

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Escuela de Posgrado

DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL PROCESAMIENTO POR CALOR
SOBRE EL CONTENIDO DE GLUCOSINOLATOS DE MASHUA

(*Tropaeolum tuberosum*) DESHIDRATADA

POR LIOFILIZACIÓN

TESIS

PRESENTADA POR:

MGR. LUIS ALBERTO MEDINA MARROQUÍN

Para optar el Grado Académico de:

DOCTOR EN CIENCIAS AMBIENTALES

TACNA - PERÚ

2020


UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN


Escuela de Posgrado

DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL PROCESAMIENTO
POR CALOR SOBRE EL CONTENIDO DE
GLUCOSINOLATOS DE MASHUA
(*Tropaeolum tuberosum*)
DESHIDRATADA POR
LIOFILIZACIÓN**

Tesis sustentada y aprobada el 20 de noviembre de 2020; estando el jurado calificador integrado por:

PRESIDENTE :

Dr. Enrique Alfonso De Florio Ramirez

SECRETARIO :

Dr. Oscar Octavio Fernández Cutire

MIEMBRO :

Dr. César Augusto Gevallos Columbus

ASESOR :

Dr. César Augusto Gevallos Columbus

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a toda mi familia. En primer lugar, a la memoria de mis padres Néstor y Julia, que me enseñaron a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento. Que me dieron todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi perseverancia y mi empeño, y todo ello con una gran dosis de amor y afecto.

En segundo lugar, para mi esposa Cecilia, a ella especialmente le dedico esta tesis. Por su paciencia, por su comprensión, por su empeño, por su fuerza, por su amor, por ser tal y como es, por su ayuda en momentos malos, que me sirvieron para encarar las adversidades, y por todo lo que representa para mí y porque la quiero y la amo, por lo que, nunca le podré estar suficientemente agradecido.

Por último, a mis hijos y mi nieta, que más que los motores de mi vida fueron y serán parte muy importante en el desarrollo de lo que hoy puedo presentar como tesis, gracias a ellos por cada palabra de apoyo, gracias por cada momento en familia sacrificado para ser invertido en el desarrollo de esta, gracias por entender que el éxito demanda algunos sacrificios y que el compartir tiempo con ellos, es parte de estos sacrificios.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, de quien emana todo mi afecto y dedicación, conspirando a favor mío con inspiración, iniciativa, paciencia, inteligencia y salud, de quienes estoy eternamente agradecido.

A mi asesor, Dr. *Cesar Augusto Cevallos Columbus*, excelente maestro y amigo, por su acertado apoyo durante el diseño, desarrollo y ejecución de este trabajo de investigación y principalmente, por su sincera amistad.

CONTENIDO

DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xiii
RESUMO	xv
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA	3
1.1.1. Antecedentes del problema.....	3
1.1.2. Problemática de la investigación.....	4
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	7
1.2.1. Problema general	7
1.2.2. Problemas específicos	7
1.3. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.....	7
1.4. ALCANCES Y LIMITACIONES	8
1.5. OBJETIVOS	8
1.5.1. Objetivo general	8
1.5.2. Objetivos específicos.....	8
1.6. HIPÓTESIS	9
1.6.1. Hipótesis general	9
1.6.2. Hipótesis específicas	9
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	10
2.1. ANTECEDENTES DEL ESTUDIO	10
2.2. BASES TEÓRICAS	12
2.2.1. Mashua.....	12
2.2.1.1. Definición	12
2.2.1.2. Descripción botánica.....	15

2.2.1.3. Consumo y usos tradicionales	15
2.2.1.4. Clasificación taxonómica.....	19
2.2.1.5. Composición química y nutricional de la mashua	20
2.2.1.6. Producción nacional.....	23
2.2.1.8. Glucosinolatos.....	24
2.2.1.9. Vía metabólica de los glucosinolatos	26
2.2.1.10. Biosíntesis.....	28
2.2.11. Hidrólisis.....	29
2.2.1.2. Degradación.....	29
2.2.1.13. Sistema mirosinasa-glucosinolato.....	32
2.2.1.14. Importancia de los productos de degradación de los glucosinolatos	35
2.2.1.4. Tratamientos aplicados en el procesamiento de la mashua y su influencia sobre sus compuestos bioactivos.....	37
2.2.15. Efecto anticancerígeno de los isotiocianatos	40
2.2.16. La liofilización.....	42
2.2.17. Cromatografía	44
2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS.....	46
CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO	49
3.1. TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	49
3.1.1. Tipo de investigación.....	49
3.1.2. Diseño de investigación	49
3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA	52
3.2.1. Población	52
3.2.2. Muestra	52
3.3. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	52
3.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA RECOLECCIÓN DE DATOS	53
3.4.1. Técnicas.....	53
3.4.2. Instrumentos	53
3.4.3. Métodos	56
3.5. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS.....	64
CAPÍTULO IV: MARCO FILOSÓFICO.....	65
CAPÍTULO V: RESULTADOS.....	66

5.1. IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE GLUCOSINOLATOS	66
5.2.2. Identificación y cuantificación de glucosinolatos en Mashua fresca morada, sin procesamiento	66
CAPÍTULO VI: DISCUSIÓN	96
CONCLUSIONES	122
RECOMENDACIONES	123
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	125
ANEXOS	152

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de 100 g de mashua (porción comestible)	21
Tabla 2. Departamentos de mayor producción de mashua (miles de toneladas), según datos actualizados a marzo de 2018	24
Tabla 3. Clases de glucosinolatos identificados en mashua morada fresca ...	66
Tabla 4. Contenido de glucosinolatos individuales en mashua cruda (fresca), variedad morada	68
Tabla 5. Análisis de varianza del contenido de glucosinolatos totales ($\mu\text{mol/g BS}$) para mashua (<i>Tropaeolum tuberosum</i>).	69
Tabla 6. Pruebas de múltiple rangos para glucosinolatos totales por almacenamiento. Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD	69
Tabla 7. Contenido de glucosinolatos ($\mu\text{mol/g bs}$) en mashua almacenadas en refrigeración, sombra y expuestas al sol durante 15 días	71
Tabla 8. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de glucosinolatos totales en harina de mashua, variedad morada	73
Tabla 9. Contenido de glucosinolatos totales ($\mu\text{mol/g BS}$) para mashua procesada (<i>Tropaeolum tuberosum</i>)	75
Tabla 10. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de glucoalyssin en harina de mashua, liofilizada	77
Tabla 11. Contenido de glucoalyssin ($\mu\text{mol/gBS}$) para <i>Tropaeolum tuberosum</i> , variedad morada	79
Tabla 12. Prueba de multiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de 4- hydroxyglucobrassicin en harina de mashua, variedad morada	81
Tabla 13. Contenido de 4-Hydroxyglucobrassicin ($\mu\text{mol/g BS}$) para mashua (<i>Tropaeolum tuberosum</i>) variedad morada	83
Tabla 14. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de glucosinalbin en harina de mashua, variedad morada	85

Tabla 15. Contenido de <i>glucosinalbin</i> ($\mu\text{mol/g BS}$) para <i>mashua</i> (<i>Tropaeolum tuberosum</i>) variedad morada	87
Tabla 16. Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de glucosinalbin en harina de mashua, variedad morada	90
Tabla 17. Contenido de glucoaubrietin ($\mu\text{mol/gBS}$) para <i>Tropaeolum</i> <i>tuberosum</i> , variedad morada	92
Tabla 18. ANOVA multifactorial para la actividad mirosinasa en mashua, variedad morada	94
Tabla 19. Influencia del procesamiento en la actividad mirosinasa ($\mu\text{mol/g BS Min}$) para <i>Tropaeolum tuberosum</i> , variedad morada....	95

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Planta de mashua	14
Figura 2. Producción nacional de mashua	23
Figura 3. Estructura general del glucosinolato	25
Figura 4. Biosíntesis de la estructura central del glucosinolato.....	27
Figura 5. Hidrólisis de glucosinolatos catalizada por la enzima mirosinasa	30
Figura 6. Representación de la localización de los componentes del sistema glucosinolato-mirosinasa superpuesto en una porción de una sección transversal del tallo de flor de <i>Arabidopsis thaliana</i> .	33
Figura 7. Hidrólisis de glucosinolato-mirosinasa y algunos de los compuestos formados bajo diferentes condiciones de pH y la influencia de las proteínas epitoespecificadoras (ESP).....	35
Figura 8. Mecanismo de acción del 3-butenil isotiocianato	42
Figura 9. Diseño experimental	51
Figura 10. Perfil del Cromatograma HPLC de glucosinolatos en mashua fresca morada	67

RESUMEN

La mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón) es un tubérculo andino rico en compuestos fenólicos y glucosinolatos, conocido por su consumo que permite contribuir a la prevención y / o disminución de las posibilidades de contraer enfermedades. La presente investigación, evaluó el efecto de diferentes tipos de manejo pos-cosecha (soleado, blanqueado y liofilizado) sobre el contenido de glucosinolatos y su relación con la actividad de mirosinasa. También es importante tener en cuenta que, cuando las células de las plantas son sometidas a daños y los glucosinolatos entran en contacto con la mirosinasa de la planta, la misma que los hidroliza y los degrada a otros compuestos. En la presente investigación, se evaluaron los tipos de glucosinolatos, el contenido de glucosinolatos y la actividad de la mirosinasa de la variedad morada de mashua fresca sin procesar y en mashua tratada por varios tipos de procesamiento, incluido el tratamiento previo (soleados y sin solear), el tratamiento de ebullición y el de microondas, con tiempos de blanqueamiento de 3, 4, 5 y 6 minutos, siendo la condición del tubérculo en el momento del blanqueo en forma entera y por corte, para luego ser posteriormente sometido a tratamientos de liofilización. Se identificaron cinco glucosinolatos (GSL): 5-metilsulfinilpentilo, 4-hidroxibencilo, 4-hidroxi-3-indolilmetilo, bencilo y 4-metoxibencilo, de los cuales el 4-metoxibencil glucosinolato es el más abundante, que simboliza 98 y 95 % del GSL totales en el ecotipo morado. De acuerdo con la concentración total de glucosinolatos encontrados en la variedad estudiada (morada), se tiene que son de 74.22 y 110.60 micro moles por gramo de base seca ($\mu\text{mol} / \text{g BS}$), por lo que el mashua se puede considerada, como la planta comestible de mayor contenido de GSL existente.

