problema.

¿Cuál es el efecto en la degradación de antocianinas de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) durante el tratamiento de cocción por inmersión y fritura?

1.3. Objetivo.

1.3.1. Objetivo general.

- Evaluar el efecto del tipo de cocción de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*), sobre las antocianinas.

1.3.2. Objetivos específicos.

- Determinar las antocianinas presentes en la papa nativa en estudio.
- Evaluar la pérdida de antocianinas en cocción por inmersión y fritura de la papa nativa en estudio.

1.4. Justificación.

1.4.1. Justificación científica: Esta investigación ampara su valor científico en la necesidad de obtener datos del contenido de antocianinas en alimentos después de la cocción para poder aprovecharlos en mayor cantidad estos efectos biológicos se han atribuido a la propiedad

antioxidante a través de la desactivación de radicales libres y la captura del oxígeno (Berg *et. al.*, 2000 y Fraser, 2004), siendo una fuente importante las papas nativas pigmentadas.

1.4.2. Justificación social: La conservación de las antocianinas y antioxidantes como la vitamina C y los flavonoides tienen gran importancia para combatir el stress oxidativo, enfermedades cardiovasculares, cáncer y problemas de enfermedades crónicas de esta época por lo tanto la investigación contribuye a la sociedad. Así mismo sirve para la prevención de diversas enfermedades causadas por la degeneración de tejidos debido al oxígeno altamente reactivo, los radicales libres y los componentes tóxicos del medio, que causan daños en los vasos sanguíneos y en las células nerviosas, han llevado a la búsqueda e investigación de sustancias con alto potencial antioxidante, como los flavonoides, vitamina C y vitamina E, los cuales se encuentran en muchas frutas y en algunas papas nativas del Perú. Conociendo la importancia que tienen los biocomponentes, y conocedores de la coloración, contenido de antocianinas en las papas nativas Azul Llumchuy Waqachi, es necesario saber cuál es el efecto que tienen los tipos de cocción sobre su contenido en estos componentes, resultados que nos servirán para obtener datos de las pérdidas y determinar cuál es el mejor tipo de cocción.

1.4.3. Justificación económica: Al potenciar el consumo de papas nativas se incrementarán las ganancias de los productores de dicha materia prima.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes.

2.1.1. Contenido de antocianinas en papas nativas.

Según Monti *et. al.*, (1996) La papa es fuente de fenoles los que afectan el pariamiento de la papa y pueden causar un deterioro durante el almacenamiento o procesamiento. Sin embargo los fenoles presentes en la papa tienen los siguientes efectos benéficos sobre la salud. Muestran una fuerte actividad antioxidante especialmente los que se encuentran en la cáscara. El ácido clorogénico ha sido reportado como una sustancia que inhibe algunos procesos relacionados con la iniciación de cáncer. Los fenoles de la papa, legumbres y cereales reducen los niveles de glucosa presentes en la sangre. Pruebas de laboratorio han mostrado que el ácido clorogénico y otros fenoles tienen una fuerte actividad antioxidante sobre lipoproteínas que se relacionan directamente con enfermedades cardíacas.

Según Alonso, (2000) Estudios realizados con ratas muestran como el consumo de la cáscara de la papa reduce los niveles de colesterol en la sangre. La difusión de las variedades de papa y su demanda depende de la concientización del consumidor sobre sus cualidades, si se está consciente que existen papas diferenciadas se creará la demanda para que el productor las produzca.

Según Prakash *et al.*, (2007) Las antocianinas son antioxidantes como

los ácidos fenólicos, polifenoles y flavonoides eliminan los radicales libres como el peróxido, hidroperóxido o lípidos peroxilo lo que inhibe los mecanismos que conducen a enfermedades degenerativas.

2.2. Bases teóricas.

2.2.1. La Papa.

La papa es originaria del Perú y ha sido cultivada desde hace 8000 años en América del Sur y era alimento importante de los Incas quienes desarrollaron técnicas avanzadas para almacenarlas. En el siglo IV los conquistadores españoles lo llevaron a Europa siendo introducida en la península ibérica hacia 1550 y de allí al resto de Europa, llegando a ser en 1750 un alimento de gran importancia (Portal agrario Ancash, 2008).

2.2.2. La Papa Azul Llumchuy Waqachi.

Cuentan que antiguamente se utilizaban los tubérculos de esta variedad –que por su forma son difíciles de pelar– para probar la habilidad de las muchachas o nueras para pelarlos, de ahí su nombre en quechua Llumchuy Waqachi, sólo las que pasaban esta prueba podían casarse. Actualmente ya no se practica esta costumbre. Las características agronómicas indican que: rendimiento (Kg por planta) 0.5 – 1.0, número de tubérculos por planta 10 – 24, resistente a la rancia, tolerante a la helada, almacenamiento mayor a 5 meses y el rango de adaptación 3200 - 4000 msnm. Nombre común Azul Llumchuy Waqachi (PU, DM, VH), que significa la que hace llorar a la Nuera, Azul; es de la especie *Solanum tuberosum* subesp. Andígena y de abundancia escasa (CIP-FEDECH, 2006).

2.2.3. Composición de la papa.

La papa es una planta mundialmente conocida por sus variados usos en la cocina, pero ésta no es sólo un ingrediente culinario, es también una planta medicinal de conocido uso tradicional. Aunque depende de la variedad cultivada, el tubérculo se compone básicamente de:

Cuadro N° 01. Composición de la papa.

Composición de la papa	Por cada 100 g
Agua	72 – 75 %
Almidón	16 – 20 %
Sustancias nitrogenadas	2,0 – 2,5 %
Lípidos	0,15 %
Fibra dietética (celulosa)	1,0 – 1,8 %

Fuente: Portal agrario Ancash, (2008).

La papa es una excelente fuente de algunas de las vitaminas solubles en agua. Las papas frescas contienen 30 mg o más de ácido ascórbico por cada 100 g, cuando son recién cosechadas, pero este valor disminuye cuando la papa es almacenada, cocida o procesada. Su contribución de minerales a la dieta es importante, 100g de papa cocida puede suplir entre 6 a 12% de los requerimientos de hierro diarios de niños u hombres adultos. La concentración de potasio en papa es alta y por esta razón se omite en dietas de pacientes con insuficiencia renal pero el contenido de sodio es bajo (FAO, 2008).

Otro compuesto presente en él es la solanina, producida en pequeñas cantidades (menos de 0,2 mg/g de producto). En general, la papa es un alimento rico en carbohidratos, ya que tiene un alto contenido de almidón, el cual conforma el 80% de la materia seca. Ahora bien; si tenemos en cuenta otros componentes necesarios en la dieta, veremos que el principal aporte de la papa en la dieta de un adulto es la Vitamina C. Así, 300 gramos de papa fresca hervida aportan un 75% del requerimiento diario de un adulto de dicha vitamina, y solamente un 8% de calorías, lo cual contradice el mito de que la papa engorda. A través del consumo de papa hay una importante contribución, de proteínas, minerales como el hierro y el fósforo, y de otras vitaminas como las de complejo B, de gran importancia en la nutrición del ser humano. La papa cruda es muy toxica por la solanina lo cual se pierde al

momento de la cocción al igual que se pierde cierta parte de la vitamina C. La solanina aumenta con la exposición a luz solar y dándole a la papa un sabor muy desagradable y amargo el cual se mantiene incluso después de la cocción Aunque a estas concentraciones la papa es tóxica, el pelado y el tratamiento térmico como la cocción o la fritura permiten destruir esta sustancia (Comisión veracruzana de comercialización agropecuaria, 2008).

2.2.4. Siembra de papas andinas.

La producción de papa se desarrolla en dos campañas: la campaña grande, que se inicia con la chacma (chacras nuevas) o preparación del terreno entre los meses de febrero a marzo y luego las cruza y revueltas (arado del campo, que se hace de 6 a 7 veces), y la siembra, entre los meses de mayo a junio. La campaña chica cuya siembra se realiza entre los meses de noviembre a diciembre. Muchas veces se planifica una tercera campaña bajo riego entre los meses de abril a mayo, con la finalidad de contrarrestar los factores climáticos adversos que afronta este cultivo como las heladas (meses de julio – agosto y noviembre - diciembre) o la presencia de rancho (meses de octubre – noviembre y febrero - marzo).

2.2.5. Caracterización campesina.

Para los agricultores conservadores de variedades de papa nativa caracterizar es identificar, separar y diferenciar unas papas de otras en base a determinadas características propias de la papa o de cada variedad que la hacen diferente a las demás. Estos criterios campesinos de identificación de variedades de papa nativa se refieren a:

- Características del tallo.
- Color de la flor.
- Forma del tubérculo y ojos.
- Color de la cascara.
- Color de la pulpa.

2.2.6. Clasificación campesina.

Para los agricultores conservadores de variedades nativas de papa, clasificar es seleccionar las variedades de papa nativa en base a determinadas características que las hacen mejores unas a otras según uso final y sobre las cuales se desarrollan algunas preferencias tanto productoras como consumidoras, como son:

- Por el nivel de adaptación: de buena adaptación de mala adaptación.
- Por el nivel de resistencia a plagas y enfermedades: resistentes, poco resistentes.
- Por la precocidad: apuradoras y demoronas.
- Por tamaño y calidad: de primera, segunda, tercera, cuarta y descarte.
- Para los usos: para sopas, frituras, para sancochar o para transformación.
- Por el color de la piel y la cáscara: amarillas, negras y blancas.

2.2.7. Usos.

Según estudios con el extracto de la cáscara de papa obtenido con el éter de petróleo se demostró que éste posee una potente actividad antioxidante, similar a la de otros antioxidantes sintéticos, sugiriendo su posible utilidad en diferentes productos alimenticios para prevenir la oxidación de lípidos y prolongar el tiempo de conservación de los mismos.

2.2.8. Métodos de cocción.

A. por inmersión:

La cocción por inmersión es un proceso de cocción húmeda, en la que la temperatura máxima del agua es 100°C a 1 atmósfera, o la correspondiente en otras condiciones de presión. En el proceso de cocción por inmersión se favorece la hidratación y gelificación del almidón, la desnaturalización y deterioro de algunas vitaminas, dependiendo principalmente del tamaño del alimento y del tiempo de cocción. En este caso el alimento se encuentra inmerso en el agua durante la preparación y

se facilita la migración de nutrientes solubles hacia el agua de cocción que normalmente se elimina.

B. Por fritura:

El freído es una forma de cocción de alimentos a alta temperatura, 180°C a 200°C, donde el medio de transferencia de calor es el aceite que imparte buen sabor, excelente sabor de palatabilidad, color dorado o tostado y crocancia al alimento (Aguilera, 1997).

Generalmente los tiempos de freído son menores que los de cocción en agua y al vapor, pero depende del tipo de alimento, la temperatura del aceite, el sistema de fritura, el grosor del alimento y los cambios que se pretende conseguir. El inconveniente de este proceso de preparación está en la incorporación de aceite al alimento incrementando significativamente el aporte calórico y el consumo de grasa (Aguilera, 1997).

2.2.9. Antocianinas.

Las antocianinas representan el grupo más importante de pigmentos hidrosolubles detectables en la región visible por el ojo humano (Strack y Wray, 1994). 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 (Wagner, 1982). Las antocianinas poseen diferentes funciones en la planta como son la atracción de polinizadores para la posterior dispersión de semillas y la protección de la planta contra los efectos de la radiación ultravioleta y contra la contaminación viral y microbiana. El interés por los pigmentos antocianínicos y su investigación científica se ha incrementado en los últimos años, debido no solamente al color que confieren a los productos que las contienen sino a su probable papel en la reducción de las enfermedades coronarias, cáncer, diabetes; a sus efectos antiinflamatorios y mejoramiento de la agudeza visual y comportamiento cognitivo. Por lo tanto, además de su papel funcional como colorantes, las antocianinas son agentes

potenciales en la obtención de productos con valor agregado para el consumo humano. A pesar de las ventajas que ofrecen las antocianinas como sustitutos potenciales de los colorantes artificiales, factores como su baja estabilidad y la falta de disponibilidad de material vegetal limitan su aplicación comercial. Las antocianinas, también son conocidas como flavonoides azules, son compuestos vegetales no nitrogenados pertenecientes a la familia de los flavonoides, de amplia distribución en la naturaleza. Son pigmentos solubles en agua, los cuales imparten la coloración roja, morada y azul a muchas frutas, verduras, tubérculos y granos (Wrolstad, 2000).

2.2.10. Estructura.

Las antocianinas son glucósidos solubles formados por una molécula de antocianidina (aglicona) que se unen a una fracción de carbohidrato a través de un enlace β -glucosídico y son una de las clases de flavonoides que existen en abundancia. La estructura química consiste en un grupo flavilo formado por un anillo de benzopirano unido a un anillo fenílico (Figura N° 01) (Wrolstad, 2000).

Los monosacáridos comúnmente encontrados son D-glucosa, D-galactosa, L-Ramnosa, D-arabinosa y D-Xilosa, aunque también pueden contener oligosacáridos como gentobiosa, rutinosa y soforosa. Normalmente los monosacáridos se unen con los grupos hidróxilos de la posición 3 de la antocianidina, mientras que los disacáridos los hacen con hidróxilos 3 y 5 o bien con las posiciones 3 y 7. El azúcar presente en la molécula otorga mayor estabilidad y solubilidad (Wrolstad, 2000).

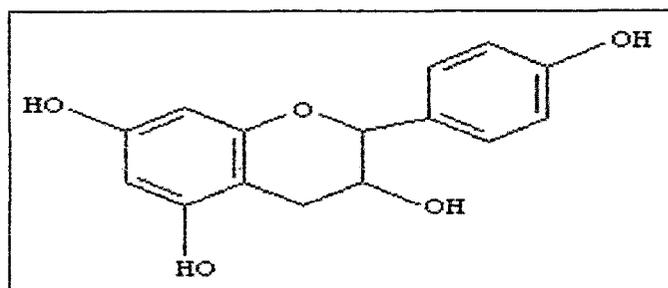


Figura N° 01. Estructura básica de las antocianinas
(Walford, 1980)

Algunas veces, las antocianinas se encuentran aciladas por ácidos fenólicos como el cafeico, el p-cumárico, el acético, el ferúlico o sináptico. Todas las antocianinas son derivadas del catión flavilo básico. Se conocen más de 100, las diferencias entre ellas se debe al número de grupos hidróxilos, el grado de metoxilación de éstos grupos, así como la naturaleza y el número de los ácidos aromáticos y alifáticos presentes en la molécula. De todas las antocianinas existentes, sólo seis son de interés en los alimentos: pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina y malvinidina, los restantes son menos frecuentes y se encuentran en algunas hojas (Wrolstad, 2000).