La cantidad total de GSL luego de la aplicación de los tratamientos, varió de 10,32 a 113,04 $\mu\text{mol} / \text{gBS}$. La mayoría de los tratamientos con bajo contenido de GSL se distribuyeron en tubérculos sin soleado, cortados, blanqueados por microondas durante 4,5 y 6 minutos y posteriormente sometidos a liofilización,

mientras que el contenido total mayor de GSL fue observado en tubérculos sin soleado, cortados, crudos o hervidos por un espacio de tiempo en minutos de 4,5 y 6. En cuanto a la actividad de la mirosinasa, disminuyó con el tratamiento previo y el tiempo de tratamiento y blanqueamiento, recomendándose utilizar una combinación de técnicas de procesamiento artesanal e industrial, para preservar mejor el contenido de GSL en mashua, debido a su uso potencial como fuente funcional de alimentos o materia prima para medicamentos en medicina, o para obtener tratamientos que retengan el contenido de glucosinolatos, eliminando así el amargor y la astringencia producidos por algunos de estos compuestos, para producir líneas con palatabilidad mejorada que ayudan a aumentar la aceptación de este cultivo altamente proteico.

Palabras clave: Mashua, glucosinolatos, actividad mirosinasa

ABSTRACT

Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) Andean tuber is rich in phenolic compounds and glucosinolates, known for their consumption allowing contribute to the prevention and / or decrease the chances of contracting diseases. This study evaluated the effect of different types of postharvest handling (I sunny, bleached and lyophilised) on glucosinolate content and its relationship to the activity of myrosinase. It is also important to note that when plant cells are subject to damage and glucosinolates contact plant myrosinase, the same that hydrolyzes and down to other compounds. In this research, the types of glucosinolates were evaluated, glucosinolate content and myrosinase activity variety dwelling fresh mashua raw and treated mashua by various types of processing, including pretreatment (sunny without solear), the boiling treatment and microwave, with bleaching times 3, 4, 5 and 6 minutes, with the condition of the tuber at the time of bleaching in whole form and cut and then subsequently undergo lyophilization treatments. five glucosinolate (GSL) were identified: 5-metilsulfinilpentilo, 4-hydroxybenzyl, 4-hydroxy-3-indolylmethyl, benzyl and 4-methoxybenzyl, of which the 4-methoxybenzyl glucosinolate is the most abundant, symbolizing 98 and 95 % of the total GSL in purple ecotype. The total amount of GSL observed following application of treatments ranged from 10,32 to 113,04 micromol / Gbs. Most treatments low GSL distributed without sunny tubers, cut, blanched microwave for 4,5 to 6 minutes and then subjected to lyophilization, while content greater total GSL was observed in tubers without sunny, cut, raw or boiled for a period of time in minutes of 4.5 and 6. as the myrosinase activity, decreased with pretreatment and treatment time and whitening, is recommended to use a combination of techniques craft and industrial processing to better preserve the GSL content in mashua because of its potential use as a functional source of food or raw material for drugs in medicine, or for treatments that retain the content of glucosinolates. Thus eliminating the bitterness and astringency produced by some of these

compounds, to produce lines with improved palatability that help increase the acceptance of this high protein crop.

Keywords: Mashua, glucosinolates, myrosinase activity

RESUMO

Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) andina tubérculo é rico em compostos fenólicos e glucosinolatos, conhecidos para o seu consumo, permitindo contribuir para a prevenção e / ou diminuir a probabilidade de doenças contratantes. Este estudo avaliou o efeito de diferentes tipos de pós-colheita de manipulação (l sol, branqueadas e liofilizada) sobre o teor de glucosinolato e a sua relação com a actividade de mirosinase. É também importante notar que, quando as células vegetais são sujeitos a danos mirosinase e os glucosinolatos contacto planta, o mesmo que hidrolisa e para baixo para outros compostos. Nesta pesquisa, foram avaliados os tipos de glucosinolatos, teor de glucosinolato e a actividade de mirosinase variedade habitação cru mashua fresco e mashua tratado por vários tipos de processamento, incluindo o pré-tratamento (sem ensolarado solear), o tratamento de ebulição e de microondas, com branqueamento vezes 3, 4, 5 e 6 minutos, com a condição do tubérculo no momento de branqueamento em forma toda e corte e, em seguida, subseqüentemente, submetidos a tratamentos de liofilização. Foram identificados cinco glucosinolato (GSL): 5-metilsulfínipentilo, 4-hidroxibenzilo, 4-hidroxi-3-indolilmetilo, benzi lo e 4-metoxibenzilo, da qual o glucosinolato de 4-metoxibenzilo é o mais abundante, que simboliza a 98 e 95 % do GSL total na ecótipo roxo. A quantidade total de GSL observados após aplicação de tratamentos de longo alcance 10,32-113,04 micromol / Gb. A maioria dos tratamentos baixo GSL distribuído sem tubérculos ensolarado, corte, microondas branqueados durante 4,5 a 6 minutos e em seguida submetida a liofilização, enquanto que um maior conteúdo total de GSL foi observada em tubérculos sem sol, corte, cru ou cozido, por um período de tempo em minutos de 4,5 e 6. quanto a actividade de mirosinase, diminuiu com o pré-tratamento e tratamento de tempo e branqueamento, é recomendado o uso de uma combinação de técnicas de artesanato e processamento industrial para melhor preservar o conteúdo GSL em mashua

causa de seu uso potencial como fonte funcional de alimento ou matéria-prima para medicamentos em medicina, ou para os tratamentos que mantêm o conteúdo de glicosinolatos. Assim, eliminando o amargor e adstringência produzido por alguns destes compostos, para linhas de produção com uma melhor palatabilidade que ajuda a aumentar a aceitação desta cultura rica em proteínas.

Palavras chave: Mashua, glucosinolatos, a actividade de mirosinase

INTRODUCCIÓN

Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón) es un tubérculo andino cultivado durante siglos en Perú, por su aporte importante de proteínas (Manrique *et al*, 2014), carbohidratos, vitamina C, compuestos fenólicos y antocianinas, consumidos desde tiempos ancestrales hasta hoy y debido a sus propiedades nutraceuticas, relacionadas con problemas de hígado, riñón, próstata; propiedades relacionadas con problemas salud asociadas a la presencia de los glucosinolatos y a los compuestos fenólicos encontrados en este tubérculo (Barrera *et al.*, 2004).

Los glucosinolatos son metabolitos aniónicos secundarios, que se encuentran en diferentes familias de plantas, como Brassicaceae, Capparaceae, Tropaloeolaceae, etcétera.

La ingesta de alimentos que contienen glucosinolatos, en una dieta, es importante, ya que el producto de la hidrólisis del glucosinolato, que ocurre en la preparación y/o la masticación, son los isotiocianatos, un compuesto que promueve la apoptosis celular dentro del cuerpo canceroso, también se atribuyen a los glucosinolatos propiedades antioxidantes y bactericidas y fungicidas, además de ser utilizados como bioherbicidas y repelentes en los campos para proteger los cultivos. En nuestro país, hay alrededor de 300 accesiones y, hasta la fecha, no hay suficiente conocimiento científico sobre la extracción y cuantificación de glucosinolatos de estos tubérculos y muchos de ellos están en proceso de extinción y se ha perdido el germoplasma con un impresionante potencial bioactivo.

Las nuevas tendencias en los hábitos alimenticios y la necesidad de alimentos funcionales, con un amplio efecto beneficioso para la salud que reduzcan el riesgo de diversos tipos de enfermedades, han llevado a los

investigadores de todo el mundo a buscar culturas cuyo uso popular en la medicina tradicional pueda ser científicamente probado e industrializado.

El consumo y la comercialización de mashua son muy limitados, uno de los motivos puede ser el escaso estudio científico del cultivo, por lo que no se valoran sus propiedades bioactivas. Teniendo en cuenta que la cosecha de este tubérculo ocurre solo una vez al año y, por tanto, su disponibilidad en el mercado es escasa, así como la manipulación inadecuada después de la cosecha, puede disminuir el contenido de glucosinolatos; además que sus características organolépticas (sabor amargo y astringente) y su baja difusión, actúan contra el consumo en la dieta; que la preparación casera se basa en preferencias de conveniencia y sabor en la retención de nutrientes y compuestos beneficiosos para la salud y que no hay trabajos que investiguen el efecto que puedan tener sobre el contenido de glucosinolatos en mashua, así como los tratamientos y condiciones de procesamiento, por lo que se hace necesario buscar métodos de transformación que optimicen la retención de glucosinolatos, mejoren la textura y el sabor del tubérculo, y que induzcan a cambios favorables en la composición de nutrientes, y que garanticen una disponibilidad permanente del producto, y conduzcan a la industrialización de este cultivo abandonado, para su introducción y distribución en el mercado.

Por lo tanto, debido a la relevancia del tema, se planteó como objetivo del estudio, establecer cómo los tipos de almacenamiento posterior a la cosecha (sol, sombra y enfriamiento) afectan los componentes secundarios (glucosinolatos).

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

1.1.1. Antecedentes del problema

Existe una variabilidad de formas, colores y tamaños de mashua, y hay diferencias de calidades y cantidades de almidones, minerales, proteínas, vitaminas, ácidos grasos, saponinas, alcaloides, taninos, oxalatos, carotenos, glucósidos, antocianinas, betacianinas, betalainas y azúcares (Mujica, 2008), adicionalmente el elevado potencial de rendimiento de la mashua asociado al alto contenido de glucosinolatos, la pone en un lugar preferencial para su utilización por la agroindustria, donde la cocción del tubérculo y posterior exposición a congelación, se puede consumir en forma de helado en postres, asimismo, tiene un potencial de obtención de harina (Arias, 2011). Además de lo anterior, cuando se identificó y cuantificó, mediante “*High Performance Liquid Chromatograph*”, los glucosinolatos (GSL) presentes en mashua cultivada (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón) y sus parientes silvestres, se observó que la mayoría de las accesiones con bajo contenido de GSL, estuvieron distribuidos dentro de la población cultivada con una concentración total de GSL menor a 5.00 $\mu\text{Mol/g}$ de tejido del tubérculo seco, mientras que el más alto contenido total (más de 25.00 $\mu\text{Mol/g}$ de tejido del tubérculo seco) y la más alta concentración de GSL individuales (OHB, B y MOB), se observó en la población silvestre con pocas excepciones. Además, seis fenotipos de GSL diferentes fueron determinados: Solo MOB; solo B; OHB y B; OHB y MO; B y MOB; y OHB, B y MO, (Ortega *et al.*, 2006). Aunque, (Castro y Montero, 1986), indicó que la energía juega un papel importantísimo en cualquier proceso de la

industria de alimentos, tanto desde el punto de vista de costos como de la calidad del producto, su control y su evaluación es uno de los objetivos del equipo de producción; por ello, se investigó los cambios en los niveles de glucosinolatos y sus productos de degradación en vegetales de Brassica seleccionados debido al proceso de cocción (Kapusta *et al.*, 2016). Adicionalmente un estudio demostró la eficiencia de PLE como una alternativa ambientalmente sostenible para extraer GLS intacto del brócoli hojas, y que UHPLC - qTOF - MS lo que permitió una determinación rápida, selectiva y sensible de GLSs intactos en esta matriz (Ares *et al.*, 2015). De acuerdo con ello, el proceso de hidrólisis ocurre en los glucosinolatos cuando el tejido del vegetal se rompe como consecuencia de un daño mecánico, entonces, la enzima tioglucosidasa o mirosinasa se pone en contacto con el sustrato y libera moléculas de glucosa, de bisulfato y de la correspondiente aglucona. Los glucosinolatos se almacenan en la vacuola de la célula de la planta y se transportan por el floema y pueden ayudar a la planta a defenderse de los organismos que se alimentan de los productos del floema y también adquirir la capacidad para coordinar la síntesis y el uso de los recursos de protección entre los distintos órganos, el más sobresaliente en esta actividad es el thioglicósido (Rinc, 2014). Además de lo anterior, el estado oxidativo parece influir en la estabilidad de los glucosinolatos alifáticos que contienen sulfuro, (Hanschen *et al.*, 2012), debido a ello es que mashua es una rica fuente de glucosinolatos y una prometedora fuente dietética de quimio prevención y tratamiento del cáncer.

1.1.2. Problemática de la investigación

Las nuevas tendencias en los hábitos dietéticos y la necesidad de alimentos funcionales de amplio efecto benéfico para la salud que disminuyan el riesgo de diversos tipos de enfermedades que en muchos casos pueden derivarse de problemas de contaminación, han llevado a investigadores de todas partes del mundo a la búsqueda de cultivos cuyo uso popular han

establecido que la medicina tradicional pueda ser científicamente demostrado e industrializado.

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

Dentro de los productos alto andinos que han recibido especial atención en los últimos años, se encuentra la mashua (*Tropaeolum tuberosum*) que constituye un cultivo robusto y de muy alto rendimiento, identificado como una fuente alimenticia nutritiva y barata, con mucho potencial tanto para el consumo humano como animal; así mismo, posee importantes usos medicinales, pues su consumo produce efectos benéficos en la prevención de diversos tipos de cáncer, problemas hepáticos, renales, urinarios y de próstata, contra las úlceras de la piel, la diabetes y la fiebre malaria, como agente inductor de la menstruación en mujeres, entre otros. Adicionalmente, posee propiedades antifúngicas, insecticidas, nematicidas, antibióticas y diuréticas. Se cree que todos estos efectos biológicos, estarían relacionados a sus metabolitos secundarios activos y el amplio rango de fitoquímicos que presentan, entre ellos y con mayor importancia, los glucosinolatos (GSL) y sus productos de degradación, los isotiocianatos, compuestos liberados con la hidrólisis de los

GSL provocada por la enzima endógena mirosinasa (tioglucosido glucohidrolasa, EC 3:2:3:1).

Sea que se emplee el tubérculo con fines alimenticios o medicinales, este pasa por un procesamiento previo antes de su consumo. Actualmente, no se han reportado estudios, trabajos o publicaciones que indiquen el proceso de transformación en lo que respecta al liofilizado, frente a los tratamientos de blanqueado, tiempo de blanqueado y secado, afecte el contenido de glucosinolatos individuales y totales, y la actividad mirosinasa de la mashua; teniendo en cuenta que todo proceso de transformación produce cambios en las características físicas y químicas de cualquier producto.

Los glucosinolatos, por tanto, son un tipo de compuestos fitoquímicos presentes en la familia de las crucíferas y, en particular en los cultivos del género *Brassica* como el brécol, el repollo, las berzas o los grelos. Al igual que otros compuestos bioactivos, son sustancias muy lábiles que se degradan fácilmente por la luz, el calor, enzimas, etc. Dada la importancia de estos compuestos en la prevención de ciertos tipos de cáncer, resulta esencial definir los factores que influyen sobre su contenido y su distribución. La variación cualitativa y cuantitativa pueden deberse a factores genéticos y agroambientales. Por otra parte, los tratamientos efectuados durante la conservación tras la recolección, así como de las distintas técnicas de procesado y preparación del alimento van a influir en la estabilidad y disponibilidad de estos compuestos beneficiosos. Es entonces que la presente investigación busca determinar las condiciones, tratamientos y técnicas de procesamiento del tubérculo que mejor conserven sus principios activos y/o mejoren su aceptación, con miras a su industrialización y difusión para su inserción en un competitivo y exigente mercado.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.2.1. Problema general

¿Cuál es el efecto de la aplicación del calor sobre los glucosinolatos de mashua (*Tropaeolum tuberosum*) deshidratada por liofilización?

1.2.2. Problemas específicos

- ¿Cuál es el nivel de degradación térmica de los glucosinolatos que se producirá en un determinado tiempo de aplicación de calor?
- ¿Cuál es el nivel de influencia de la actividad de mirosinasa por la aplicación de calor?

1.3. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

Justificación académica

Los resultados de la investigación nos permitirán revalidar teorías que explican la aplicación del calor sobre los glucosinolatos de tal forma que permita mantener sus propiedades bioquímicas en los procesos de elaboración de alimentos procesados, de tal forma que se pueda producir alimentos con mayor valor en la preservación de la salud humana.

Justificación científico socio ambiental

Los resultados permiten obtener conocimiento sobre los glucosinolatos como alternativas para la prevención de ciertos tipos de cáncer, esto como consecuencia de variaciones cualitativas y cuantitativas que pueden deberse a factores genéticos y agroambientales, dentro de los que se encuentran la contaminación de alimentos por metales pesados.

1.4. ALCANCES Y LIMITACIONES

La implementación y desarrollo de la investigación tiene limitaciones, respecto a la viabilidad de contar con equipos sofisticados para la determinación de la concentración de glucosinolatos, así como para realizar la liofilización de la mashua, el que fue superado dentro de los parámetros de tiempo establecidos. También, resultó una limitación la disponibilidad de un fondo pecuniario para solventar el pago de los análisis de laboratorio para las determinaciones de glucosinolatos, según estándares específicos.

1.5. OBJETIVOS

1.5.1. Objetivo general

Determinar los efectos de la aplicación del calor sobre el contenido de los glucosinolatos de mashua (*Tropaeolum tuberosum*), deshidratada por liofilización.

1.5.2. Objetivos específicos

- Evaluar los efectos de la aplicación del calor sobre el contenido de los glucosinolatos de mashua que se producirá en un determinado tiempo de aplicación de calor.
- Evaluar la actividad de la mirosinasa después de los tratamientos aplicados.
- Cuantificar el contenido de glucosinolatos por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) en los extractos de mashua deshidratada por liofilización.

1.6. HIPÓTESIS

1.6.1. Hipótesis general

La aplicación de calor afecta el contenido de glucosinolatos de mashua (*Tropaeolum tuberosum*) deshidratada por liofilización.

1.6.2. Hipótesis específicas

- El incremento de la intensidad de calor respecto al tiempo influye en la degradación de los glucosinolatos de mashua liofilizada.
- Los glucosinolatos, metabolitos secundarios de mayor importancia y actividad biológica que corresponden al mashua, y al mismo tiempo sensibles a la acción de la enzima mirosinasa, es probable que, a través del procesamiento (liofilización), entre otros procesos menores estudiados en este trabajo, se determinen tratamientos que mejoren la conservación de dicho ingrediente activo para uso en salud y tratamientos que mejoran el sabor, reduciendo la presencia de estos compuestos y, por lo tanto, técnicas estandarizadas para procesar tubérculos a nivel industrial.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DEL ESTUDIO

Los glucosinolatos, como otros compuestos bioactivos, son sustancias muy lábiles que se degradan fácilmente por la luz, el calor, las enzimas, etcétera (Baenas y Moreno, 2017). Para los tipos de cáncer, es esencial definir los factores que influyen en su contenido y distribución (Travis, 1999); por lo tanto, debe enfatizarse que es importante saber cómo varían estos compuestos para mantener los niveles beneficiosos de glucosinolato en la etapa de pos cosecha (Chirinos *et al.*, 2008) y también proporcionar el método de cocción más apropiado que garantice beneficios óptimos para la salud (Grau, *et al.*, 2003).

Los métodos de cocción convencionales reducen el contenido de glucosinolatos, dependiendo del método, la intensidad y el tipo de compuesto. Urresta (2010) y Aguirre *et al.* (2003), argumentan que el contenido total de glucosinolatos se pueden preservar en el brócoli, coliflor, coliflor o *brusella*, porque la temperatura utilizada en este proceso de cocción, probablemente, permite la inactivación de la enzima mirosinasa, Kim *et al.*, (2010), ya que evita la degradación de los glucosinolatos. (Méndez *et al.*, 2015; Johns *et al.*, 1982)

En conservas en lata, otra forma de encontrar vegetales de *brassica*, implica una disminución en el contenido de glucosinolatos en comparación con los productos frescos o congelados (Palencia, 2004); a su vez, la cocción en

microondas es una alternativa efectiva, ya que requiere escasa cantidad de agua (Castro, 2011), y al mismo tiempo, se utiliza como un buen método para inactivar la enzima mirosinasa con una pérdida insignificante de glucosinolatos (Travis, 1999). Al mismo tiempo, el efecto de este método de cocción sobre la actividad de la enzima mirosinasa muestra una pérdida de glucosinolatos totales e individuales (Brewer *et al.*, 1994), así como, por ejemplo, glucoiberina, progoitrina y gluconapina en brócoli y sinigrina en repollo (Grau *et al.*, 2003). Aunque estas pérdidas no se asociaron con un aumento en los glucosinolatos totales en el agua de cocción de alimentos. (Roca y Manrique, 2005)