2.2.11. Las Antocianinas como colorantes naturales.

La creciente preocupación por la toxicidad de los colorantes sintéticos usados en alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos ha sido investigada por Hallagan, 1991, y Lauro, 1991, quienes reportaron que los colorantes rojo No. 2 y No. 40 se han prohibido en Austria, Japón, Noruega y Suecia, pero el rojo No. 40 aún se encuentra en escrutinio en Estados Unidos. Al mismo tiempo, dichos hallazgos se relacionan con modificaciones en la hiperactividad de niños de edad escolar lo cual puede considerarse un mal neuronal agudo (Breakey *et al.*, 2002; Mc Cann *et. al.*, 2007). Tales antecedentes son indicios suficientes para disminuir la demanda de colorantes artificiales a favor del consumo generalizado de colorantes naturales como las antocianinas (Huck y Wilkes, 1996; Birks, 1999; Ersus y Yurdagel, 2007; Olaya

et. al., 2008; Wallace y Giusti, 2008).

Las políticas regulatorias en cuanto al uso de colorantes derivados de las antocianinas varían de país a país (Olaya, 2008). Estados Unidos es el país más restrictivo en cuanto al uso de las antocianinas como colorantes naturales. Allí, cuatro de los 26 colorantes que están exentos de certificación y aprobados para el uso en alimentos se derivan de la cáscara de la uva, del extracto de la uva, del jugo de vegetales y del jugo de frutas. Las fuentes más comunes de jugo de vegetales son el repollo morado, los rábanos y diferentes variedades de bayas (Wrolstad, 2004). En contraste, en la Unión Europea, Chile, Colombia, Irán, Israel, Corea del Sur, Malta, Perú, Arabia Saudita y los Emiratos Árabes todos los colorantes derivados de las antocianinas son reconocidos como naturales (Olaya, 2008).

2.2.12. Estabilidad de las antocianinas.

Las antocianinas son compuestos lábiles y su estabilidad es muy variable en función de su estructura y la composición de la matriz en la que se encuentran (Wroslad, 2000, Delgado, Vargas y Paredes Lopez, 2003).

Su estabilidad se ve afectada por el pH, temperatura de almacenamiento, presencia de enzimas, luz, oxígeno, estructura y concentración de las antocianinas, y la presencia de otros compuestos tales como otros flavonoides, proteínas y minerales.

a) pH: Uno de los principales factores del medio que afecta la estabilidad del color de las antocianinas es el pH. Dependiendo del pH las antocianinas pueden existir en cuatro especies diferentes: base quinoidal, catión flavilio, pseudobase carbinol y chalcona. En soluciones muy ácidas ($\text{pH} < 0,5$) el catión flavilio rojo es la única estructura. Con incrementos de pH la concentración del catión decrece al mismo tiempo que la hidratación da lugar a la base de carbinol incolora. Entre pH 4 y 5.5 habrá poco color, debido a que las dos formas coloreadas estarán en bajas concentraciones

y el equilibrio se desplazará a las formas incolores. Por lo tanto, la forma chalcona es la más susceptible a la degradación, y la forma iónica flavilio es la más estable. (Chandra et al., 1993; Wesche- Ebeling y Montgomery., 1990).

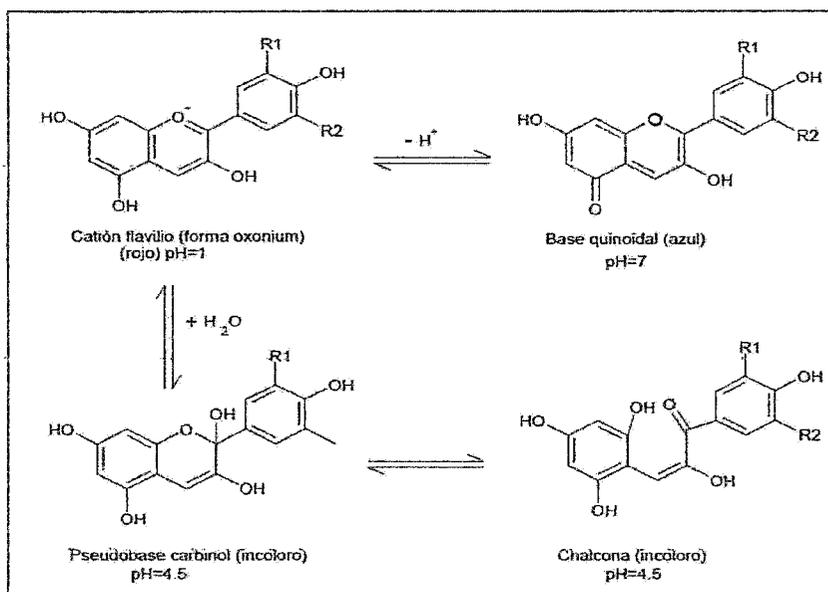


Figura Nº 02. Estructura de antocianinas a diferentes pH.

(Wrorstad, 2001)

b) Temperatura: La estabilidad de las antocianinas, así como, el grado de degradación de las mismas esta marcadamente influenciado por la temperatura. La estabilidad térmica de estos compuestos varía de acuerdo con su estructura, pH, presencia de oxígeno y la interacción con otras moléculas. De forma general, las características estructurales que conllevan a un incremento de la estabilidad en función del pH también llevan a una estabilidad térmica (Hendry y Houghton, 1992). Así tenemos que antocianinas altamente hidrolizadas son menos estables que las metiladas, glucosiladas o aciladas (Belitz, 1997).

En general, salvo algunas excepciones las antocianinas sometidas a un tratamiento térmico siguen una cinética de primer orden, lo cual indica que

el mecanismo de degradación es dependiente de la temperatura tal como lo demuestran los estudios realizados por Cemeroglu et al. (1994) en jugos de mora y Quispe (2003) quien evaluó la estabilidad de las antocianinas del camote morado.

El efecto de la temperatura en la estabilidad de antocianinas en sistemas modelos y en productos alimenticios ha sido estudiado por muchos investigadores; el consenso general es que los pigmentos antocianínicos son notoriamente destruidos por el calor durante el procesamiento y almacenamiento de los alimentos, existe un incremento logarítmico con un incremento aritmético de la temperatura (Markakis, 1982). Realizó un estudio sobre estabilidad de la col morada cuando es calentada durante 5 horas, encontrando que la absorbancia de la muestra decrece significativamente durante los primeros 30 minutos, seguida por un decremento más gradual al parecer lineal.

Aun no existe un mecanismo de degradación por temperatura han postulado una hidrólisis del enlace glicosídico (posición 3) seguido por una conversión de la aglicona a chalcona, que a la vez, da como resultado una a-dicetona. Una degradación mayor de la antocianina da productos con precipitados de color café (Markakis, 1982).

Cuando las soluciones de antocianinas se secan por aspersión, a temperaturas mayores a 100°C, ocurre una degradación del color, mientras que a las temperaturas por debajo de los 90°C resulta en una degradación mínima, discutieron dos posibles mecanismos para la degradación térmica de las antocianinas.

- Hidrólisis del enlace 3-glicosídico que produce más alicano disponible.
- Ruptura hidrolítica del anillo pirilio, que degrada a un compuesto café insoluble por su naturaleza polifenólica (Markakis, 1982).

c) Oxígeno: El oxígeno puede causar una degradación de las antocianinas

mediante un mecanismo de oxidación directa v. o una oxidación indirecta mediante la oxidación de constituyentes del medio que reaccionan con las antocianinas formando compuestos incoloros o pardos (Belitz, 1997).

- d) **Luz:** La luz tiene dos efectos sobre las antocianinas; favorece su biosíntesis pero también acelera su degradación. Estos compuestos son generalmente inestables al ser expuestos a la luz ultravioleta y visible o ante cualquier otra fuente de radiación ionizante (Markakis, 1982).

Las antocianinas sustituidas en los grupos hidroxilo C - 5 son más susceptibles a la fotodegradación que aquellas que no presentan sustituyentes en esta posición. Los compuestos sin sustituyentes o con mono sustituyentes son susceptibles al ataque nucleofílico en las posiciones del C - 2 y/o C - 4 (Markakis, 1982).

- e) **Enzimas:** Las enzimas están implicadas en la decoloración de las antocianinas. Se han identificado dos grupos: Las glicosidasas y polifenoloxidasas. En conjunto, se las conoce como antocianinasas. Las glicosidasas hidrolizan los enlaces glicosídicos quedando el azúcar o azúcares y el aglicón separados. La pérdida de intensidad del color se debe al descenso de la solubilidad de las antocianinas y su transformación en productos incoloros. La polifenoloxidasa actúa en presencia de o - difenoles y oxígeno, oxidando las antocianinas. La enzima oxida primero la o- difenol a o- benzoquinona, que a su vez reacciona con las antocianinas por un mecanismo no enzimático para formar antocianinas oxidadas y productos de degradación (Belitz, 1997).

- f) **Pigmentación:** La copigmentación se define como un fenómeno por el cual el color de las antocianinas se vuelve más azul, brillante y estable, debido a la interacción entre diferentes sustancias orgánicas y las antocianinas (Osawa, 1982) refiriéndose específicamente como copigmentación intermolecular (Hendry y Houghton, 1992).

El efecto que produce este fenómeno se refleja en un incremento de la intensidad del color (efecto hiperocrómico) así como un desplazamiento de la longitud de máxima absorbancia hacia mayores longitudes de onda (efecto batocrómico) lo que da como resultado una mayor profundidad del color (Davies y Mazza, 1993). No sólo la naturaleza de las antocianinas tiene influencia sobre los efectos que produce la copigmentación, factores como la glicosilación y la hidroxilación son necesarios para que este fenómeno se produzca, asimismo, la presencia de ácidos en la molécula de antocianina pueden afectar su eficiencia. Al respecto Brouillard (1982) sostiene que la copigmentación intermolecular puede parecer ser menos eficiente en la estabilidad de las antocianinas que la copigmentación intramolecular (auto asociación), representada por la acilación, aunque a nivel molecular, las características de ambos fenómenos son similares. Por su parte, Hoshino et al. (1980) citados por Jackman y Smith (1992) afirman que la copigmentación intermolecular es más eficiente con antocianinas monoaciladas que con los pigmentos no acilados.

2.2.13. Polimerización de las antocianinas.

Las antocianinas son pigmentos lábiles que experimentan reacciones de degradación. Su estabilidad, como ya se menciona es altamente variable y depende de su estructura y de la composición de la matriz en la cual existe. Al incrementar las sustituciones glucosídicas y en particular, acilaciones de azúcares residuales con ácido cinámico, incrementara la estabilidad del pigmento, la polifenoloxidasas, peroxidasas y las enzimas glicosiladas pueden tener un efecto devastador sobre las antocianinas. Estas enzimas pueden ser nativas de los tejidos de las plantas o provenientes de la contaminación con mohos. Otra posible fuente es parte de las actividades comerciales de las enzimas utilizadas como auxiliares del procesamiento. Las enzimas

glicosiladas actúan directamente sobre las antocianinas, pero la acción de las polifenoloxidasas y peroxidasa son indirectas. Las antocianinas condensarán con otros compuestos fenólicos para formar pigmentos de color polimérico. Esta reacción puede ser acelerada con la presencia de acetaldehído. Los pigmentos de antocianinas poliméricas no mostraran un cambio pronunciado reversible del color con los cambios de pH que es característico de las antocianinas monoméricas. (Wrolstal *et. al.*, 2005).

2.2.14. Antioxidantes.

Los compuestos antioxidantes en los alimentos juegan un papel importante como un escudo protector. La evidencia científica sugiere que los antioxidantes reducen el riesgo de enfermedades crónicas como el cáncer y enfermedades al corazón. Algunas fuentes de antioxidantes naturales son los granos enteros, frutas y verduras. Los antioxidantes de alimentos de origen vegetal como la vitamina C, vitamina E, carotenos, ácidos fenólicos, fitato y fitoestrógenos han sido reconocidos como un gran potencial para reducir el riesgo de enfermedades. La mayoría de antioxidantes en una dieta típica se derivan de fuentes vegetales y pertenecen a diversas clases de compuestos con una amplia variedad de propiedades físicas y químicas. Algunos compuestos, como galatos, tienen una actividad antioxidante fuerte, mientras que otros, como los mono-fenoles antioxidantes son débiles. La principal característica de un antioxidante es su capacidad para atrapar los radicales libres altamente reactivos y especies de oxígenos que están presentes en los sistemas biológicos de una gran variedad de fuentes. Estos radicales libres pueden oxidar ácidos nucleídos, proteínas, lípidos o el ADN (Markakis, 1982).

Se define como cualquier sustancia que, a bajas concentraciones en comparación con el sustrato oxidable, retrasa o inhibe significativamente la oxidación de dicho sustrato. Para lograrlo los antioxidantes entregan un electrón a los radicales libres, con lo cual los desactivan, apagando el proceso de

oxidación y transformándose ellos en radicales libres inactivos o poco reactivos. La importancia de un antioxidante depende de su concentración, del medio donde actúa y de su habilidad para interactuar con sistemas regeneradores. Ciertas enfermedades como la arterioesclerosis, degeneraciones ligadas al envejecimiento y el cáncer, podrían estar unidas al fenómeno de la oxidación celular mediada por radicales libres (Markakis, 1982).

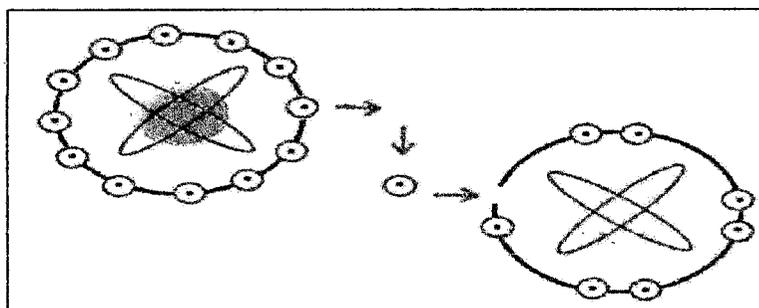


Figura N° 03. Neutralización del radical libre por un antioxidante.

2.2.15. Radicales libres.

Los radicales libres son átomos o moléculas que poseen un electrón extra no apareado en su órbita externa, generando una alta inestabilidad, los cuales son tóxicos y generadores de enfermedades, activando reacciones en cadena que culmina en la destrucción total de la célula. Actualmente es evidente que existe una relación entre alimentación y las enfermedades crónico – degenerativas, las cuales también se relacionan directamente con los radicales libres, esto es debido en gran parte al estrés oxidativo generado, contribuyendo de manera significativa el estilo de vida, tipo de alimentos que se ingieren y la manipulación o exposición a sustancias químicas que contribuyeron a la disminución de la resistencia a las enfermedades (Reyes J., 2007).

En el caso de las proteínas el daño a causa de los radicales libres es menos rápido y extenso que el que afecta a los lípidos, afecta principalmente a los aminoácidos: Cisteína, Triptófano, Tirosina, Histidina, Lisina, Metionina.