Los glucosinolatos son compuestos de nitrógeno y azufre que se encuentran exclusivamente en el género *Brassica* y especies de crucíferas estrechamente relacionadas (Castro, 2011). A su vez, no son glucosinolatos intactos, sino sus productos de degradación (tiocianatos, isotiocianatos, oxazolidinas y nitrilos), obtenidos por la acción de la enzima mirosinasa responsable de los efectos biológicos y el sabor característico asociado con estos cultivos (Johns *et al.*, 1982). Por otro lado, una vez cosechados, estos cultivos pueden pasar por diferentes procesos de presentación y conservación, terminando con la cocción por parte del consumidor final, lo que implica numerosos cambios en el contenido de glucosinolatos (Grau *et al.*, 2003). Por lo tanto, es importante saber cómo varían estos compuestos para mantener niveles beneficiosos de glucosinolatos después de la cosecha y proporcionar el método de cocción más apropiado que garantice beneficios óptimos para la salud (Sevilla, 2008). Los procesos de fabricación y preparación culinaria, no necesariamente implican una reducción en el contenido de glucosinolatos, por lo que, se han descrito dos mecanismos opuestos a lo largo de estos procesos: la hidrólisis del glucosinolato por mirosinasa y la inducción de glucosinolato de indol por un mecanismo desconocido (Aguilera *et al.*, 2008). También, hay diferentes estudios que han demostrado las ventajas y desventajas de las diferentes técnicas de cocción, aunque la mayoría de estos estudios se han centrado, una vez más, en el contenido de brócoli y el contenido de glucorafanina (Aguilera *et al.*, 2008). Por lo tanto, los esfuerzos se han centrado

en conocer el efecto de los tratamientos térmicos en otros glucosinolatos y otras culturas de quizás una importancia menos económica, pero de importancia reconocida en la cocina tradicional. (Palencia, 2004)

La ocurrencia en los procesos de cocción es inactivada y no puede convertir los glucosinolatos en productos beneficiosos (Pacco, 2015; Aranceta, *et al.*, 2003), por lo tanto, la reducción en el contenido de glucosinolato puede deberse a la descomposición enzimática, la interrupción térmica o la filtración en el agua de cocción (Tapia, 2007). Cuando el agua de cocción se utiliza para cocinar sopas y caldos, como nabos o repollo, esta pérdida de glucosinolatos alimenticios no representa una pérdida de glucosinolatos o isotiocianatos beneficiosos en la dieta. (Pacco, 2015)

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. Mashua

2.2.1.1. Definición

Mashua (*Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón*) es un miembro de la familia Tropaeolaceae. Presenta nombres lingüísticos según idiomas o dialectos, por ejemplo, *Isaño* (aimara), *Añu*, *Isaño*, *Apiña*, *Ocaquisañu* (quechua), *Capuchinha-Tuberosa* (portugués), *Cubio*, *Mashwa*, entre otros. (Lim, 2016)

Aparentemente, la mashua tiene origen en la región andina central (latitud 10° a 20° S) (Arbizu y Tapia, 1992). La evidencia arqueológica indica que sus tubérculos se consumieron durante más de 7500 años (Manrique *et al.*, 2013). Se cree que su cultivo se ha extendido a través de las migraciones precolombinas a Colombia (latitud 8° N) y al norte de Argentina y Chile (latitud 25° S). Actualmente se cultiva en los andes de Bolivia, Perú, Ecuador, Colombia y Venezuela, el norte de Argentina y Chile (Arbizu y Tapia, 1992).

También se cultiva experimentalmente en Nueva Zelanda y el Pacífico Noroeste para evaluar su potencial de cultivo en todo el mundo. (Soria *et al.*, 1998; Chirinos *et al.*, 2007; *National Research Council*, 1989; Manrique *et al.*, 2013)

La mashua es una especie nativa andina de altitudes elevadas que se caracterizan por terrenos escarpados, vientos fuertes, suelos poco profundos y superficies de roca desnudas con un alto escurrimiento de agua. Se cultiva a altitudes de 2400 a 4300 msnm, más frecuentemente de 3000 a 3800 msnm, donde la temperatura anual oscila entre 8 y 11°C (Grau *et al.*, 2003). Es tolerante a heladas ligeras y soporta temperaturas de 30°C por breve tiempo y tiene una amplia tolerancia al pH del suelo de 5,3 – 7,5. (Torres *et al.*, 1992)

Asimismo, su ciclo de cultivo varía entre 6 y 9 meses, en el que las plantas producen rendimientos superiores a los de otras tuberosas andinas (Grau *et al.*, 2003) (Manrique *et al.*, 2013). La pulpa del tubérculo suele ser amarilla, blanca o pálida, dependiendo de los cultivares (Lim, 2016). En el Perú se ha encontrado las siguientes variedades: *Okke - aña* (plomizo), *Yurac - aña* (blanco), *Yana - aña* (negruzco), *Puca - aña* (rojizo), *Checchi - aña* (gris), *Ckellu – aña* o *Zapallu - aña* (amarillo) y *Muru - aña* (morado). (Chacón, 1960)



Figura 1. Planta de mashua

Fuente: Lim (2016)

2.2.1.2. Descripción botánica

Tapia (1996), sostiene que la mashua es una planta herbácea de 20 a 80 cm de alto, de tallos aéreos, cilíndricos y delgados de 2 a 4 mm de diámetro, ramificados de color púrpura. Tiene hojas de color verde oscuro brillante en el haz y verde claro en el envés, las flores son solitarias de diferentes colores que van de anaranjadas o rojizas. Las flores son bisexuales tienen matices que van del naranja al escarlata y es polinizada por insectos y por pájaros.

2.2.1.3. Consumo y usos tradicionales

Los tubérculos de mashua generalmente se comen. Estos cultivos contienen isotiocianatos que les dan un sabor fuerte y picante que se asemeja a rábanos calientes cuando se comen crudos (Soria *et al.*, 1998). Se consumen en guisos, en combinación con carne, vegetales verdes, maíz, papas y hierbas, o simplemente como vegetales hervidos o fritos (King y Gershoff, 1987). Los tubérculos también se mezclan con melaza y se comen como dulces; en Bolivia y algunas partes del Perú, los tubérculos se recubren con melaza y se congelan para hacer un postre especial (National Research Council, 1989, citado por (Grau *et al.*, 2003). En Bolivia, el *isaño* (mashua) se consume en un estofado, asado u ocasionalmente conservado en un proceso de secado similar a la producción de chuño de papa, para preparar un producto llamado *thayacha*. Para esta preparación, los tubérculos se exponen a las heladas durante la noche y se comen al día siguiente mezclados en almíbar (Cárdenas, 1989). Además, con hojas y flores jóvenes, se puede preparar mates o comer como vegetales cocidos (National Research Council, 1989, citado por (Grau *et al.*, 2003). En Colombia, la mashua es un cultivo complementario para repeler las plagas en los cultivos de papa. Su extraordinaria resistencia a los insectos, nematodos y plagas bacterianas, se atribuye a los altos niveles de isotiocianatos (Ortega *et al.*, 2006). También se ha sugerido que mashua se cultive como alimento para el ganado, debido a sus partes vegetativas

altamente nutritivas (*National Research Council*, 1989, citado por Grau *et al.*, 2003). La cocina ecuatoriana aumenta el consumo de mashua a través de sus platos típicos, algunos de ellos son: colada de mashua con leche (postre), *cariucho uchito* (estofado), locro de mashua y *pande mashua*. (Espin, 2013; Espinosa, 1997)

– Usos en la medicina

El contenido de antocianinas y compuestos fenólicos de la mashua es muy alto (Pacco, 2015), sobre todo en los cultivares de pulpa púrpura o morada. La actividad antioxidante de la mashua es entre 2 y 5 veces más alta que la del arándano (*Vaccinium stamineum*) (Roca y Manrique, 2005), y representa compuestos bioactivos muy importantes, porque actúan como agentes protectores para prevenir el envejecimiento biológico de los tejidos (Sarni Machado, 1989).

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

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

Rea (1964) reportó el uso de mashua por personas con diabetes, utilizando tanto tubérculos cocidos como el agua en que fueron hervidos. (Tapia, 2007), lista información sobre los usos medicinales de mashua para el tratamiento de la amigdalitis, el dengue y la malaria, y las condiciones post-parto.

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

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

Los efectos hormonales también pueden ser responsables de los efectos atribuidos a la menstruación. (Johns y Neil Towers, 1981), (Johns *et al.*, 1982), informaron que la N, N-di-(4- metoxi-bencil) tiourea presente en mashua puede inhibir competitivamente el estradiol marcado radio activamente utilizando una preparación de receptor de estrógenos en citosol uterino bovino, lo que sugiere que mashua puede tener actividad estrogénica. Asimismo, la mashua también se usa como purificador para curar enfermedades venéreas; y, además, detiene el sangrado y cura las heridas internas y externas. (Ares *et al.*, 2015)

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

se les atribuyen; sin embargo, las investigaciones y publicaciones al respecto siguen siendo muy limitadas.

– Usos en la alimentación humana

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

– Usos en la alimentación animal

En la alimentación animal, se utiliza para alimentar cerdos para engorde, no obstante, es necesario controlar la cantidad proveída para prevenir posteriores problemas por intoxicación. (Urresta, 2010)

– Usos en la agricultura

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

2.2.1.4. Clasificación taxonómica

La mashua pertenece a la familia Tropaeolaceae, una familia pequeña y bastante homogénea de plantas herbáceas, y en su mayoría especies trepadoras. La familia incluye tres géneros, y los tres tienen la capacidad de formación de tubérculo. El género más grande es *Tropaeolum*, que contiene 86 especies, distribuidas desde el sur de México hasta todo lo largo de América del Sur. (Grau *et al.*, 2003)

La especie *Tropaeolum tuberosum*, que corresponde a la mashua, fue descrita por Ruíz y Pavón en su obra *Flora Peruviana et Chilensis*, en la que por primera vez dieron cuenta original, detallada e ilustrada acerca de esta especie (Grau *et al.*, 2003). Johns y Towers, (1981), afirmaron que la especie *Tropaeolum tuberosum* se divide en dos subespecies, la subespecie cultivada *T. tuberosum* ssp. *tuberosum* y la subespecie salvaje *T. tuberosum* ssp. *silvestre* Sparre. Según Hind (2010), esta última es la subespecie más ampliamente cultivada en los Andes. Otra especie muy cultivada perteneciente al género *Tropaeolum* es *T. majus* L., conocida como capuchina jardín, una planta ornamental popular en las zonas templadas y que está muy relacionada con la mashua (Barrera, 2004). Según el sistema de Armen Takhtajan, citado por Limaymanta (2018), la mashua tiene la siguiente clasificación taxonómica:

Reino : *Plantae*
División : *Angiosperma*
Tipo : *Angiospermales*
Clase : *Dicotiledóneas*
Subclase : *Archidamideas*
Orden : *Geraniales*
Familia : *Tropaeolaceae*
Género : *Tropaeolum*
Especie : *Tropaeolum tuberosum*

2.2.1.5. Composición química y nutricional de la mashua

El contenido de agua de los tubérculos de mashua es relativamente alto, va desde 79 hasta 94 % de la materia fresca o comestible. La principal contribución de la mashua está en su contenido de carbohidratos, en particular de almidón, así también de azúcares. El contenido de proteína del tubérculo de la mashua, en base húmeda, se aproxima a los valores de la papa; aunque la papa es mucho más alta en contenido de materia seca. El análisis aminoacídico de las proteínas del tubérculo de mashua, muestra una composición nutricional satisfactoria comparada con las recomendaciones de la WHO (*World Health Organization*) (Shat *et al.*, 1993 y Stegemann y Shah, 1993 citados por Grau *et al.*, 2003). Contienen los aminoácidos esenciales (mg/g de proteína): lisina 35-41 mg, treonina 22-24 mg, valina 25-46 mg, isoleucina 25-37 mg, leucina 35-43 mg, fenilalanina + tirosina 14 -37 mg, triptófano 4,7-5,3 mg y metionina + cistina 12-15 mg (*National Research Council*, 1989; citado por Lim, 2016). El aminoácido lisina es limitado en muchos cereales y leguminosas; sin embargo, la mashua contiene una alta cantidad (Espinoza., 2020).

Según la *National Research Council*, (1989), citado por Tapia *et al.*, (1996), la mashua tiene un alto contenido de carbohidratos (11 por ciento en base húmeda), alto contenido ácido ascórbico (67 mg por 100g en base húmeda), el contenido de proteína puede variar de 6.9 a 15.9 por ciento en base seca. El principal componente secundario de la Tropeoláceas son los glucosinolatos que pueden ser los responsables para los usos medicinales de esta especie. En la Tabla 1 se muestra la composición química del tubérculo de mashua, según diferentes investigadores.

Tabla 1*Composición química de 100 g de mashua (porción comestible)*

Componentes	Base húmeda (BH)			Base seca (BS)	
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5) Promedio
	Rango	Promedio	Promedio	Rango	
Humedad (%)	79,10 - 88,8	87,4	86	78,3 - 92,4	-
Carbohidratos (g)	-	9,8	11	-	78,6
Proteína (g)	1,13 - 2,65	1,5	1,6	6,9 - 15,7	11, 4
Grasa (g)	-	0,7	0,6	0,1 - 1,4	4,3
Cenizas (g)	0,56 - 1,08	0,6	0,8	4,2 - 6,5	5,7
Fibra (g)	-	0,9	0,8	7,8 - 8,6	-
Azúcares (g)	5,37 - 9,33	-	-	-	-
Potasio (mg)	1,28 - 1,76	-	-	-	-
Fósforo (mg)	0,61 - 0,83	29	42	-	300
Calcio (mg)	-	12	7	-	50
Hierro (mg)	-	1,0	1,2	-	8,6
Vitamina A (mg)	-	-	15	-	214
Tiamina (mg)	-	0,10	0,06	-	0,46
Riboflavina (mg)	-	0,12	0,08	-	0,57
Niacina (mg)	-	0,67	0,6	-	4,3
Vitamina C (mg)	-	77,5	67	-	476

Fuente: Collazos *et al.* (1996), Tapia *et al.* (1996), *National Research council* (1989), Ramallo *et al.* (2004)

El contenido de provitamina A, expresado como equivalentes de retinol (RE), identificó a la mashua como la especie de tubérculo más rica en carotenos, con un nivel promedio de 73,56 RE/100 g en base húmeda (Barrera *et al.*, 2004). El contenido nutricional de mashua es bueno cuando se compara con otros cultivos de raíces y tubérculos consumidos en todo el mundo; sin embargo, no es tan apetecible como otros tubérculos y tiende a ser abandonado más fácilmente cuando la gente tiene acceso a otros alimentos.

La mashua, con sus tubérculos ricos en carbohidratos, así como otros nutrientes y su follaje rico en proteínas, se ha sugerido que tiene potencial para

ser cultivada para la alimentación del ganado (*National Research Council*, 1989); citado por Lim, 2016). La caracterización física, química y funcional de los almidones de los tubérculos andinos oca, mashua y ulluco, sugiere que estos almidones podrían ser utilizados en sistemas alimenticios y otras aplicaciones industriales, como en productos de fácil cocción, alta viscosidad en caliente, estabilidad en refrigeración y que no necesitan ser congelados. El tamaño del gránulo del almidón, podría influenciar en la digestión; en este sentido, la mashua, con sus pequeños gránulos, podría ser un almidón altamente digerible. La ausencia de proteína en los almidones aislados, indica la utilidad de estos almidones para preparar jarabes con alto contenido de glucosa. Entre otras características, se ha determinado que tienen un alto grado de hinchamiento y solubilidad, alta viscosidad, baja estabilidad a la agitación y cocción, y una baja tendencia a la retrogradación. Estos almidones muestran una alta claridad, pero alta sinéresis cuando se someten a un proceso de congelación-descongelación. (Lim, 2016)

Respecto a los glucosinolatos, contienen una elevada concentración del tipo aromático que, al ser hidrolizados; se transforman en isotiocianatos, compuestos químicos responsables de otorgar el típico sabor picante a los tubérculos. Los isotiocianatos son conocidos por sus propiedades antibióticas, insecticidas, nematocidas, anticancerígenas y diuréticas, lo que contribuye a sustentar el uso tradicional de la mashua en la medicina folklórica de los andes (Manrique *et al.*, 2013). Igualmente, Pérez (1947), menciona que el consumo de mashua en las zonas de producción, se da después de haber sometido la raíz a un proceso de soleado de aproximadamente diez días. Del mismo modo, Grau *et al.*, (2003) señala que la práctica andina de exponer los tubérculos y raíces a la luz solar directa, se utiliza también para la mashua, con el fin de aumentar la dulzura y reducir los niveles de cianuro antes de ser utilizada para fines culinarios.

2.2.1.6. Producción nacional

En la Figura 2, se muestra la producción nacional de mashua del 2000 al 2017. La mashua forma parte del grupo de cultivos menores, ya que su producción es solo de importancia local (Smith y Trivelli, 2001). La superficie de cosecha para el año 2000 fue 6700 ha y para el 2016 fue 4841 ha, y el rendimiento paso de 5,29 ton/ha 6,84 ton/ha para los mismos años. (Ministerio de Agricultura y Riego, 2018)

Es importante, subrayar que la producción de mashua presenta un incremento progresivo anual en Apurímac, Cusco y Puno y una reducción anual en Junín y Huancavelica (Tabla 2). Los productores de Junín después de evaluar la problemática de su baja productividad y calidad del cultivo en el 2015, presentaron y ganaron un proyecto al PNIA, logrando incrementar al 2016 los niveles de productividad de la mashua negra de 8,0 ton/ha a 10,3 ton/ha, a través de la introducción de un manejo técnico de labores culturales, buenas prácticas de producción, manufactura y control biológico y manejo integrado de plagas y enfermedades. (PNIA, 2017)

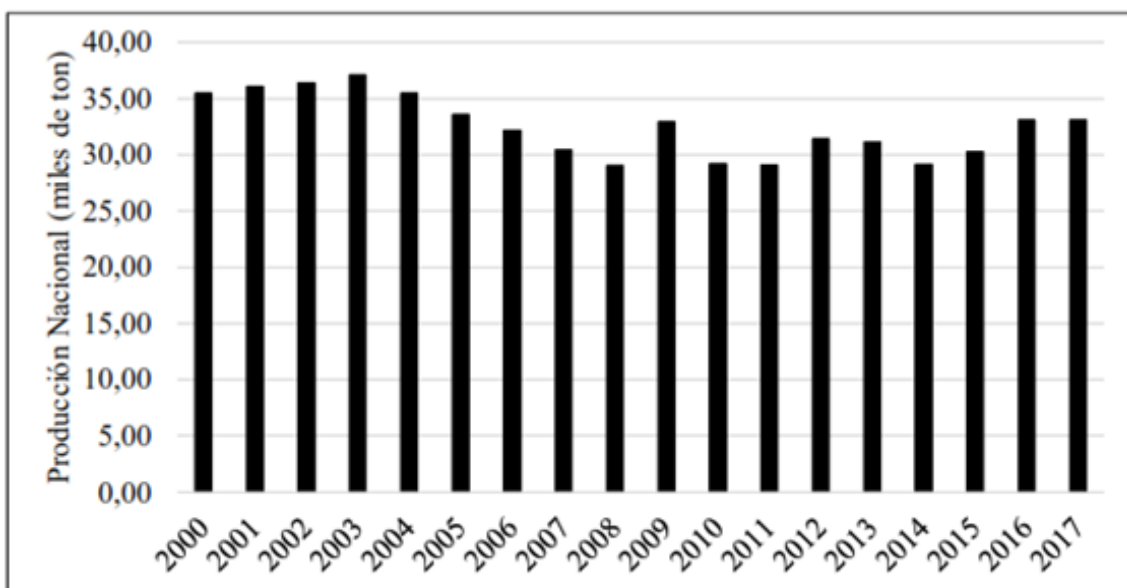


Figura 2. Producción nacional de mashua

Fuente: Ministerio de Agricultura y Riego (2018)

Tabla 2

Departamentos de mayor producción de mashua (miles de toneladas), según datos actualizados a marzo de 2018

AÑO	APURÍMAC	AYACUCHO	CUSCO	HUANCAVELICA	JUNÍN	PUNO
2000	5,12	5,07	4,85	4,11	9,58	4,3
2001	3,88	5,44	6,18	3,85	10,17	4,63
2002	4,95	4,15	6,53	3,23	9,34	5,89
2003	4,69	4,35	6,76	3,04	10,3	6,05
2004	3,23	4,15	6,76	1,87	9,18	6,2
2005	3,03	3,67	6,02	1,83	8,75	6,17
2006	2,14	3,01	6,93	0,92	7,83	6,56
2007	2,85	2,64	5,92	0,52	7,53	7,08
2008	2,64	3,99	6,36	0,37	6,59	6,31
2009	3,28	3,93	7,58	1,67	6,49	7,1
2010	2,34	3,7	6,77	1,65	6,13	6,14
2011	2,62	2,91	7,04	2,59	6,04	5,74
2012	4,12	4,19	7,13	1,95	5,67	6,58
2013	4,42	3,91	7,33	1,78	5,5	6,4
2014	4,06	3,96	7,22	1,41	4,15	6,72
2015	4,81	3,69	8,9	1,05	3,26	6,97
2016	7,02	3,84	8,3	1,13	3,62	6,83
2017	6,76	5,6	7,17	0,7	3,41	7,37

Fuente: Ministerio de Agricultura y Riego (2016)

2.2.1.8. Glucosinolatos

Los glucosinolatos son metabolitos secundarios tioglucosídicos que se encuentran en las familias de las plantas angiospermas, principalmente en el orden Brassicales (Clarke, 2010, Muñoz *et al.*, 2010). Son aniones orgánicos solubles en agua que derivan del metabolismo de los aminoácidos y comparten una estructura básica común que consiste en un resto β -D- tioglucosa, un grupo oxima sulfonado y una aglicona variable (Wittstock y Halkier, 2002; Avato y Argentieri, 2015). La estructura general de los glucosinolatos se presenta en la Figura 3.