Dependiendo de la proteína la modificación oxidativa puede conducir a una alteración (pérdida) de la actividad catalítica, a una alteración en la traducción de mensajes o a la perturbación de fenómenos de transporte. Aún no es posible atribuir la oxidación de proteínas como factor de alguna patología, sin embargo el daño radicalario que las afecta subyace al daño ocular en cataratas y retinopatías en diabéticos, también está asociado con desórdenes neuro-degenerativos como el alzheimer y con el envejecimiento celular (Speisky H., 2000).

Los principales "antioxidantes fisiológicos" lo constituyen aquellas moléculas que: proviniendo de la dieta y poseyendo un carácter de nutriente esencial (es decir, que pueden originar deficiencias), cumplan en el organismo, directa o indirectamente, una función antioxidante. Junto a los micronutrientes esenciales como el Cu, Zn Mn, Se, Fe, riboflavina y metionina, son de particular importancia nutricional las llamadas "vitaminas antioxidantes", a saber la vitamina E o α -tocoferol, la vitamina C o ácido ascórbico y ciertos carotenos (Speisky H, 2000).

Los antioxidantes como los ácidos fenólicos, polifenoles y flavonoides eliminan los radicales libres como el peróxido, hidroperóxido o lípidos peroxilo lo que inhibe los mecanismos que conducen a enfermedades degenerativas. Hay una serie de estudios clínicos que indican que los antioxidantes de las frutas, verduras, té y vino tinto son los principales alimentos que reducen la incidencia de enfermedades crónicas, como enfermedades de corazón y algunos tipos de cáncer. (Prakash A., Rigelhof F. y Miller E., 2007).

2.2.16. Técnicas de extracción y cuantificación de antocianinas.

Lock (1988) menciona que "Los solventes empleados en la extracción de estos compuestos son muy variados y pueden ser desde muy polares como agua y etanol para glucósidos o agliconas muy hidroxiladas, hasta menos polares como éter y cloroformo para flavonas altamente metoxiladas. Es

recomendable emplear una sucesión de dos o más solventes, usualmente en el orden de lipofílico a hidrófilico; ejm. Éter de petróleo, benceno, éter etílico, acetato de etilo, alcoholes y finalmente agua, aunque en este último caso se presenta la desventaja de su alto punto de ebullición y presión de vapor que dificultan luego el ser removido rápida y completamente del extracto; por otro lado, podrían ser extraídos otros compuestos de alto peso molecular que usualmente interfieren en las subsiguientes etapas de purificación del flavonoide.

2.2.17. Técnicas cromatográficas.

Lock (1988) menciona: "Las técnicas cromatográficas usadas para la detección o separación de flavonoides de un extracto de planta son también muy variadas en cuanto las técnicas mismas, así como a las condiciones en las cuales ellas pueden realizarse"

2.2.18. Técnicas espectrofotométricas.

Lock (1988) menciona "El método más usual para analizar la estructura de un flavonoide es quizás la absorción UV- Vis, esta técnica es usada tanto para identificar el tipo de flavonoide como el modelo de oxigenación". "Esto último puede además ser el mejor definido por el uso de reactivos de desplazamiento el cual como su nombre lo indica provoca el desplazamiento de picos de absorción".

2.2.19. Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es la técnica analítica de separación y cuantificación, es la más ampliamente usada. Las razones de su utilización son su sensibilidad, su fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, su idoneidad para automatizarla, su capacidad para separar especies no volátiles o termolábiles, pero sobre todo su amplia aplicabilidad a sustancias que son importantes en la industria, muchos cambios de la ciencia y para la sociedad en general. La cromatografía agrupa

un conjunto importante y diverso de métodos que facilitan la separación, identificación y determinación de componentes estrechamente relacionados en mezclas complejas; muchas de dichas separaciones son imposibles por otros medios. En todas las separaciones cromatográficas la muestra se disuelve con una fase móvil que puede ser un gas, líquido o un fluido supercrítico, la cual se hace pasar a través de una fase estacionaria inmiscible fija en una columna o en una superficie sólida. Las dos fases se eligen de tal forma que los componentes de la muestra se distribuyen en grados distintos entre la fase móvil y la fase estacionaria. Aquellos componentes que son fuertemente retenidos por la fase estacionaria se mueven con mucha lentitud con el flujo de la fase móvil. En cambio, los componentes unidos débilmente a la fase estacionaria se mueven con rapidez. Como consecuencia de las distintas velocidades de migración, los componentes de la muestra se separan en bandas o zonas distintas que se pueden analizar en forma cualitativa y cuantitativa (Fernández *et. al.*, 2008).

2.3. Hipótesis.

Hp

- El efecto de cocción por inmersión determina mayor degradación sobre las antocianinas de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*).

Ho

- El efecto de cocción por inmersión no determina mayor degradación sobre las antocianinas de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*).

2.4. Definición de términos.

- a) **Antocianinas:** Las antocianinas representan el grupo más importante de pigmentos hidrosolubles detectables en la región visible por el ojo humano (Strack y Wray, 1994), 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 (Wagner, 1982).

b) Antioxidantes: Los compuestos antioxidantes en los alimentos juegan un papel importante como un escudo protector. La evidencia científica sugiere que los antioxidantes reducen el riesgo de enfermedades crónicas como el cáncer y enfermedades al corazón.

2.5. Identificación de variables.

En el presente trabajo se identificará las siguientes variables:

2.5.1. Variables Independientes:

- Cocción por inmersión.
- Cocción por fritura.

2.5.2. Variable Dependiente.

- Contenido de antocianinas.

2.6. Definición operativa de variables e indicadores.

Cuadro N° 02. Definición operativa de variables e indicadores.

Objetivo	Variable	Indicador
Evaluar el efecto del tipo de cocción de la papa nativa (<i>Azul Llumchuy Waqachi</i>), sobre las antocianinas.	Variables Independientes: Tipo de cocción	- Temperatura (°C) - Tiempo (s).
	Variable dependiente: Contenido de antocianinas.	- Temperatura (°C) - Tiempo (s) - Métodos de análisis HPLC
<ul style="list-style-type: none"> • Determinar las antocianinas presente en la papa nativa en estudio. • Evaluar la pérdida de antocianinas en cocción por inmersión y fritura de la papa nativa en estudio. 	Variables Independientes Tipo de cocción	- Temperatura (°C) - Tiempo (s)
	Variable dependiente: Contenido de antocianinas	- Temperatura (°C) - Tiempo (s). - Métodos de análisis HPLC

Fuente: Elaboración propia.

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

3.1. **Ámbito de estudio.**

La materia prima procedió del distrito de Paucará de la provincia de Acobamba de la Región Huancavelica, para realizar evaluación de sus análisis se realizó en los laboratorios de Ingeniería de Industrias Alimentarias de la UNCP.

a. **Ubicación política:**

Latitud	: 12° 43' 37"
Longitud	: 74° 39' 51" del meridiano de Greenwich.
Altitud	: 3680 m.s.n.m. de la línea Ecuatorial.

b. **Ubicación geográfica:**

Precipitación pluvial	: 650 mm promedio anual.
Temperatura promedio	: 12°C
Humedad relativa	: 55%

c. **Duración:**

Fecha de inicio	: Agosto, 2013.
Fecha de culminación	: Enero, 2014.

3.2. **Tipo de investigación.**

El tipo de investigación es Aplicativa.

3.3. **Nivel de investigación.**

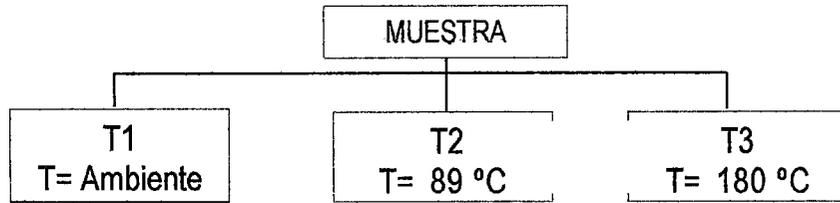
El nivel de investigación es Experimental.

3.4. **Método de investigación.**

El método que se utilizó en el presente trabajo de investigación es científico, se analizó la concentración de antocianinas.

3.5. Diseño de investigación.

Figura N° 04. Diseño de la investigación.



Dónde: A = contenido de antocianinas.
 T1 = sin tratamiento.
 T2 = inmersión.
 T3 = fritura. Fuente: Elaboración propia.

Cuadro N° 03. Diseño experimental de la Investigación.

REPETICIONES	TRATAMIENTOS		
	T1	T2	T3
	A	A	A
1	X11A	X21A	X31A
2	X12A	X22A	X32A
TOTAL	X1A	X2A	X3A
PROMEDIO	$\bar{X}1A$	$\bar{X}2A$	$\bar{X}3A$

Fuente: Elaboración Propia

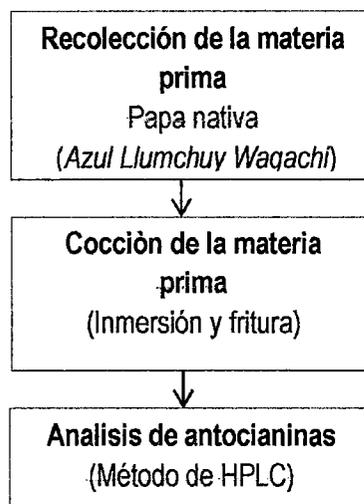
Dónde:

T1 = Materia Prima (MP), T2 = Inmersión (MP), T3 = Fritura (MP).

A = Contenido de Antocianinas.

X11A a X32A = Unidades Experimentales que representan los valores del contenido de Antocianinas para los tratamientos 1 – 3, para ellos se realizaron 2 repeticiones del análisis de laboratorio.

Figura N° 05. Pasos de diseño de investigación realizada.



Fuente: Elaboración propia.

3.5.1. Descripción pasos de diseño de investigación realizada.

- a. **Recolección de la materia prima:** La recolección de materia prima, la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*), se ha realizado en el distrito de Paucará sin haber seleccionado. En el laboratorio de Agroindustrias-UNH las papas fueron lavadas, seleccionados y desinfectados visualmente por la intensidad de su color Azul violáceo y apariencia general. Una muestra aproximada de 1500 g las cuales, se dividió en tres partes iguales (T1, T2 y T3).
- b. **Cocción de la materia prima:** La muestras fueron tratadas (cocidas) en el laboratorio de Agroindustrias-UNH, por emersión durante 30 minutos a 89 °C (T2), fritura durante 3 minutos a 180 °C (T3) y sin tratamiento (T1).
- c. **Análisis de antocianinas:** Los análisis de antocianinas totales presentes en la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) fueron en las tres muestras: sin tratamiento, por inmersión y fritura, la que consistió en cuantificación de antocianinas totales de cada muestra con el método de HPLC.

Figura N° 06. Diagrama de flujo de evaluación de contenido de antocianinas.



Fuente: Elaboración propia.

3.5.2. Análisis de resultados.

Para seleccionar el tratamiento que permita seleccionar el mayor contenido de antocianinas se utilizó el DCA luego se realizó el ANVA para determinar la variabilidad de los tratamientos a un nivel de confianza de 95% y 5% de error y una Prueba de LSD.

3.6. Población, muestra, muestreo.

3.6.1. Población. Se recolectó y se utilizó la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) procedentes del distrito de Paucará, provincia de Acobamba y región Huancavelica.

3.6.2. Muestra. Se realizó separándose equivalentemente y aleatoriamente de 500 g. para cada tratamiento (sin tratamiento, inmersión y fritura).

3.6.3. Muestreo. Se realizó al azar el pesado de la papa nativa con el fin de realizar los análisis respectivos en laboratorio para cada tratamiento.

3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

Se procedió a evaluar la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*), luego su análisis de la concentración de antocianinas.

Cuadro N° 04. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

Técnicas	Instrumentos	Recolección de datos
Selección de la materia prima de las muestras.	Manualmente. Balanza digital.	<ul style="list-style-type: none"> • Papa nativa (<i>Azul Llumchuy Waqachi</i>)
Recolección de información	Libros, boletín y formatos impresos	<ul style="list-style-type: none"> • Antocianinas. • Concentración de antocianinas. • Características de antocianinas. • Métodos de cuantificación de antocianinas.
Análisis de antocianinas	Método de HPLC	<ul style="list-style-type: none"> • Concentración de antocianinas.

3.8. Procedimiento de recolección de datos.

Cuadro N° 05. Procedimiento de recolección de datos.

Procedimiento	Recolección de datos
Análisis de concentración de antocianinas la papa nativa (<i>Azul Llumchuy Waqachi</i>).	Resultados de laboratorio.

3.9. Técnicas de procesamiento y análisis de datos.

La técnica de procesamiento de datos fue mediante la estadística descriptiva el DCA y el análisis que se realizó en el presente trabajo de investigación es el análisis de la concentración de antocianinas totales mediante el método de HPLC (Anexo N° 04).

Cuadro N° 06. ANVA en un Diseño Completamente al Azar-DCA.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Fc
Tratamiento	t - 1	T $\sum_{i=1}^t \frac{Y_i^2}{r} - FC$	E/B	H/I
Error	(r - 1) (t - 1)	SC Total - SC Tratamientos - SC Repeticiones	F/C	
Total	tr - 1	t r $\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r Y_{ij}^2 - FC$		

Dónde: t = número de tratamientos r = número de repeticiones (Bloques)

Fuente: Elaboración propia.

CAPITULO IV. RESULTADOS

4.1. Presentación de resultado.

Los análisis que se realizó en el presente trabajo de investigación, fue netamente la concentración de antocianinas totales de cada tratamiento como: en la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) sin cocción, cocción por inmersión y cocción por fritura; utilizando el método de HPLC muestran los siguientes resultados:

4.1.1. Análisis de contenido de antocianinas totales de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) sin cocción.

En el Cuadro N° 07, se muestra los resultados de análisis de contenido de antocianinas en la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) sin cocción, la cual contiene: repetición 01 (0,3156g.) y la repetición 02 (0,3142g) de antocianinas/100 g de muestra.

Cuadro N° 07. Contenido de antocianinas de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) sin cocción.

Repeticiones.	Antocianinas (g/100g muestra).
01	0,3156
02	0,3142

4.1.2. Análisis de contenido de antocianinas totales de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) con la cocción por inmersión.

En el Cuadro N° 08, se muestra los resultados de análisis de contenido de antocianinas en la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) de cocción por emersión, la cual contiene: repetición 01 (0,1981g.) y la repetición 02 (0,1741g) de antocianinas/100 g de muestra.

Cuadro N° 08. Contenido de antocianinas de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) con la cocción por inmersión.

Repeticiones.	Antocianinas (g/100g muestra).
01	0,1981
02	0,1741

4.1.3. Análisis de concentración de antocianinas totales de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) con la cocción por fritura.