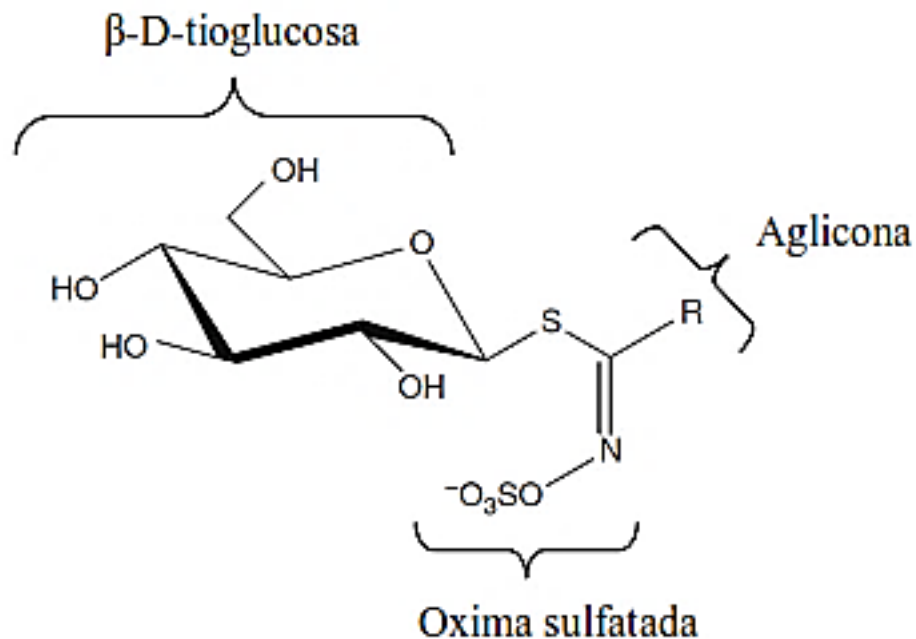


Figura 3. Estructura general del glucosinolato

Fuente: Adaptado de Avato y Argentieri (2015)

La aglicona puede originarse de uno de los ocho aminoácidos naturales según los cuales los glucosinolatos pueden clasificarse en: alifático (derivado de alanina, leucina, isoleucina, metionina o valina), aromático (derivado de fenilalanina o tirosina) o indólico (derivado de triptófano) (Wittstock y Halkier, 2002; Müller *et al.*, 2010; Avato y Argentieri, 2015). Sin embargo, las cadenas laterales de glucosinolato se caracterizan por una amplia variedad de estructuras químicas. Los glucosinolatos más numerosos, son aquellos que contienen cadenas de carbono lineales o ramificadas. Muchos de estos compuestos también contienen enlaces dobles (olefinas), grupos hidroxilo o carbonilo, o enlaces de azufre en diversos estados de oxidación. El grupo más grande (un tercio de todos los glucosinolatos), contiene un átomo de azufre en diversos estados de oxidación (por ejemplo, metiltioalquilo, metilsulfinilalquilo o metilsulfonilalquilo). Otro pequeño grupo de glucosinolatos de bencilo tiene un resto de azúcar adicional, ramnosa o arabinosa, en el enlace glicosídico unido al anillo aromático (Fahey *et al.*, 2001). Actualmente, se han informado más de 130 glucosinolatos estructuralmente diferentes. (Clarke, 2010)

2.2.1.9. Vía metabólica de los glucosinolatos

La formación de glucosinolatos puede dividirse convenientemente en tres formas diferenciadas. En primer lugar, ciertos aminoácidos alifáticos y aromáticos son alargados, insertando grupos de metileno en sus cadenas laterales. En segundo lugar, el propio resto de aminoácido, ya sea alargado o no, se vuelve a formar metabólicamente para dar la estructura de núcleo de glucosinolatos. En tercer lugar, los glucosinolatos, formados inicialmente, se modifican mediante diversas transformaciones secundarias (Halkier y Gershenzon, 2006). La biosíntesis de la estructura central del glucosinolato, se describe a continuación (Figura 4):

- Elongación de la cadena lateral de aminoácidos precursores

La biosíntesis de glucosinolatos, se inicia en el citosol con la desaminación del aminoácido específico para formar el correspondiente ácido 2-oxo, luego se da un ciclo de tres pasos: el ácido 2-oxo se condensa con acetyl Co-A para formar un derivado 2-malato, el cual, luego, se isomeriza vía un cambio 1,2-hidroxilo a un derivado 3-malato que experimenta una oxidación-descarboxilación para lograr formar un ácido 2-oxo que presenta un grupo metilo más que al inicio del ciclo. Esta molécula, puede ser transaminada para producir homometionina y entrar en la vía central de glucosinolatos o de nuevo puede pasar a través de ciclos de alargamiento. (Müller *et al.*, 2010)

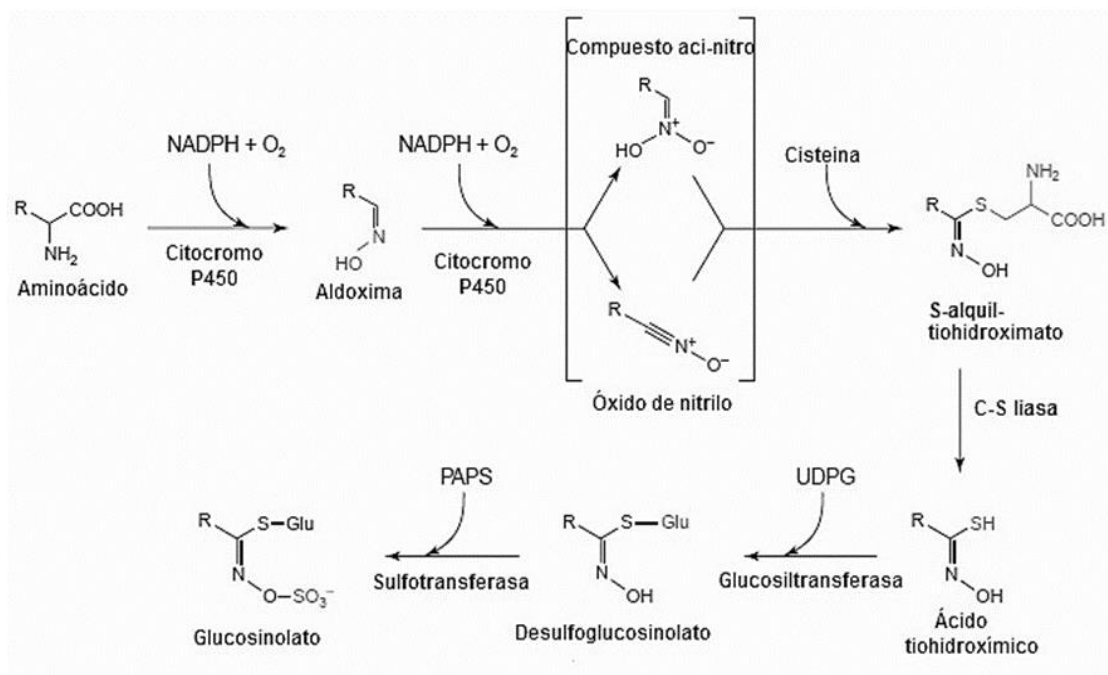


Figura 4. Biosíntesis de la estructura central del glucosinolato

Fuente: Adaptado de Wittstock y Halkier (2002)

– Formación de la estructura central del glucosinolato

La primera etapa de la elongación de la cadena de la biosíntesis de glucosinolatos comienza en el citosol, y pasos posteriores se producen en el cloroplasto (Halkier y Gershenzon, 2006). Sin embargo, la formación de la estructura del núcleo tiene lugar en el citosol, lo que implica la necesidad de un transportador que pueda trasladar el citosol, entre el citoplasma y las membranas de cloroplasto. Gigolashvili *et al.*, (2009) han demostrado que el transportador del ácido biliar (quenodesoxicólico) está involucrado en el transporte de ácido 4-metiltio-2-oxobutanoico y cetoácidos de cadena larga a través de la membrana de cloroplasto antes, durante y después de la elongación de cadenas laterales de cetoácidos. Una vez lograda la elongación del aminoácido se iniciará la formación de la estructura base, a través de la conversión del aminoácido a aldoxima inducida por el citocromo P450, el cual pertenece a la familia CYP79, y es responsable de catalizar esta conversión

(Wittstock y Halkier, 2002). Al ser obtenida la aldoxima, otro citocromo P450 que pertenece a la familia CYP83, produce una forma oxidada de la oxima, conocido como compuesto acinitro, el cual presenta una gran inestabilidad, este reacciona eficientemente con los donadores de azufre (S) y forma el S-alquiltiohidroximato. Esto sugiere que esta reacción debe estar controlada por una glutatión-S-transferasa, la cual logrará la conjugación del compuesto con un donador de azufre (Hansen *et al.*, 2001). De esta forma, el S-alquiltiohidroximato es metabolizado por la enzima C-S liasa que actúa sobre el compuesto produciendo ácido tihidroxímico. Consiguientemente, los tihidroximatos formados experimentan una reacción de glucosilación catalizada por la glucosiltransferasa para generar desulfoglucosinolatos, el que posteriormente, será sulfatado por la acción de la enzima desulfoglucosinolato sulfotransferasa, obteniéndose así la estructura final del glucosinolato. (Piotrowski *et al.*, 2004)

– Modificaciones secundarias de glucosinolatos

La etapa final en la biosíntesis de glucosinolatos, corresponde a las modificaciones secundarias de la cadena lateral. Esta parte de la estructura sufre varias modificaciones, tales como reacciones de acilación, oxidación, alquilación y/o esterificación. Las modificaciones de cadena lateral de los glucosinolatos se producen mediante la oxidación por etapas de restos metiltioalquilo a grupos metilsulfinil-alquilo y luego a restos alquenoilo. (Kumar *et al.*, 2017)

2.2.1.10. Biosíntesis

La formación de glucosinolatos se puede dividir en tres fases separadas. En primer lugar, algunos aminoácidos alifáticos y aromáticos son alargados mediante la inserción de grupos metileno en sus cadenas laterales. En segundo lugar, el resto de aminoácido, ya sea alargado o no, es metabólicamente reconfigurado para dar la estructura del núcleo del

glucosinolato. En tercer lugar, los glucosinolatos inicialmente formados son modificados por diversas transformaciones secundarias. (Halkier y Gershenzon, 2006)

2.2.11. Hidrólisis

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

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

2.2.1.2. Degradación

Cuando se produce daño en la planta, los glucosinolatos son degradados a una variedad de productos de hidrólisis que son responsables de, prácticamente, todas las actividades biológicas de esta clase de compuestos.

oxazolidin-2-tionas, una clase de sustancia (Galletti *et al.* , 2001) conocidas por causar bocio. (Cole, 1976)

En otras plantas, un porcentaje importante de productos de hidrólisis de los glucosinolatos son nitrilos (Lambrix *et al.*, 2001). La formación de nitrilos in vitro, se ve favorecida a un pH menor a tres o en presencia de iones Fe^{2+} (Kristal y Lampe, 2002) . Sin embargo, factores proteicos pueden estar implicados en la formación de nitrilos in vivo, como la proteína epitioespecífica (ESP).