En el Cuadro N° 09, se muestra los resultados de análisis de contenido de antocianinas en la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) de cocción por fritura, la cual contiene: repetición 01 (0,2376g.) y la repetición 02 (0,2863g) de antocianinas/100 g de muestra.

Cuadro N° 09. Contenido de antocianinas de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) con la cocción por fritura.

Repeticiones.	Antocianinas (g/100g muestra).
01	0,2376
02	0,2863

4.1.4. Porcentaje de la pérdida de contenido de antocianinas por los tipos de cocción.

En el cuadro N° 10, se muestra el porcentaje de la pérdida o la degradación de las antocianinas presente en la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*); en base a la materia prima (si cocción), con los dos tipos de cocción según el análisis con el método de HPLC.

Cuadro N° 10. Porcentaje de la pérdida del contenido de antocianinas por efecto de los tipos de cocción.

Tipos de cocción	Repeti.	Antocianinas (g/100g muestra)	Promedio de antocianinas de cada tratamiento (g/100 g muestra)	Porcentaje (%)	Porcentaje de pérdida (%)
Materia prima	01	0,3156	0,3149	100	0
	02	0,3142			
Por fritura	01	0,2376	0,2620	83,2	16,8
	02	0,2863			
Por inmersión.	01	0,1981	0,1861	59,1	40,9
	02	0,1741			

El cuadro anterior indica, según los análisis de cuantificación de antocianinas totales mediante el método de HPLC, que el tipo de cocción por inmersión es el tratamiento que mayor efecto tiene sobre las antocianinas y el tipo de cocción por fritura es la que conserva mejor las antocianina y flavonoides presentes en la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*).

4.1.5. Análisis estadístico del contenido de antocianinas

En el cuadro N° 11, se muestra el análisis de varianza del contenido de antocianinas para los tratamiento, donde indica que la investigación tiene significancia, porque el $F_c = 17,050406$ es mayor al $F_t = 9,5520945$.

Cuadro N° 11. Analisis de varianza del contenido de antocianinas para los tratamientos.

Fuente de variación	SC	GL	CM	Fc	Ft
Tratamientos	0,016764243	2	0,00838212	17,050406	9,5520945
Error	0,001474825	3	0,00049161		
Total	0,018239068	5			

4.1.6. Comparaciones de medias para el contenido de antocianinas.

En el cuadro N° 12, se muestra las comparaciones de medias para el contenido de antocianinas para los tratamientos, utilizando comparaciones todos contra todos, de las cuales resultan que, T1 con T2 no existe diferencia significativa; es decir el análisis estadístico de la investigación confirma que el tipo de cocción por fritura conserva las antocianinas presentes, es casi igual a la concentración de antocianinas en la materia prima; caso contrario ocurre con los: T1 con T3 y T2 con T3, Si existe diferencia significativa.

Cuadro N° 12. Comparaciones de medias para el contenido de antocianinas para los tratamientos.

Tratamientos	Diferencia de medias	DMS	Significancia
T1 - T2	0,05295	0,05760553	No existe
T1 - T3	0,1288	0,05760553	Si existe
T2 - T3	0,07585	0,05760553	Si existe

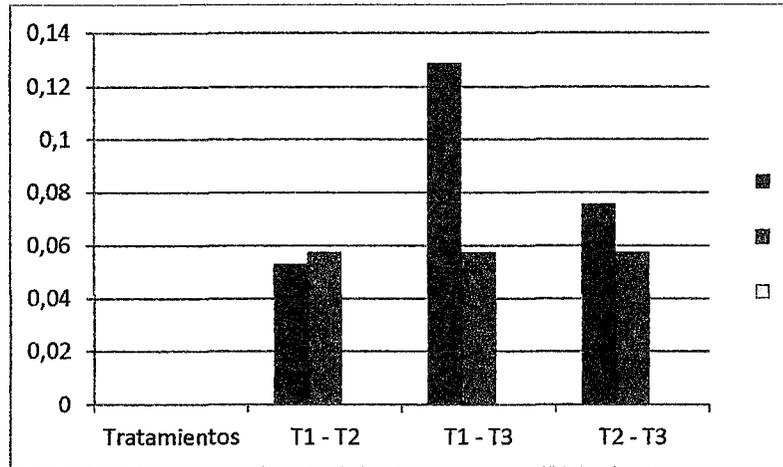


Figura Nº 07. Comparaciones de medias para el contenido de antocianinas para los tratamientos

4.1.7. Tiempo y temperatura durante la cocción.

En el cuadro Nº 13, se muestra el tiempo y la temperatura de cada tipo de cocción las cuales fueron contralados durante los procesos de cocción, para llevar a su análisis; de estos resultados con el contenido de antocianinas de cada tratamiento según el análisis estadístico y HPCL; se deduce las antocianinas se conserva mejor por en tratamiento térmico de alta temperaturas pero menor tiempo.

Cuadro Nº 13. Tiempo y temperatura durante la cocción.

Tipo de cocción.	Tiempo (min.)	Temperatura (°C)	Contenido de antocianinas (g /100 g muestra)
Inmersión	30	89	0,1861
fritura	2-3	180	0,2620
Sin cocción.	0	Ambiente	0,3149

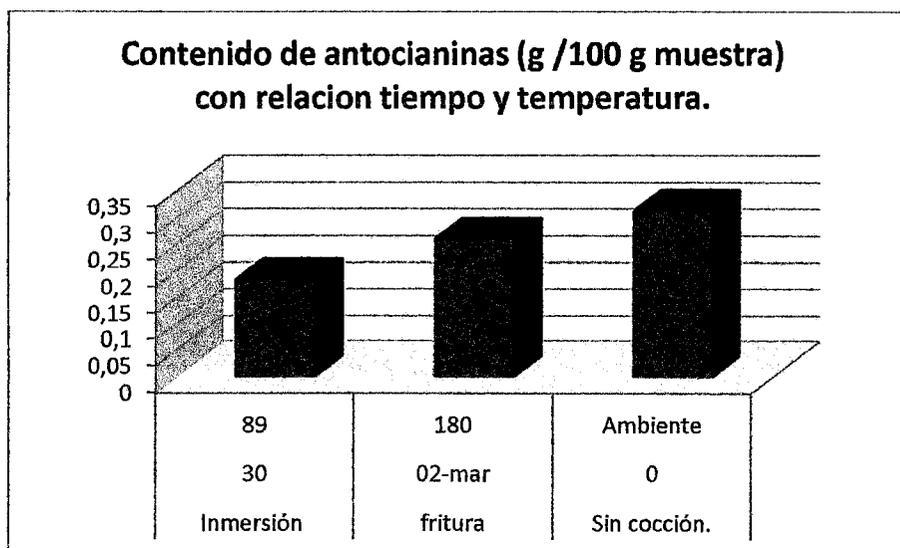


Figura N° 08. Tiempo y temperatura durante la cocción.

4.1.8. Análisis fisicoquímico de la papa nativa (azul *Llumchuy Waqachi*).

En el Cuadro N° 14, se muestra los resultados de análisis de características fisicoquímicos de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*), materia prima sin ningún tratamiento.

Cuadro N° 14. Analisis quimico proximal.

Análisis	Resultado
Ceniza (%)	3,76
Proteína (%)	7,93
Grasa (%)	0,36
Fibra (%)	4,71
Almidón (%)	83,24

4.2. Discusión.

4.2.1. Características químico proximal de la papa nativa *Azul Llumchuy Waqachi*

En el Cuadro N° 15, se observa las comparaciones de características químico proximal realizadas por Villacrés, Quilca y Monteros (2010), a las papas nativas, al realizar las comparaciones respectivas con papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) se logró observar que no hay diferencia significativa en la composición de las papas nativas con respecto a la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*).

Cuadro N° 15. Comparación de características químico proximal de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) con otras papas nativas.

Papas nativa	Ceniza (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	Fibra (%)	Almidón (%)
Azul Llumchuy Waqachi	3,76	7,93	0,36	4,71	83,24
Santa rosa*	4,44	10,62	0,52	4,17	80,25
Leona negra*	3,78	7,91	0,38	4,69	83,24
Coneja negra*	4,06	6,40	0,45	4,31	84,79
Pucashungo*	4,59	9,82	0,51	6,07	79,01

Fuente: Villacrés, Quilca y Monteros (2010)*

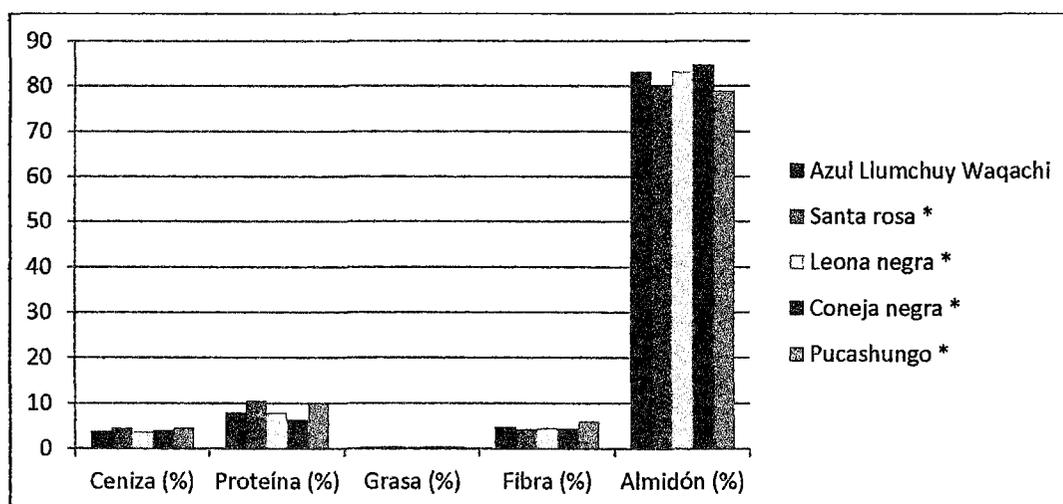


Figura N° 09. Comparación de características químico proximal de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) con otras papas nativas.

4.2.2. Contenido de antocianinas totales de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*).

En el presente trabajo de investigación se obtiene una concentración de antocianinas presentes en la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*), en las siguientes concentraciones: 0,3149 g /100 g de muestra; 0,2620 g /100 g de muestra y 0,1861 g /100 g de muestra en la papa sin cocción, cocción por fritura y cocción por inmersión respectivamente. El contenido de antocianinas presentes en la papa nativa Pucashungo (hojuela cruda) presenta un contenido en antocianinas monoméricas de 0,1522 g / 100 g muestra y el (hojuela frito) presente 0,1101 g / 100 g muestra; y en la papa nativa Yanashungo las antocianinas presentes es de: 0,2576 g / 100 g muestra y 0,1997g / 100 g muestra en hojuela cruda y hojuela frito respectivamente (Timberlake, 2009).

Las cuales como se muestra en el Cuadro N° 16 y Figura N° 10, que al realizar las comparaciones la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) es mínimamente superior en contenido de antocianinas que las otras papas nativas encontradas como antecedentes, la degradación de las antocianinas y flavonoides es casi igual a la de la papa nativa en investigación.

Cuadro N° 16. Comparación de contenido de antocianinas de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) con otras papas.

Tipos de tratamiento	Antocianinas totales (g /100 g de muestra)
Azul Llumchuy Waqachi	0,3149
Azul Llumchuy Waqachi (por fritura)	0,2620
Azul Llumchuy Waqachi (Por inmersión)	0,1861
Pucashungo (hojuela cruda)*	0,1522
Pucashungo (hojuela frito)*	0,1101
Yanashungo (hojuela cruda)*	0,2576
Yanashungo (hojuela frito)*	0,1997

Fuente: Timberlake, (2009).*

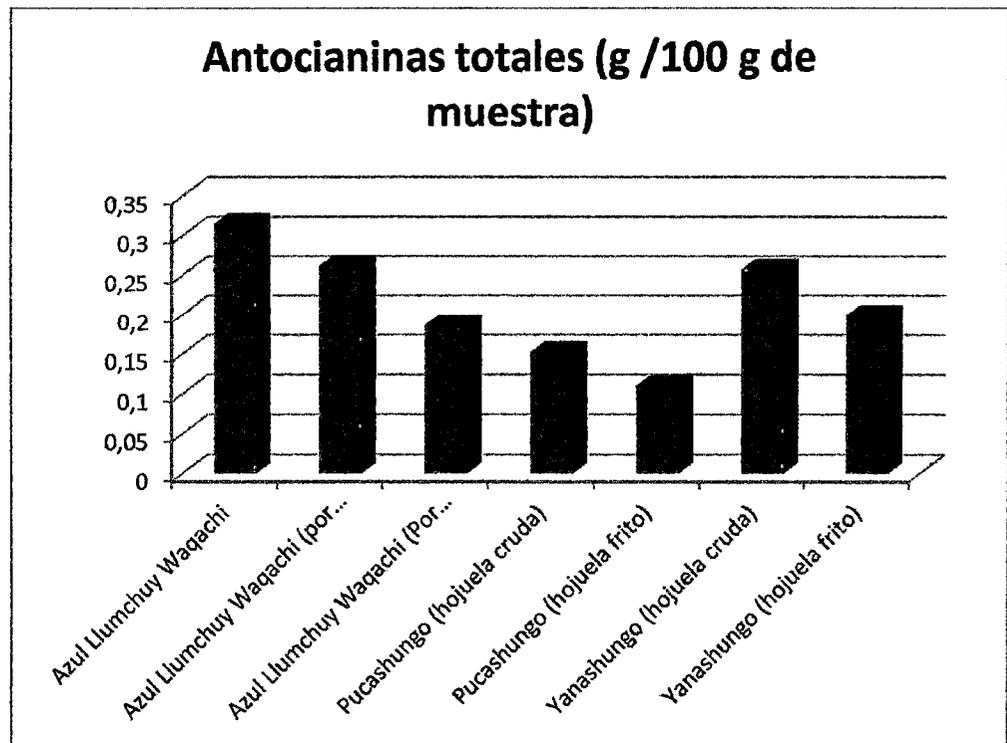


Figura N° 10. Comparación de contenido de antocianinas de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) con otras papas.

CONCLUSIONES

- Se evaluó según el análisis de la concentración de antocianinas, por el método de HPLC y análisis estadístico, el contenido de antocianinas de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) que fue de: 0,3149 g /100 g de muestra; 0,2620 g /100 g de muestra y 0,1861 g /100 g de muestra en la papa sin cocción, cocción por fritura y cocción por inmersión respectivamente, siendo el tipo de cocción por fritura, el tratamiento que mayor conserva a las antocianinas.
- Se determinó las antocianinas presentes en la papa nativa en estudio, siendo el tipo de cocción por inmersión que tiene la mayor degradación sobre las antocianinas, que es 40,9 % de pérdida del total de antocianinas.
- El análisis estadístico confirmó, que la mayor pérdida de antocianinas es por el tipo de cocción por inmersión donde también influye el tiempo y la temperatura de cocción, es decir las concentraciones de antocianinas es mayor, en tratamientos térmicos de alta temperatura pero corto tiempo.