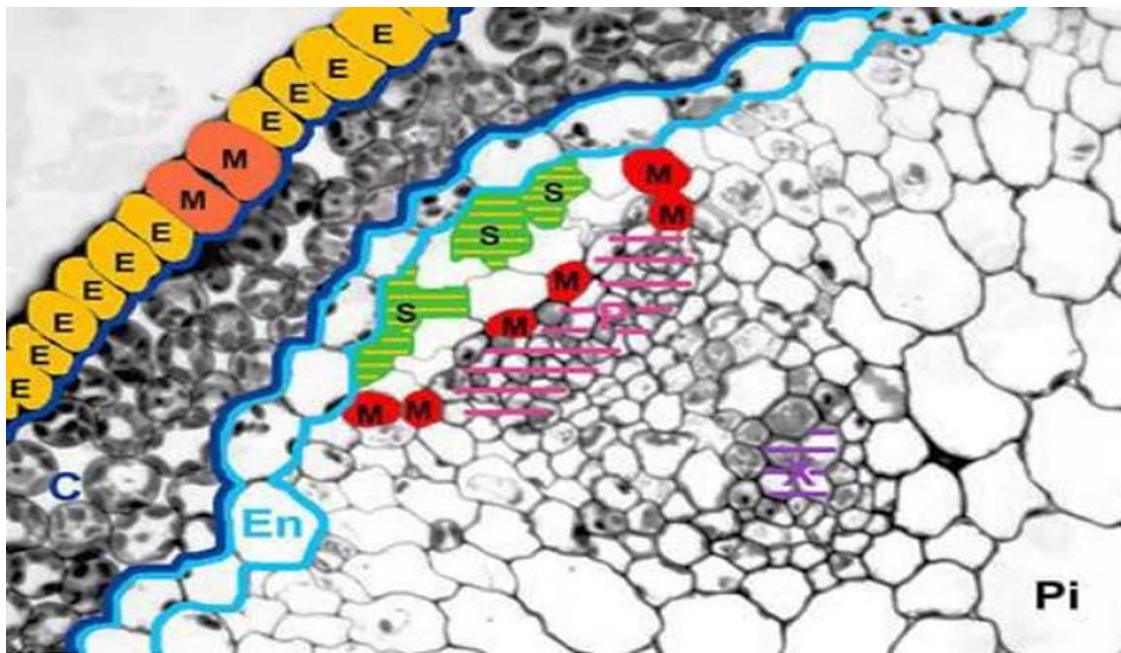
Cuando la cadena lateral del glucosinolato tiene un doble enlace terminal, ESP promueve la reacción del átomo de azufre del enlace tioglucósido con el doble enlace para formar un anillo tirano, formando un epitionitrilo (Figura 3). El proceso se produce sólo en presencia de la mirosinasa, y no se sabe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

Otros productos de la hidrólisis incluyen a los tiocianatos, los cuales se forman únicamente desde tres glucosinolatos: bencil-, alil- y 4-metilsulfinilbutil-glucosinolato, los cuales forman cationes estables en sus cadenas laterales. Al igual que la formación de nitrilos, la producción de tiocianatos está también relacionada con factores proteicos específicos, pero estos aún no han sido identificados (Halkier y Gershenzon, 2006). Cabe subrayar, que la hidrólisis de los glucosinolatos indólicos, presenta diferencias de otros tipos de glucosinolatos, debido a que los isotiocianatos inicialmente formados, son inestables a pH neutro o ligeramente ácido, y se convierten en metabolitos adicionales, incluyendo indol-metanoles, conjugados de ácido ascórbico y mezclas oligoméricas. (Halkier y Gershenzon, 2006)

2.2.1.13. Sistema mirosinasa-glucosinolato

La mirosinasa (tioglucósido glucohidrolasa, E.C. 3.2.3.147) está presente en todas las plantas que contienen glucosinolatos (Fenwick *et al.*, 1983). El complejo enzimático glucosinolato- mirosinasa, denominado de otra forma la “bomba de aceite de mostaza”, es un sistema bioquímico muy complejo, caracterizado por la ubicación de la mirosinasa y su sustrato a nivel celular y subcelular en compartimientos separados (Yan y Chen, 2007; Oerlemans *et al.*, 2006; Kissen y Bones, 2009), como se demostró en *Arabidopsis*, por la identificación de células ricas en sulfuro entre el floema y la endodermis del pedúnculo de la flor, las cuales presumiblemente contenían altas concentraciones de glucosinolatos. (Oerlemans *et al.*, 2006)

Las mirosinasas se expresan en *células de mirosina* específicas en estrecha proximidad a las células que acumulan glucosinolatos, mientras que, a nivel subcelular, tanto la mirosinasa como los glucosinolatos se almacenan en la vacuola (Yan y Chen, 2007; Kissen y Bones, 2009; Becker, 2015). Al respecto, la localización de los componentes del sistema glucosinolato-mirosinasa, se presenta en la Figura 6.



Nota: **S**, células que contienen glucosinolatos (verde); **M**, células del floema (rojo) y células guarda (anaranjado) que contienen a la mirosinasa; **E**, células epidérmicas que expresan la proteína ESP; las rayas en células **S** indican localización de glucosinolatos y ESP; **C**, corteza. **En**, endodermis; rayas rosas, floema; rayas púrpuras, xilema; **Pi**, médula.

Figura 6. Representación de la localización de los componentes del sistema glucosinato-mirosinasa superpuesto en una porción de una sección transversal del tallo de flor de *Arabidopsis thaliana*.

Fuente: Becker (2015)

La ubicación de los componentes del sistema de mirosinasa-glucosinato y la expresión específica de células de la mirosinasa en compartimientos separados, representa un sistema de defensa única en la planta (Bones y Rossiter, 1996), debido a que las mirosinasas se encuentran separadas de los glucosinolatos en la planta en crecimiento, entrando en contacto solamente cuando el tejido vegetal sufre rupturas o es atacado por herbívoros. (Angelino y Jeffery, 2014)

El sistema de mirosinasa-glucosinato, está implicado en una serie de actividades biológicas que afectan a insectos herbívoros, plantas y hongos. El sistema característico del orden Capparales, incluye sustratos que contienen azufre, enzimas de degradación mirosinasas y cofactores (Bones y Rossiter, 1996).

La hidrólisis de glucosinolatos, es el proceso de escisión del enlace glucosídico por la mirosinasa, dando como resultado una molécula de glucosa y un tihidroximato-O-sulfato inestable que se reorganiza espontáneamente (Bones y Rossiter, 1996; Oerlemans *et al.*, 2006; Angelino y Jeffery, 2014; Becker, 2015), para producir compuestos biológicamente activos como por ejemplo isotiocianatos, tiocianatos, tionos, epitionitros y nitrilos, a partir del cual, los isotiocianatos e indoles en particular, han sido relacionados con propiedades anticancerígenas (Oerlemans *et al.*, 2006).

Asimismo, la formación de estos productos depende de varios factores. Entre los factores intrínsecos se puede citar, la coexistencia de la mirosinasa y cofactores como el ácido ascórbico, proteína epitoespecificadora (ESP), la estructura de la cadena del glucosinolato, sustrato o disponibilidad de iones ferrosos; y, como factores extrínsecos, el pH y la temperatura, pueden afectar la hidrólisis de glucosinolatos (Bones y Rossiter, 1996; Oerlemans *et al.*, 2006), algunos de estos compuestos están representados en la Figura 7.

Al respecto, los métodos de procesamiento, tales como el corte y cocción pueden influir en el grado de hidrólisis de glucosinolatos y la relación de los derivados producidos. (Rungapamestry *et al.*, 2006)

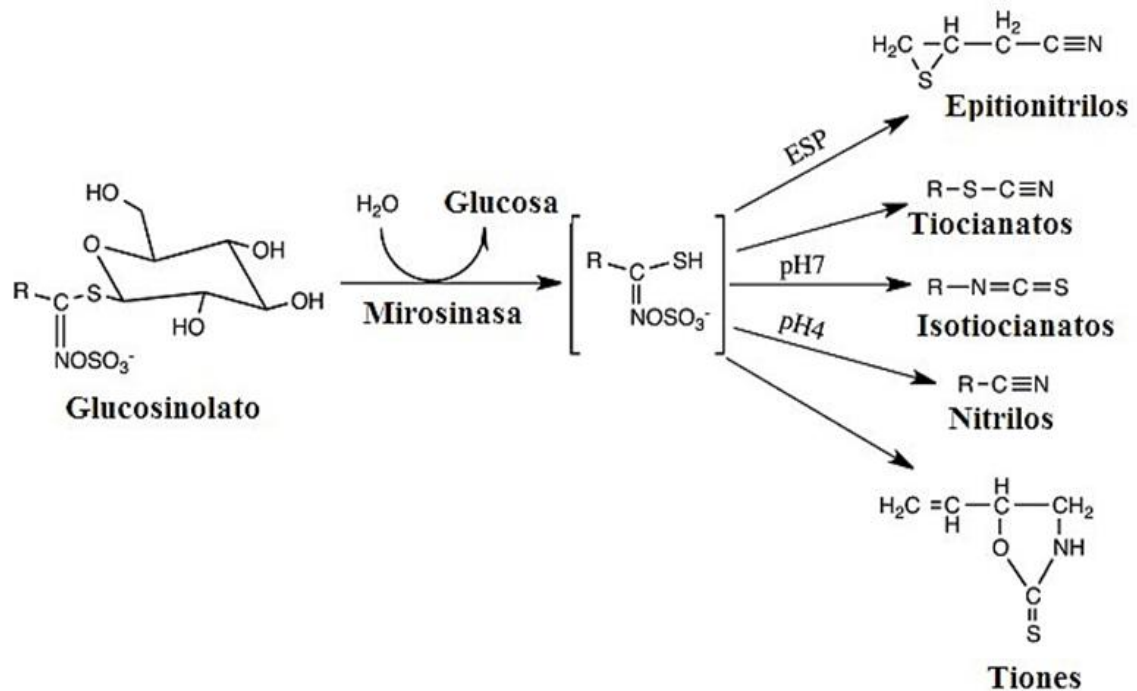


Figura 7. Hidrólisis de glucosinolato-mirosinasa y algunos de los compuestos formados bajo diferentes condiciones de pH y la influencia de las proteínas epitoespecificadoras (ESP)