RECOMENDACIONES

- Utilizar el tipo de cocción (fritura) que menor efecto tiene sobre las antocianinas de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*), con la cual se conserva estos compuestos, que son muy importantes para la dieta alimentaria.
- Investigar y desarrollar nuevos productos o derivados de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) para la alimentación, dando importancia a las propiedades que posee.
- Incentivar la producción, industrialización y consumo de papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) en las comunidades al andinas.
- Realizar la extracción de antocianinas de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) para uso agroindustrial.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Agostini L, Morón M, Ramón A, Gómez A. Determinación de la capacidad antioxidante de flavonoides en frutas y verduras frescas y tratadas térmicamente; 2004; 54(1): 89 – 92.
- Aguilera R. Tratamiento térmico de los alimentos en los procesos tecnológicos, Por freído, Colombia; 2003.
- Alonso J. Estudios de la papa en la alimentación, Experimento con ratas 2000; 72: 163-172 p.
- Astruc D, Astruc F. Química organometálica, Barcelona: Editorial Reverté; 2004,
- Avello M, Suwalsky M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección, Chile (Atenea); 2006.
- Brown C. Antioxidants in potato, American Journal of Potato Research 2005; 82: 163-172 p.
- Brown C, Wrolstad R, Yang C, y Clevidence B. Breeding studies in potatoes containing high concentration of anthocyanins, American Journal of Potato Research; 2003; 80: 241-250.
- Bowman B, Russell R. Conocimientos Actuales de Nutrición, 8va edición, Washington: OPS-ILSI; 2003.
- Centro Internacional de la Papa (CIP), y la Federación Departamental de Comunidades Campesinas (FEDECH), 2006.
- Comisión veracruzana de comercialización agropecuaria, Monografía de la papa [Sitio en Internet], México, Veracruz; 2008, Disponible en: [www, portal, veracruz, gob](http://www.portal.veracruz.gob) 2008, Acceso el 26 junio 2008.
- Fernández S, Villano D, Troncoso A, García C. Revisión de los métodos de evaluación de la actividad antioxidante in vitro del vino y valoración de sus efectos in vivo; 2006; 56 (52): 1 – 13.
- Guija E, Troncoso L. Radicales libres y envejecimiento, Boletín Sociedad Peruana

- Química (Perú) 2000.
- Kuskoski E, Asuero A, Troncoso A, Mancini J, Fett R, Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos,
 - Kuskoski M, Asuero A, García-Parilla C, Troncoso A, Fett R. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos, Ciencia y Tecnología de Alimentos (Brasil) 2004; 24 (4): 691- 693 p.
 - Kuskoski E, Asuero A, Troncoso A, Mancini J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos, Ciencia y Tecnología de Alimentos 2005; 25(4): 726 -732.
 - Leighton F, Urquiaga I, Casanegra P, Inestrosa N, y Maiz A. Polifenoles y flavonoides, Boletín ciencia vino y salud, Programa bases moleculares de las enfermedades crónicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile; 1999; 3 (2): 1-8.
 - Lisinska G, y Leszczynski W. Potato science and technology, Elsevier science publishers LTD, Ireland 1989; 391p.
 - Llano K, Sgroppo S, Avanza J. Actividad antioxidante y contenido en fenoles totales en vinos de origen nacional 2003; 19 (1): 11– 19.
 - Mondy N. Factors affecting the nutritional quality of potatoes, Proceedings International Congress, "Research for the potato in the year 2000, International Potato Center, CIP, Lima, Perú, 1982 pp136 – 137p.
 - Monti M. Variedades de papa para uso diferenciado, Balcarce, Argentina: INTA, 1996.
 - Montero M. Los radicales libres y las defensas antioxidantes, Revisión, AnFacMed (Perú); 1996.
 - Mosquera O, Niño J, Correa Y, Buitrago D. Estandarización del método de captura de radicales libres para la evaluación de la actividad antioxidante de extractos vegetales, Scientia et Technica 2005; 11 (27): 231 – 234.
 - Pineda D, Salucci M, Lázaro R, Maiani G, Ferro A. Capacidad antioxidante y

- potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos; 1999.
- Reyes J. Capacidad antioxidante de algunos vegetales crudos y cocidos, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, México, Santiago de Querétaro; 2007.
 - Reyes L, y Cisneros-Zevallos L. Wounding stress increases the phenolic content and antioxidant capacity of purple-flesh potatoes (*Solanum tuberosum* L.), Journal of Agricultural and Food Chemistry 2003; 51(18): 5296- 5300 p
 - Speisky H, Jiménez. Radicales libres y antioxidante en la prevención de enfermedades: (I) mecanismos de generación de radicales libres, Revista Chilena; 2000.
 - Timberlake H. Contenido de Antocininas en Hojuelas de Papa nativa. Revista Chilena Alimentación y Seguridad Alimentaria; 2009. 297 – 301 Pág.
 - Urquiaga I, Urzúa U, Leighton F. Antioxidantes naturales, Impacto en la salud, En congreso Latinoamericano de grasas y aceites (Santiago de Chile); 1999,
 - Valencia E, Valenzuela E, Barros E, Hernández M, Lazo C, Gutiérrez C, et. Al. Estudio fitoquímico y actividad antialimentaria de *Sennastipulaceae*, Bol SocChilQuim, Quim 2000; 45(2): 297 – 301 Pág.
 - Velioglu Y, Mazza G, Gao L, y Oomah D. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruit, vegetables, and grain product, Journal Agric, AfoodChem 1998; 46: 4113- 4117.
 - Villacrés, E., Quilca. Caracterización química y funcional de papas nativas para orientar sus usos futuros. 2010. 15 Pág.
 - Zamora J. Antioxidantes: micronutrientes en la lucha por la salud, Revista Chilena Nutrición; 2007.
 - Zamora J. Antioxidantes: micronutrientes en la lucha por la salud, RevChilNutr 2007; 34(1):17 – 26.

ARTÍCULO CIENTÍFICO

Evaluación del Efecto del Tipo de Cocción en el Contenido de Antocianinas en Papa Nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*)

Evaluation of the Effect of Type of Cooking the Content on Anthocyanins in Pope Native (*Blue Llumchuy Waqachi*)

Lucio Escobar Layme

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo, evaluar el efecto del tipo de cocción de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*), sobre las antocianinas, la cual es de la especie *Solanum tuberosum* subesp, es una papa nativa andígena del Perú; y cuyas potencialidades son escasas y hasta ahora poco conocido. Esta investigación ampara su valor científico en la necesidad de obtener datos del contenido de antocianinas en alimentos después de la cocción para poder aprovecharlos en mayor cantidad estos efectos biológicos se han atribuido a la propiedad antioxidante a través de la desactivación de radicales libres y la captura del oxígeno. El análisis de las antocianinas totales, por el método de HPLC, determinó la mayor pérdida de antocianinas en el tipo de cocción por inmersión que fue de 0,1861 g /100 g muestra (40,9 % de pérdida) y el menor pérdida de antocianinas fue en el tipo de cocción por fritura, que es de 0,2620 g /100 g muestra (16,8 % de pérdida); utilizando como patrón al la materia prima, que contiene 0,3149 g /100 g muestra (equivalente al 100 % de antocianinas que contiene la papa *Azul Llumchuy Waqachi*). Las cuales fueron tratados con los parámetros de cocción: 30min /89 °C, 2-3min /180 °C y 0min/T° ambiente respectivamente. Estos resultados como los resultados de análisis estadístico revelan a la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) como un tubérculo, fuente importante de antocianinas y capacidad antioxidante, y la manera más adecuada de conservar las antocianinas durante la cocción es por el tipo de cocción por fritura, para su aprovechamiento óptimo en la alimentación y su uso agroindustrial como fuente importante de antocianinas y flavonoides.

Palabras claves: efecto, cocción, antocianinas, *Azul Llumchuy Waqachi*, HPLC-MS/MS.

ABSTRACT

This research aimed to evaluate the effect of type of cooking native potato (Blue Llumchuy Waqachi) on anthocyanins, which is the species *Solanum tuberosum* subesp, is a andigena native potatoes in Peru, and whose potentials are scarce and little known until now. This research covers scientific value the need to obtain data from the content of anthocyanins in foods after cooking in order to take advantage of as many of these biological effects have been attributed to the antioxidant property through deactivation of free radicals and capture oxygen. The analysis of total anthocyanins by HPLC method, determined the greatest loss of anthocyanins in the type of cooking that dip was 0.1861 g / 100 g sample (40.9 % loss) and the lowest loss anthocyanins was in the type of cooking frying, which is 0.2620 g / 100 g sample (16.8 % loss), used as a pattern to the raw material, which contains 0.3149 g / 100 g sample (equivalent 100 % anthocyanins containing potato Waqachi Llumchuy Blue). Which were treated with the cooking parameters: 30 min / 89 ° C, 2 - 3min / 180 and 0min / T ° respectively. These results and the results of statistical analysis show the native potatoes (Blue Llumchuy Waqachi) as a tuber, a major source of anthocyanins and antioxidant capacity, and the best way to preserve the anthocyanins during cooking is the type of cooking frying for their optimal use in food and agricultural use as an important source of anthocyanins and flavonoids.

Keywords: Effect, cooking, anthocyanins, Blue Llumchuy Waqachi, HPLC - MS / MS.

INTRODUCCIÓN

Las antocianinas pertenecen a un gran y muy distribuido grupo de metabolitos secundarios, que se conocen colectivamente como flavonoides. Las antocianinas son los componentes que otorgan a las plantas colores rojos, azules, morados, particularmente en partes como frutos, flores y hojas. Estos pigmentos fueron consumidos por los hombres a lo largo de incontables generaciones sin causar aparentemente ningún efecto toxico. La conservación de las antocianinas y antioxidantes como la vitamina C y los flavonoides tienen gran importancia para combatir contra el stress oxidativo, enfermedades cardiovasculares, cáncer y problemas de enfermedades crónicas de esta época. En nuestro país y sobre todo en nuestra región,

18

existen productos con alto contenido de antocianinas y sustancias antioxidantes, uno de ellos son las papas nativas de colores, de los cuales no tenemos datos cuanto contribuyen en nuestra dieta y sobre todo cuanto realmente se utiliza o están disponibles las sustancias antioxidantes luego de ser cocidos. Los fenoles de la papa reducen los niveles de glucosa presentes en la sangre. Pruebas de laboratorio han mostrado que el ácido clorogénico y otros fenoles tienen una fuerte actividad antioxidante sobre lipoproteínas que se relacionan directamente con enfermedades cardíacas. Identificaron en la variedad cuchipelo los tipos de antocianinas que contiene, en crudo, de aquí que nace la presente investigación para poder determinar en el proceso de cocción cuanto realmente se pierde.

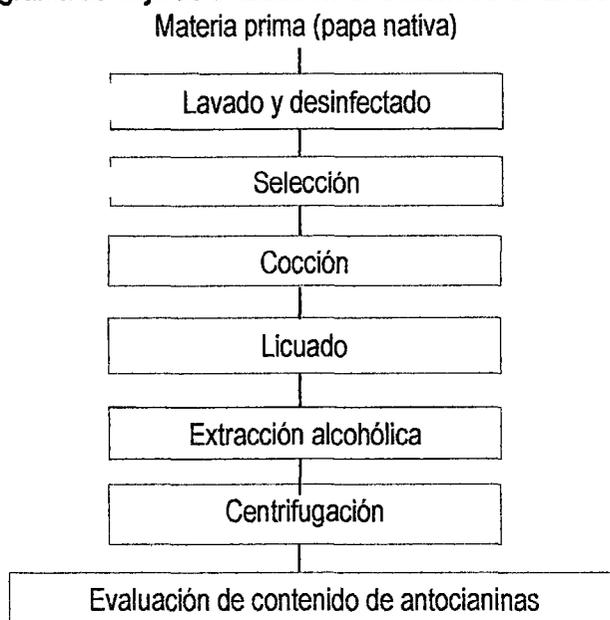
Cuentan que antiguamente se utilizaban los tubérculos de esta variedad –que por su forma son difíciles de pelar– para probar la habilidad de las muchachas o nueras para pelarlos, de ahí su nombre en quechua *Llumchuy Waqachi*, sólo las que pasaban esta prueba podían casarse.. Las características agronómicas indican que: rendimiento (Kg por planta) 0.5 – 1.0, número de tubérculos por planta 10 – 24, resistente a la racha, tolerante a la helada, almacenamiento mayor a 5 meses y el rango de adaptación 3200 - 4000 msnm. Andígena y de abundancia escasa.

MATERIALES Y MÉTODOS

- A. Recolección de la materia prima:** La recolección de materia prima, la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*), se ha realizado en el distrito de Paucará sin haber seleccionado. En el laboratorio de Agroindustrias-UNH las papas fueron lavadas, seleccionados y desinfectados visualmente por la intensidad de su color Azul violáceo y apariencia general. Una muestra aproximada de 1500 g las cuales, se dividió en tres partes iguales (T1, T2 y T3).
- B. Cocción de la materia prima:** Las muestras fueron tratadas (cocidas) en el laboratorio de Agroindustrias-UNH, por emersión durante 30 minutos a 89 °C (T2), fritura durante 3 minutos a 180 °C (T3) y sin tratamiento (T1).
- C. Análisis de antocianinas:** Los análisis de antocianinas totales presentes en la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) fueron en las tres muestras: sin tratamiento, por

inmersión y fritura, la que consistió en cuantificación de antocianinas totales de cada muestra con el método de HPLC.

Diagrama de flujo de evaluación de contenido de antocianinas.



D. Análisis de resultados: Para seleccionar el tratamiento que permita seleccionar el mayor contenido de antocianinas se utilizó el DCA luego se realizó el ANVA para determinar la variabilidad de los tratamientos a un nivel de confianza de 95% y 5% de error y una Prueba de LSD.

RESULTADOS

Análisis de contenido de antocianinas totales de la papa nativa (Azul Llumchuy Waqachi) sin cocción.

En el Cuadro N° 01, se muestra los resultados de análisis de contenido de antocianinas en la papa nativa (Azul Llumchuy Waqachi) sin cocción, la cual contiene: repetición 01 (0,3156g.) y la repetición 02 (0,3142g) de antocianinas/100 g de muestra.

Cuadro N° 01. Contenido de antocianinas de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) sin cocción.

Repeticiones.	Antocianinas (g/100g muestra).
01	0,3156
02	0,3142

Análisis de contenido de antocianinas totales de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) con la cocción por inmersión.

En el Cuadro N° 02, se muestra los resultados de análisis de contenido de antocianinas en la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) de cocción por emersión, la cual contiene: repetición 01 (0,1981g.) y la repetición 02 (0,1741g) de antocianinas/100 g de muestra.

Cuadro N° 02. Contenido de antocianinas de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) con la cocción por inmersión.

Repeticiones.	Antocianinas (g/100g muestra).
01	0,1981
02	0,1741

Análisis de concentración de antocianinas totales de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) con la cocción por fritura.

En el Cuadro N° 03, se muestra los resultados de análisis de contenido de antocianinas en la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) de cocción por fritura, la cual contiene: repetición 01 (0,2376g.) y la repetición 02 (0,2863g) de antocianinas/100 g de muestra.

Cuadro N° 03. Contenido de antocianinas de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) con la cocción por fritura.

Repeticiones.	Antocianinas (g/100g muestra).
01	0,2376
02	0,2863

Porcentaje de la pérdida de contenido de antocianinas por los tipos de cocción.

En el cuadro N° 04, se muestra el porcentaje de la pérdida o la degradación de las antocianinas presente en la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*); en base a la materia prima (si cocción), con los dos tipos de cocción según el análisis con el método de HPLC.

Cuadro N° 04. Porcentaje de la pérdida del contenido de antocianinas por efecto de los tipos de cocción.

Tipos de cocción	Repeti.	Antocianinas (g/100g muestra)	Promedio de antocianinas de cada tratamiento (g/100 g muestra)	Porcentaje (%)	Porcentaje de pérdida (%)
Materia prima	01	0,3156	0,3149	100	0
	02	0,3142			
Por fritura	01	0,2376	0,2620	83,2	16,8
	02	0,2863			
Por inmersión.	01	0,1981	0,1861	59,1	40,9
	02	0,1741			

El cuadro anterior indica, según los análisis de cuantificación de antocianinas totales mediante el método de HPLC, que el tipo de cocción por inmersión es el tratamiento que mayor efecto tiene sobre las antocianinas y el tipo de cocción por fritura es la que conserva mejor las antocianina y flavonoides presentes en la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*).

Análisis estadístico del contenido de antocianinas.

En el cuadro N° 05, se muestra el análisis de varianza del contenido de antocianinas para los tratamiento, donde indica que la investigación tiene significancia, porque el $F_c = 17.050406$ es mayor al $F_t = 9.5520945$.

Cuadro N° 05. Analisis de varianza del contenido de antocianinas para los tratamientos.

Fuente de variación	SC	GL	CM	Fc	Ft
Tratamientos	0,016764243	2	0,00838212	17,050406	9,5520945
Error	0,001474825	3	0,00049161		
Total	0,018239068	5			

Comparaciones de medias para el contenido de antocianinas.

En el cuadro N° 06, se muestra las comparaciones de medias para el contenido de antocianinas para los tratamientos, utilizando comparaciones todos contra todos, de las cuales resultan que, T1 con T2 no existe diferencia significativa; es decir el análisis estadístico de la

investigación confirma que el tipo de cocción por fritura conserva las antocianinas presentes, es casi igual a la concentración de antocianinas en la materia prima; caso contrario ocurre con los: T1 con T3 y T2 con T3, Si existe diferencia significativa.

Cuadro N° 06. Comparaciones de medias para el contenido de antocianinas para los tratamientos.

Tratamientos	Diferencia de medias	DMS	Significancia
T1 - T2	0,05295	0,05760553	No existe
T1 - T3	0,1288	0,05760553	Si existe
T2 - T3	0,07585	0,05760553	Si existe

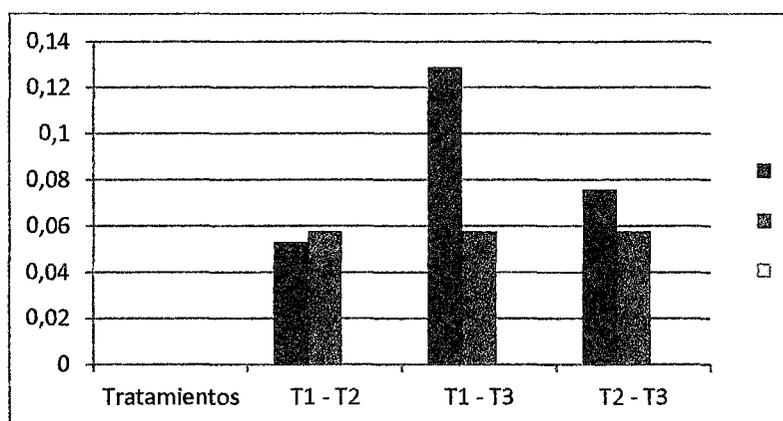


Figura N° 01. Comparaciones de medias para el contenido de antocianinas para los tratamientos

Tiempo y temperatura durante la cocción.

En el cuadro N° 07, se muestra el tiempo y la temperatura de cada tipo de cocción las cuales fueron controlados durante los procesos de cocción, para llevar a su análisis; de estos resultados con el contenido de antocianinas de cada tratamiento según el análisis estadístico y HPCL; se deduce las antocianinas se conserva mejor por en tratamiento térmico de alta temperaturas pero menor tiempo.

Cuadro N° 07. Tiempo y temperatura durante la cocción.

Tipo de cocción.	Tiempo (min.)	Temperatura (°C)	Contenido de antocianinas (g /100 g muestra)
Inmersión	30	89	0,1861
fritura	2-3	180	0,2620
Sin cocción.	0	Ambiente	0,3149

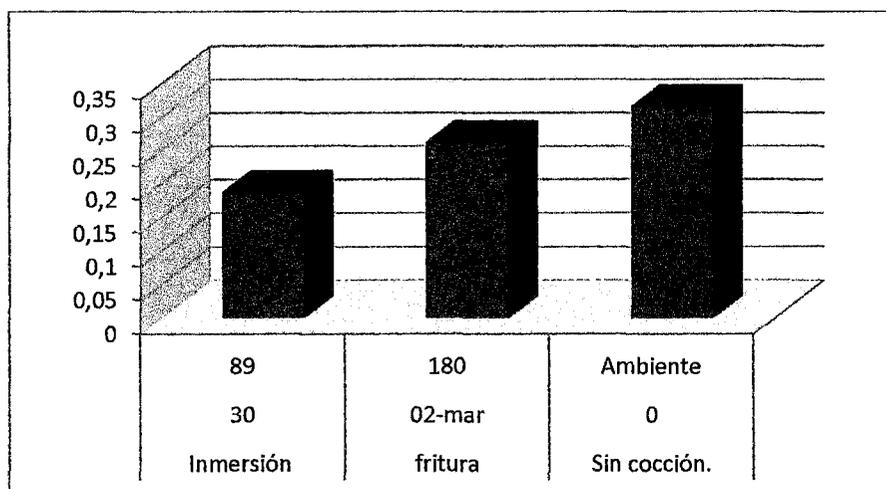


Figura N° 02. Tiempo y temperatura durante la cocción.

Análisis fisicoquímico de la papa nativa (azul Llumchuy Waqachi).

En el Cuadro N° 08, se muestra los resultados de análisis de características fisicoquímicos de la papa nativa (Azul Llumchuy Waqachi), materia prima sin ningún tratamiento.

Cuadro N° 08. Analisis quimico proximal.

Análisis	Resultado
Ceniza (%)	3,76
Proteína (%)	7,93
Grasa (%)	0,36
Fibra (%)	4,71
Almidón (%)	83,24

CONCLUSIONES

- Se evaluó según el análisis de la concentración de antocianinas, por el método de HPLC y análisis estadístico, el contenido de antocianinas de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) que fue de: 0,3149 g /100 g de muestra; 0,2620 g /100 g de muestra y 0,1861 g /100 g de muestra en la papa sin cocción, cocción por fritura y cocción por inmersión respectivamente, siendo el tipo de cocción por fritura, el tratamiento que mayor conserva a las antocianinas.
- Se determinó las antocianinas presentes en la papa nativa en estudio, siendo el tipo de cocción por inmersión que tiene la mayor degradación sobre las antocianinas, que es 40,9 % de pérdida del total de antocianinas.
- El análisis estadístico confirmó, que la mayor pérdida de antocianinas es por el tipo de cocción por inmersión donde también influye el tiempo y la temperatura de cocción, es decir las concentraciones de antocianinas es mayor, en tratamientos térmicos de alta temperatura pero corto tiempo.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

Está citada en la página 54.

ANEXOS



CERTIFICACIÓN DE CALIDAD

SERVICIOS DE LABORATORIO Y ASISTENCIA TÉCNICA; INSPECCIÓN Y ANÁLISIS

CIUDAD UNIVERSITARIA - AUTOPISTA RAMIRO PRIALÉ KM. 5 - TELF: 248152 Anexo 214 Telefax: 235981
Http://www.uncp.edu.pe

INFORME DE ENSAYO Nº 001 - LCC – UNCP - 2014

SOLICITANTE : ESCOBAR LAYME LUCIO
DIRECCIÓN : ACOBAMBA - HUANCVELICA.

EL LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD DE LA FACULTAD DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO DEL PERU; CERTIFICA HABER RECEPCIONADO Y ANALIZADO UNA MUESTRA PROPORCIONADA POR EL SOLICITANTE, CONSISTENTE EN:

PRODUCTO : PAPA NATIVA
ESPECIE : AZUL LLUMCHUY WAQACHI
ENVASE : BOLSA DE POLIETILENO x 200g.
TAMAÑO DE MUESTRA : 06 UNIDADES
FECHA DE RECEPCION DE MUESTRA : 02/01/14
FECHA DE TÉRMINO DE ENSAYO : 08/01/14
SOLICITUD DE SERVICIO : Nº 001-2014
DATOS INDICADOS POR EL SOLICITANTE
NOMBRE DE LA TESIS : EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL TIPO DE COCCIÓN EN EL CONTENIDO DE ANTOCIANINAS EN PAPA NATIVA.

RESULTADOS:

3. ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL:

ANÁLISIS	RESULTADO
Ceniza (%)	3.76
Proteína (%)	7.93
Grasa (%)	0.36
Fibra (%)	4.71
Almidón (%)	4.71

METODO DE ENSAYO:
1. CENIZA : REF. NTP Nº 205.004.1979
2. PROTEINA : AOAC, 1990
3. GRASA : REF. NTP Nº 205.006.1880
4. FIBRA : REF. NTP Nº 205.003.1880
5. ALMIDÓN : REF. NTP Nº 205.006.1880

4. ANÁLISIS DE ANTOCIANINAS TOTALES:

MUESTRA	REPETICIÓN	ANÁLISIS	RESULTADO
Materia prima	1	Antocianinas (g/100g de muestra)	0.3156
	2	Antocianinas (g/100g de muestra)	0.3142
Por fritura	1	Antocianinas (g/100g de muestra)	0.2376
	2	Antocianinas (g/100g de muestra)	0.2863
Por Inmersión	1	Antocianinas (g/100g de muestra)	0.1981
	2	Antocianinas (g/100g de muestra)	0.1741

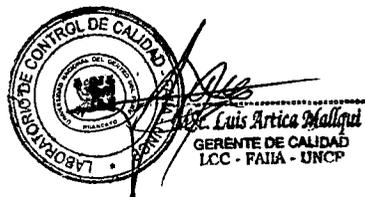
METODO DE ENSAYO:
2. ANTOCIANINAS TOTALES : HPLC FULEKI, T. FRANCIS, F.J. 1968.

LOS RESULTADOS SE RESTRINGEN A LA MUESTRA EVALUADA DESCONOCIÉNDOSE LAS CONDICIONES DE LA TOMA DE MUESTRA, CONSERVACIÓN, ASI COMO SU REPRESENTATIVIDAD PARA EL LOTE DETERMINADO
LOS ANÁLISIS REALIZADOS FUERON SOLICITADOS EN FORMA ESPECIFICA POR EL INTERESADO.

ADVERTENCIA:

EL PRESENTE INFORME DE ENSAYO TIENE VIGENCIA 90 DIAS A PARTIR DE LA FECHA DE EMISIÓN, APLICABLE SOLO A LA MUESTRA. LA CORRECCIÓN O ENMIENDA DEL DOCUMENTO ANULA AUTOMÁTICAMENTE SU VALIDEZ Y CONSTITUYE UN DELITO CONTRA LA FE PUBLICA Y EL INFRACTOR ES SUJETO DE SANCIONES CIVILES Y PENALES POR DISPOSITIVOS LEGALES VIGENTES. PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL DEL PRESENTE INFORME DE ENSAYO. LA MUESTRA PARA DIRIMENCIA DE ESTOS PRODUCTOS SE ALMACENARAN POR 90 DIAS.

HUANCAYO, CIUDAD UNIVERSITARIA, 08 DE ENERO DEL 2014.



Anexo N° 02

Imágenes de los procedimientos de la ejecución del proyecto



Imagen N° 01. Papa Azul Llumchuy Waqachi materia prima.

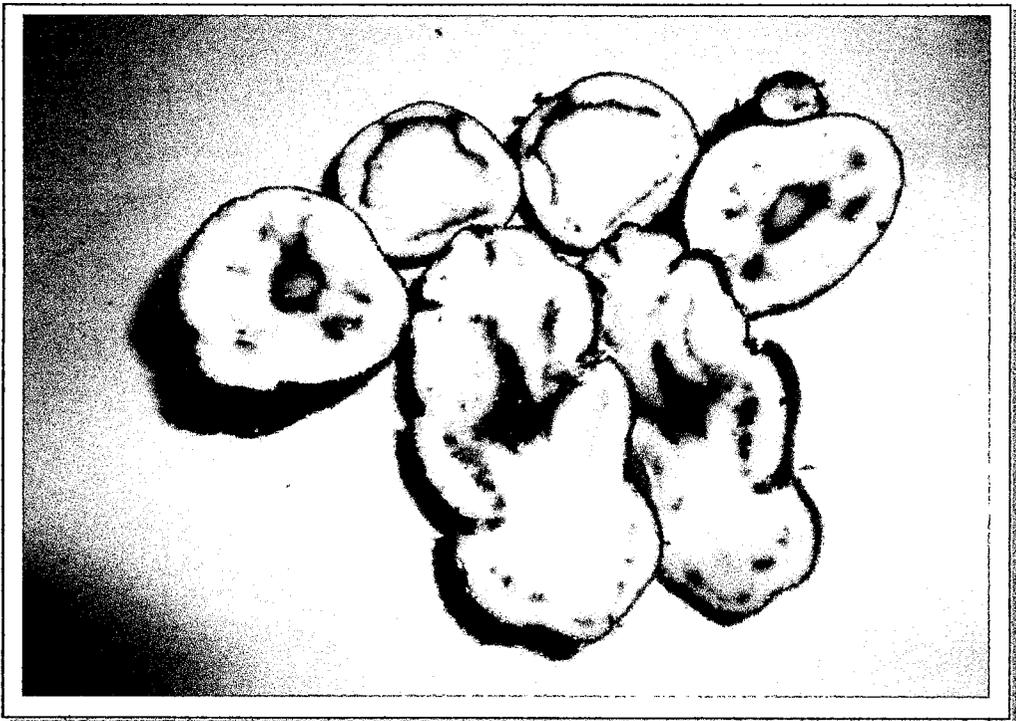


Imagen N° 02. Papa Azul Llumchuy Waqachi partido de la mitad.

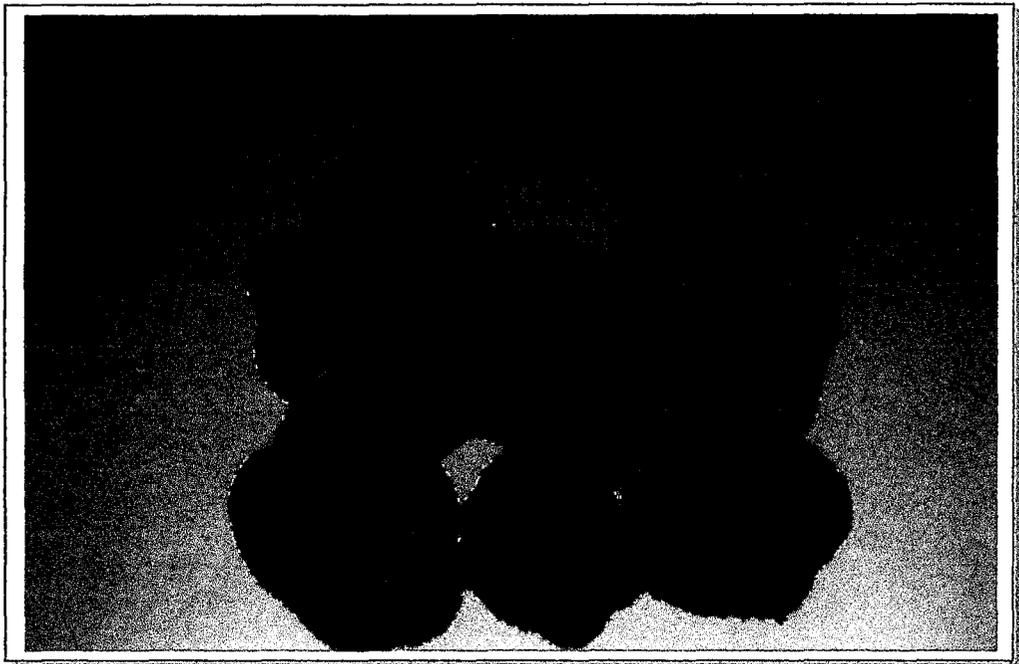


Imagen Nº 03. Papa Azul Llumchuy Waqachi cocido por inmersión.

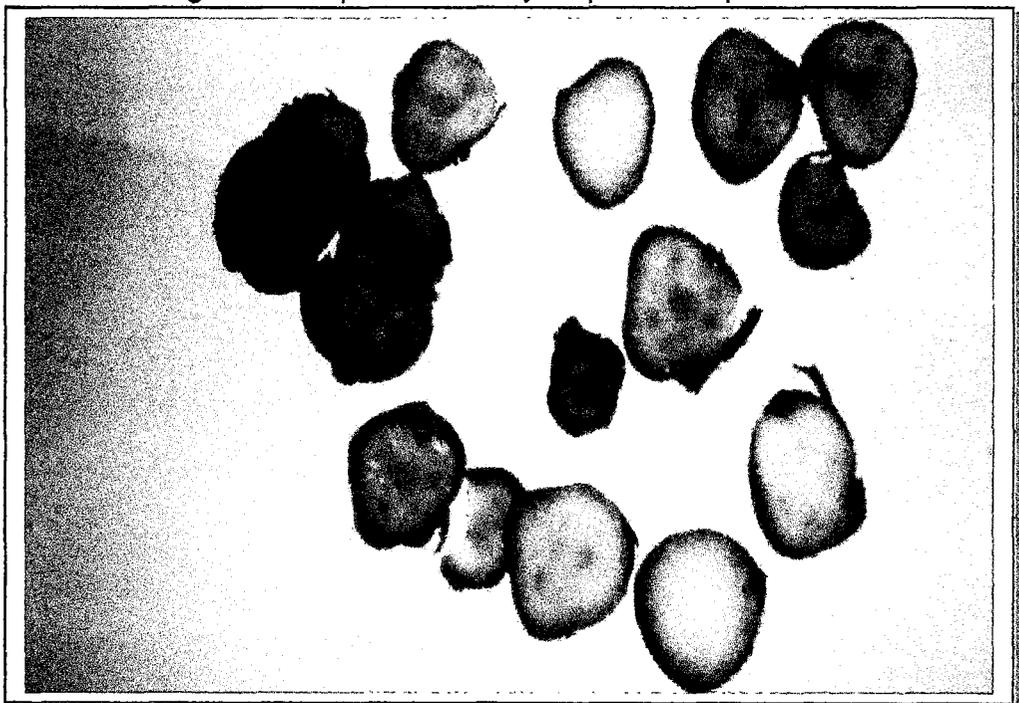


Imagen Nº 04. Papa Azul Llumchuy Waqachi cocido por emersión y partido en mitad.

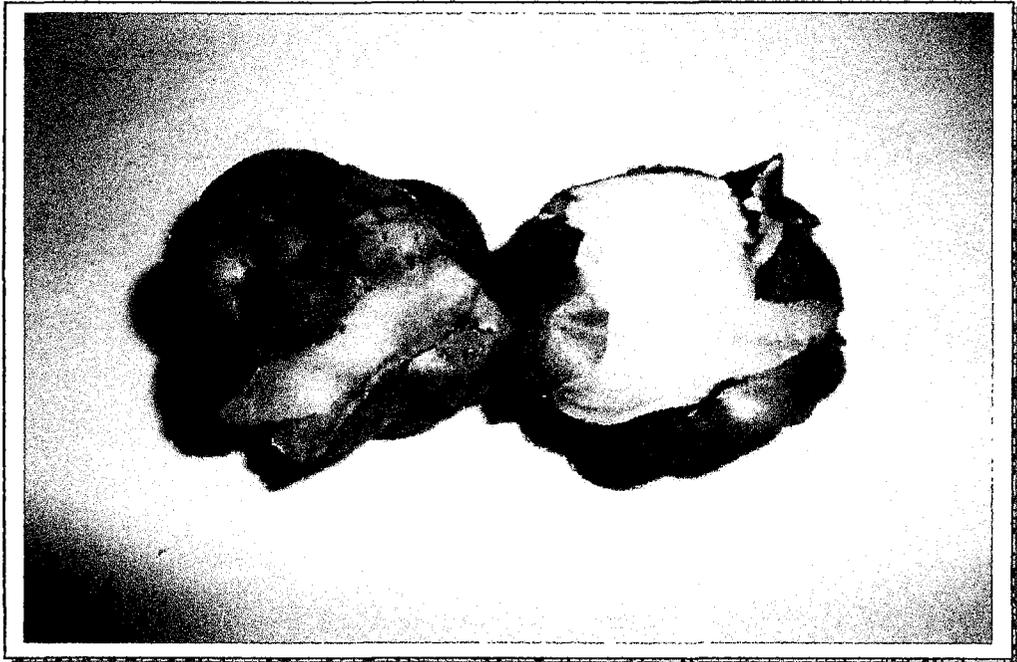


Imagen N° 05. Papa Azul Llumchuy Waqachi descompuesto por la cocción por inmersión.

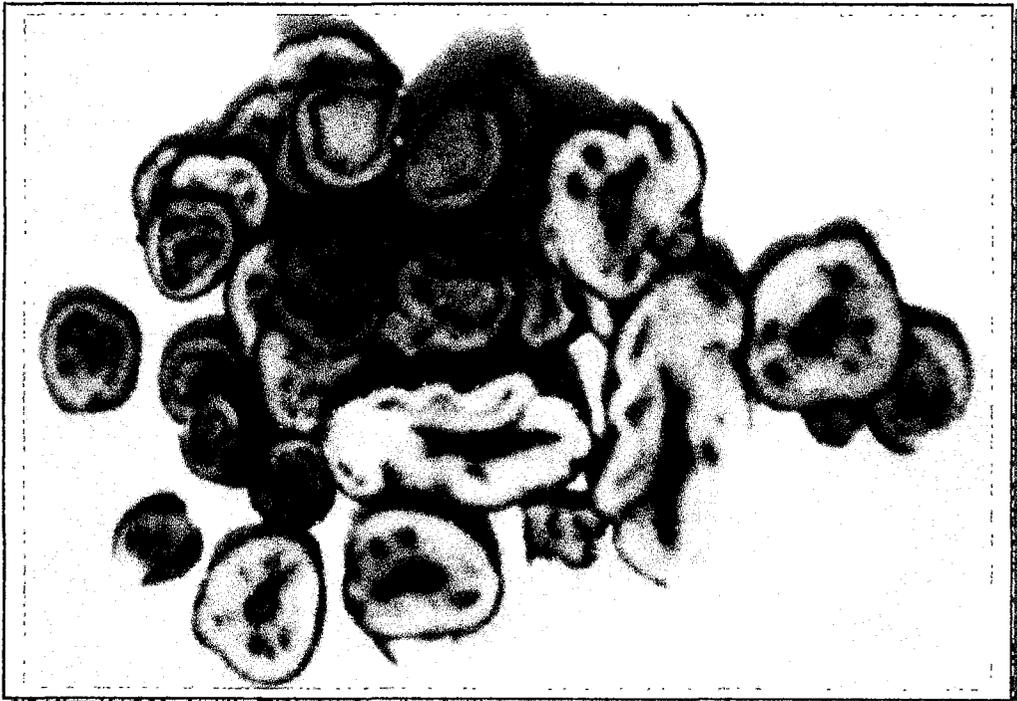


Imagen N° 06. Hojuelas de papa Azul Llumchuy Waqachi antes de la cocción por fritura.

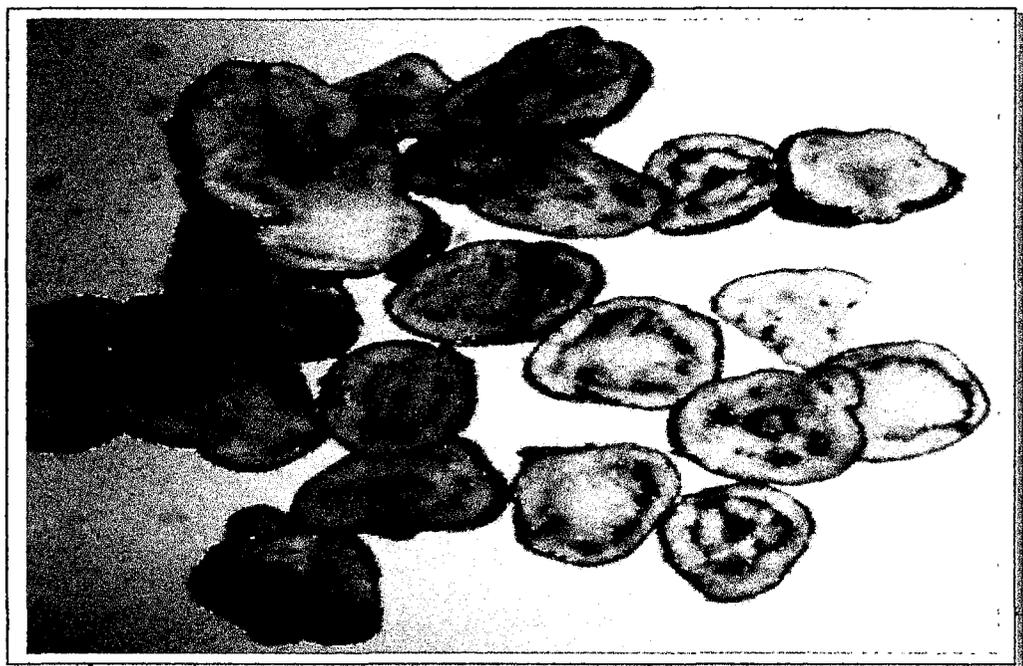


Imagen Nº 07. Hojuelas de papa Azul Llumchuy Waqachi cocida por la cocción por fritura.

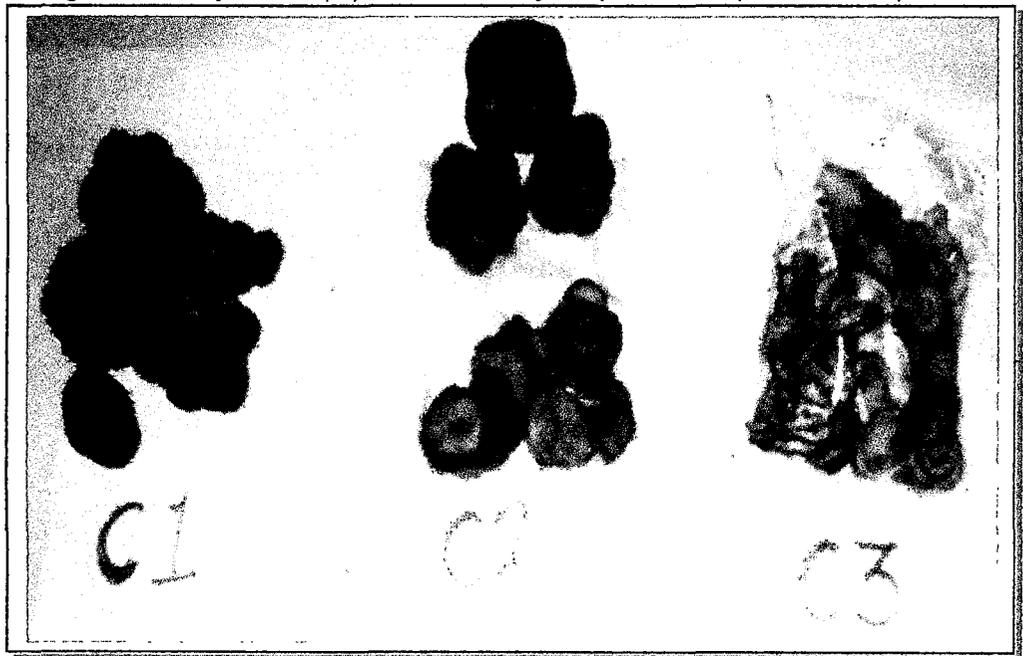


Imagen Nº 08. Las tres muestras para su análisis de la papa Azul Llumchuy Waqachi; sin cocción, cocción por inmersión y cocción por fritura.

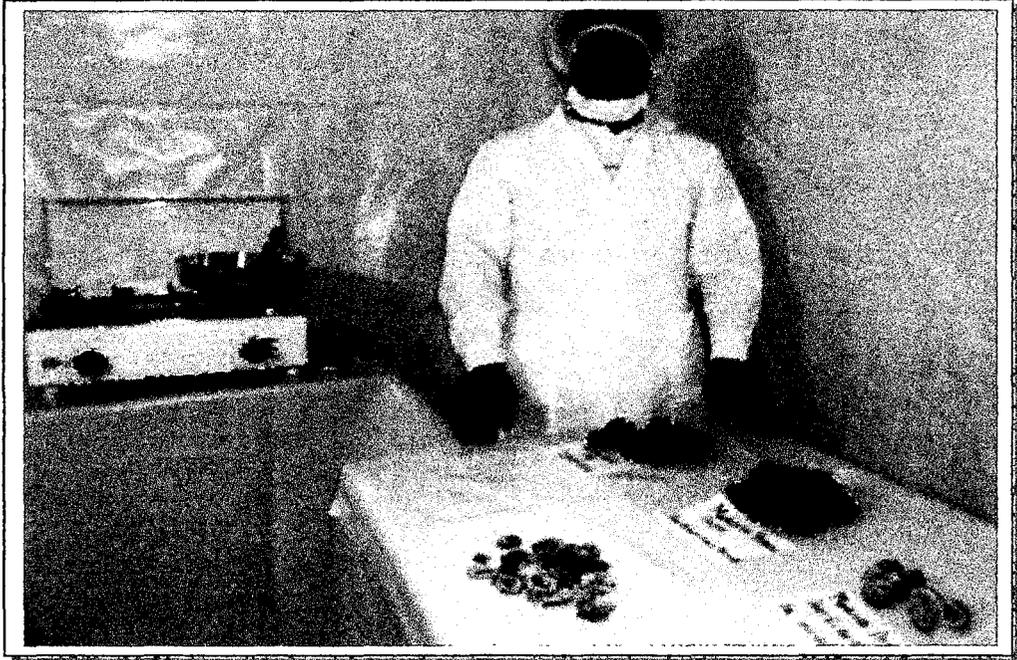


Imagen Nº 09. Proceso de tipos de cocción de papa Azul Llumchuy Waqachi.



Imagen Nº 10. Proceso de cocción por fritura de papa Azul Llumchuy Waqachi.

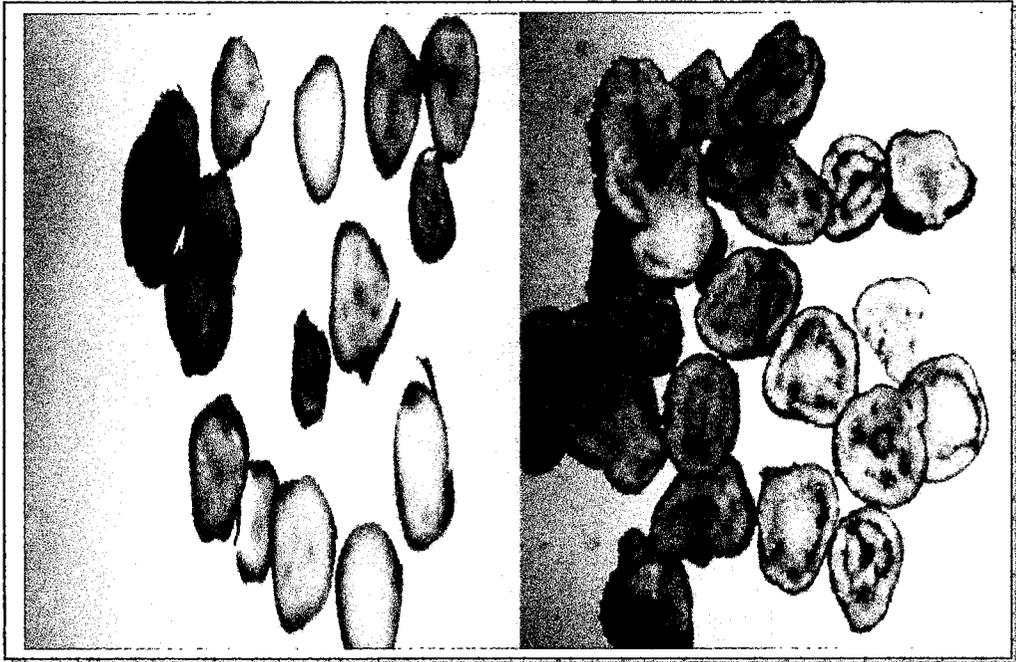


Imagen Nº 11. Comparación de la fritura con la inmersión.

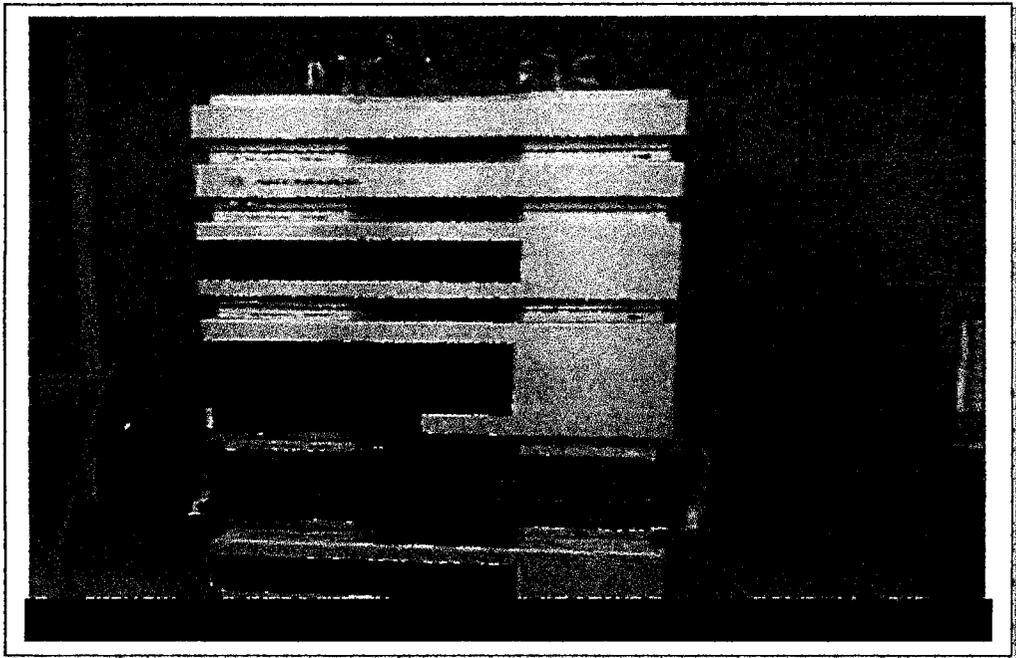


Imagen Nº 12. Foto del equipo de HPLC.

Anexo N° 03

Procedimientos de análisis de contenido de antocianinas, con el análisis estadístico en los tipos de cocción de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*).

Se utilizó el DCA.

Observaciones	Tratamiento	Repeticiones	N
1	1	1	0,3156
2	1	2	0,3142
3	2	1	0,2376
4	2	2	0,2863
5	3	1	0,1981
6	3	2	0,1741

RESUMEN.

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	2	0,6298	0,3149	9,8000E-07
Fila 2	2	0,5239	0,2620	0,001185845
Fila 3	2	0,3722	0,1861	0,000288

ANÁLISIS DE VARIANZA.

Fuente de variación	SC	GL	CM	Fc	Ft
Tratamientos	0,016764243	2	0,00838212	17,05040598	9,5520945
Error	0,001474825	3	0,00049161		
Total	0,018239068	5			

PRUEBA DE COMPARACIONES ENTRE TRATAMIENTOS

	Tratamientos	R1	R2	Promedio
AMBIENTE	T1	0,3156	0,3142	0,3149
FRITURA	T2	0,2376	0,2863	0,26195
COCCIÓN	T3	0,1981	0,1741	0,1861

alfa	0,05		
n	3		
CMe	0,00049161		
N-a	3		
t _{a/2}	3,182		
		DMS	0,05760553
		tabla	0,25

FÓRMULA QUE SE UTILIZÓ PARA EL CÁLCULO DE DMS.

diferencia significativa mínima. Si el diseño es balanceado, $n_1 = n_2 = \dots = n_k = n$, y

$$LSD = t_{\alpha/2, N-a} \sqrt{\frac{2MS_E}{n}} \quad (3.41)$$

Tratamientos	Diferencia de medias	DMS	Significancia
T1 - T2	0,05295	0,05760553	NO
T1 - T3	0,1288	0,05760553	SI
T2 - T3	0,07585	0,05760553	SI

Anexo N° 04

Procedimientos de análisis de contenido de antocianinas en los tipos de cocción de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*).

1. Extracción del pigmento con acetona y cloroformo para la cuantificación de antocianinas por HPLC.

Cada muestra de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*) (200 g) fueron siendo licuados con una solución agua /acetona (30:70 v/v) y luego se filtró usando un embudo buchner. La torta residual del filtrado fue nuevamente re-extraída con la solución agua / acetona (30:70 v/v) hasta obtener una solución clara. Los filtrados fueron combinados, llevados a una pera de decantación, agregándose cloroformo. La porción acuosa (parte superior) fue colectada y colocada en un rota vapor Buchi a 40 °C durante 5 a 10 minutos, hasta que la acetona residual se evapora. El extracto acuoso fue llevado hasta un volumen conocido (100 ml) usando agua destilada.

2. Cuantificación de antocianinas por HPLC (Espectro de masas tandem).

La técnica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) son las más empleadas para la separación y cuantificación de compuestos fenólicos y antocianina. Existen distintos soportes y fases móviles que permiten el análisis de los distintos compuestos fenólicos.

Las técnicas de HPLC han sido utilizadas para la caracterización y cuantificación de los polifenoles y antocianinas en una gran variedad de extractos vegetales, frutas, zumos, aceite de oliva, vinos y otras bebidas. La espectrometría de masas se basa en la medida directa de la relación de la masa con el número de cargas elementales positiva o negativa de los iones (mz) en la fase gaseosa obtenida de la sustancia a analizar. Esta relación se expresa en unidades de masa atómica (u), (1u= la doceava parte de la masa de un átomo de carbono 12) o en daltons (1 Da= a la masa del átomo de hidrogeno). En este estudio se han utilizado, el análisis del ion precursor, análisis del producto iónico, análisis de pérdida neutral común y la monitorización selectiva de reacción, que son parte de la espectrometría.

de masas tandem (MS-MS), la cual tiene la ventaja de lograr dos separaciones de los componentes de la muestra, siendo ambas separaciones iónicas; debido a esta especificidad, esta técnica es usada para lograr análisis cuantitativos de analitos en mezclas simples en cuestión de minutos sin necesidad de una separación cromatografía u otro tratamiento químico que elimine interferentes.

HPLC. Se utilizó un equipo SHIMADZU SPD-10AV con detector UV-VIS, y una columna C-18 fase reversa de 250 mm de longitud, diámetro de 4.6 mm y tamaño de partícula de 5 μm (Phenomenex Gemini). El método, 19 consistió en inyectar 20 μL de muestra a temperatura ambiente, se midió la absorbancia a 520 nm. Para este análisis se utilizaron dos fases móviles, el disolvente A fue acetonitrilo, el disolvente B fue ácido fosfórico 4% en agua, el gradiente de elución utilizado fue: 0 min 94% B, 55 min 75% B, 65 min 75% B, 70 min 94% B. La velocidad de flujo utilizada fue 1 mL/min, como estándar se utilizó kuromanin chloride (cloruro de cianidina-3-glucósido).

Anexo N° 05

Procedimientos de análisis químico proximal de la papa nativa (*Azul Llumchuy Waqachi*).

- 1. Determinación de cenizas:** El análisis de un alimento para encontrar el contenido de cenizas o material inorgánico, se lleva a cabo para valorar la calidad y adulteración de una muestra de alimento, por lo que es necesario adquirir la habilidad de utilizar la técnica adecuada para dicho análisis.

Procedimiento:

- A. Pesa un crisol vacío y seco.
- B. Agrega al crisol de 1,5 a 2,0 g de muestra a estudiar, y anota el peso del crisol más el peso de la muestra.
- C. Coloca el crisol con la muestra por dos horas en una mufla calentada previamente a 600 $^{\circ}\text{C}$.
- D. Apaga la mufla y posteriormente pasa el crisol a un desecador hasta que alcance la temperatura ambiente.
- E. Pesa el crisol con la muestra fría.

- F. Calcula el porcentaje de cenizas aplicando la fórmula.
2. **Determinación de grasas o extracto etéreo:** La determinación de grasa, o extracto etéreo por el método de Soxhlet, nos permite estimar el tiempo de almacenamiento de un producto alimenticio con base en el contenido de grasa, ya que un alimento que contenga una alta cantidad, sufre el proceso de oxidación o acidez.

Procedimiento:

- A. Anota el peso del vaso vacío.
- B. Agrega 2 g de muestra en el papel filtro y anota el peso.
- C. Coloca el papel con muestra dentro del tubo de extracción.
- D. Añade 150 ml de éter de petróleo al matraz de extracción.
- E. Lleva a cabo el calentamiento de extracción por dos horas.
- F. Después del tiempo estipulado, coloca el papel con la muestra seca en un desecador para obtener peso constante.
- G. Pesa el papel con la muestra desgrasada y anota los resultados obtenidos.
3. **Determinación de proteínas:** El método para la determinación de proteínas nos llevará a conocer el contenido de proteínas en una muestra de alimento, con el fin de poder estimar el valor nutricional y la calidad de los alimentos.

Procedimiento:

- A. Pesa de 0,9 a 2,5 g de muestra de alimento y envuélvela en un papel filtro.
- B. Transfiere el papel con la muestra a un matraz de digestión Kjeldahl.
- C. Adiciona al matraz 20 g de una mezcla de catalizadores (Sulfato de potasio y sulfato de plata) y 25 ml de ácido sulfúrico concentrado.
- D. Caliente el matraz en posición inclinada hasta que cese la formación de espuma.
- E. Lleva el calentamiento hasta hervir (338 °C) por un tiempo de 40 min.
- F. Deja enfriar el contenido.
- G. Agrega 200 ml de agua destilada, 25 ml de solución de tiosulfato de sodio y mézclalos completamente.
- H. Coloca el matraz en el destilador y agrega 120 ml de solución de NaOH al 50 % p/v

- I. Recoge el destilado en un matraz que contenga ácido bórico al 4% y 4 gotas del indicador rojo de metilo, hasta una cantidad aproximada de 250 ml.
- J. Titula el destilado con NaOH 0,1N valorado y anota los resultados.
- K. Con base en los resultados obtenidos determina la cantidad de proteína presente en la muestra analizada.