Fuente: Adaptado de Bell y Waqstaff (2014)

2.2.1.14. Importancia de los productos de degradación de los glucosinolatos

Los glucosinolatos por sí solos no poseen actividad quimiopreventiva, son sus productos derivados (isotiocianatos o índoles) a los que se les atribuye dicha actividad. Ciertos isotiocianatos, especialmente los aromáticos, han demostrado ser potentes inhibidores de la tumorigénesis en varios tipos de cáncer y poseedores de efecto citoestático, selectivo y citotóxico en células cancerígenas humanas como la leucemia (Gutiérrez y Montano, 2002). Los mecanismos por los cuales los isotiocianatos actúan como inhibidores del cáncer en humanos, están encaminados a neutralizar un amplio número de carcinógenos y/o a suprimir la proliferación de células neoplásicas activas.

Los isotiocianatos causan la desintoxicación del carcinógeno antes de que se produzca la inducción de la carcinogénesis y actúan como agentes

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

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

Finalmente, cabe mencionar que el contenido de glucosinolatos varía según la especie, el clima, el tipo de suelo y la fase de desarrollo en la que se encuentra la planta (Collett *et al.*, 2014; Guillard y Allinson, 1988; Ciska *et al.*,2000 citado por Márquez, 2008). En este sentido, Ortega *et al.* (2006) y Ramallo *et al.* (2004), coinciden en que los tubérculos de mashua poseen un contenido de GSL superior al encontrado en otras plantas comestibles.

2.2.1.4. Tratamientos aplicados en el procesamiento de la mashua y su influencia sobre sus compuestos bioactivos

Los factores intrínsecos como la mirosinasa coexistente y sus cofactores como el ácido ascórbico, la proteína epitioespecífica (ESP) o los iones de hierro (Bones y Rossiter, 1996), y los factores extrínsecos como el pH y la temperatura (Ludikhuyze y Hendrickx, 2000), pueden afectar la hidrólisis de glucosinolatos. En este sentido, los métodos de tratamiento como el soleado, el cortado, el blanqueo o el secado, afectan el grado de hidrólisis de los glucosinolatos y la proporción de derivados producidos. (Verkerk *et al.*, 2009)

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

La transformación o procesamiento y conservación, es particularmente importante en las regiones montañosas de los Andes, donde los años son muy variables, con cultivos a veces abundantes y a veces pobres (Tapia, 2007), pero no hay trabajos de investigación previos sobre los efectos del procesamiento en el contenido de glucosinolatos y/o la actividad de mirosinasa en *Tropaeolum tuberosum*.

a) Soleado

Tapia (2007), argumentó que algunos de los procesos de transformación están destinados a causar cambios en la composición nutricional: un ejemplo

es el soleado de ocas y mashuas, que induce la transformación de parte de los almidones en azúcares en los mismos.

Al respecto, Dolores y Espín (1997), señalaron que la práctica andina generalizada; de exponer los tubérculos y las raíces a la luz solar directa, también se usa en la mashua para aumentar la dulzura y reducir los niveles de cianuro antes de cocinar. Sin embargo, Samaniego, (2010) argumenta contradictoriamente que, si el sol excede los cuatro días, la textura y el sabor cambian y se destruyen.

b) Tratamiento térmico por blanqueado

El tratamiento térmico por blanqueado, se realizó con el objetivo de terminar la limpieza del producto, inhibiendo la acción enzimática, fijando y preservando el color, reduciendo la carga microbiana, eliminando olores y sabores desagradables y luego mejorando las condiciones del material deshidratado, con este paso se rompe la pared celular del material, lo que facilita el proceso de evaporación. (Urresta, 2010)

El blanqueo puede desnaturalizar parcial o completamente la mirosinasa, destruir sus cofactores como el ácido ascórbico o la proteína epitioespecífica y/o reducir la concentración de glucosinolato por degradación térmica o enzimática o por lixiviación (Dekker *et al.*, 2000). En consecuencia, las concentraciones residuales de glucosinolato y la actividad de mirosinasa, los cofactores de mirosinasa y las condiciones del medio de hidrólisis como el pH y la temperatura durante el blanqueo (Ludikhuyze y Hendrickx, 2000), pueden afectar la naturaleza y la proporción de metabolitos de glucosinolato. producido durante el blanqueo, en los siguientes pasos del procesamiento y la posterior ingestión del tubérculo.

- **Blanqueado por microondas**

Se cree que el tratamiento con microondas, es una alternativa eficiente en la cocción de vegetales, debido a la baja cantidad de agua para cocinar (Oerlemans *et al.* , 2006). Sin embargo, de acuerdo con Vallejo *et al.* (2002), el blanqueo de brócoli en el microondas, dio como resultado una pérdida del 40 % de vitamina C y una pérdida del 74 % de glucosinolatos. En contraste con estos resultados, Verkerk y Dekker (2004), informaron un aumento del 78 % en el contenido total de glucosinolatos de repollo, después de cocinar en microondas durante 4,8 minutos a 900 W.

- **Blanqueado por ebullición**

Cortes, 1981 (Citado por Grau *et al.*, 2003), sostiene que la ebullición hace que los isotiocianatos se hidrolicen, eliminando el cianuro y mejorando el sabor. Los glucosinolatos y algunos de sus productos de descomposición, son solubles en agua y durante la ebullición; una proporción de estos compuestos se filtra en el agua de cocción (Rosa y Heaney, 1993). Estas pérdidas de glucosinolatos pueden ser incluso mayores al 50 %, sin embargo, parecen diferir entre cultivares, entre especies y dentro de ellas.

c) Tratamiento térmico por secado

Todos los pueblos tenían y están preocupados por tener suficientes reservas de alimentos para tiempos de escasez. Estos tiempos, requieren que haya reservas de alimentos secos que puedan almacenarse durante mucho tiempo: como granos y harina, y también como tubérculos y raíces procesados y/o secos. (Tapia, 2007)

Los cultivos en el mundo andino son estacionales, es decir, durante un período del año; su producción se acumula. En estos casos, el almacenamiento y la transformación de raíces y tubérculos, es una necesidad y en este

contexto, la deshidratación y el secado, son un medio útil para este propósito. (Fairlie *et al.*, 1999)

La deshidratación del material vegetal, es una de las formas más antiguas de protección de las plantas (Greensmith, 2000) y, a menudo se usa no solo para la conservación de vegetales, sino también como preparación previa para su uso posterior en la producción de alimentos o productos farmacéuticos. La ventaja de este paso en el procesamiento, es que ayuda a mantener la calidad nutricional del producto fresco, extiende la vida útil y, por lo tanto, aumenta su practicidad. Mrkic *et al.* (2010), informaron que el secado a 50 y 60°C; a una velocidad de 2,25 m./s, fue más favorable en términos de retención de glucosinolatos, mientras que 100°C causó pérdidas significativas.

2.2.15. Efecto anticancerígeno de los isotiocianatos

Muchos estudios han contribuido a la incorporación de agentes alimenticios como formas de remediación del cáncer. Las crucíferas están enriquecidas con varios componentes químicos que tienen efectos negativos en varias vías de células cancerosas debido, a sus propiedades anti propagativas y antitumorales (Royston y Tollefsbol, 2015). Extensos estudios epidemiológicos han descubierto, repetidamente, una relación inversa entre el consumo de plantas crucíferas y la incidencia de cáncer en varios órganos (Bhattacharya *et al.*, 2009). El consumo de estos vegetales es beneficioso en el sentido de que son precursores de glucosinolatos que dan lugar a isotiocianatos como el sulforafano e indoles como el indol-3-carbinol. Los isotiocianatos influyen directamente en las enzimas de biotransformación y, por lo tanto, modifican el metabolismo de los compuestos cancerígenos (Lawson *et al.*, 2015). También pueden actuar inhibiendo la proliferación celular e induciendo apoptosis. (Brown y Hampton, 2011)

La mayoría de los cánceres se caracterizan por la sobreexpresión de histona desacetilasas y metiltransferasas y una pobre expresión de los microARN. Tanto el indol-3-carbinol como el sulforafano, son inhibidores y reguladores de estos procesos, y la incorporación de estos compuestos hace que las líneas celulares cancerosas, se vean más saludables y normalizadas. Además, hay reducciones significativas en el crecimiento celular incontrolado, así como aumentos en la muerte celular programada mediante la incorporación de sulforafano e indol-3-carbinol. Muchos estudios revelan que las verduras crucíferas son herramientas esenciales para avanzar en la prevención del cáncer. (Royston y Tollefsbol, 2015)

Cabe resaltar, que las dietas ricas en brócoli, se han relacionado con una reducción en el riesgo de cáncer de próstata, que se ha atribuido al compuesto de sulforafano. Aunque el modo de acción del sulforafano se ha estudiado ampliamente en modelos animales y celulares, y se han propuesto varios mecanismos que pueden respaldar sus efectos protectores, la evidencia reciente de estudios de intervención en humanos, sugiere que el sulforafano está involucrado en una interacción compleja entre el estado Redox y metabolismo para dar lugar a un entorno tisular que no favorece la progresión del cáncer de próstata. (Traka *et al.*, 2014)

El isotiocianato de 3-butenilo, extraído con una pureza mayor a 90 por ciento de la mostaza roja, exhibió actividad anticancerígena entre las diversas líneas celulares de cáncer humano. Entre estos, las células de cáncer de próstata mostraron una gran sensibilidad a este compuesto. La vía implicada en la muerte celular, en las células de cáncer de próstata, se evaluó mediante una serie de experimentos y se concluyó que las células se sacrificaron después de la apoptosis. La potente actividad anticancerígena del 3-butenil isotiocianato, lo convierte en un candidato adecuado para estudios con un modelo animal (Vig *et al.*, 2009; Arora *et al.*, 2016). El modo de funcionamiento de este isotiocianato se muestra en la Figura 8.

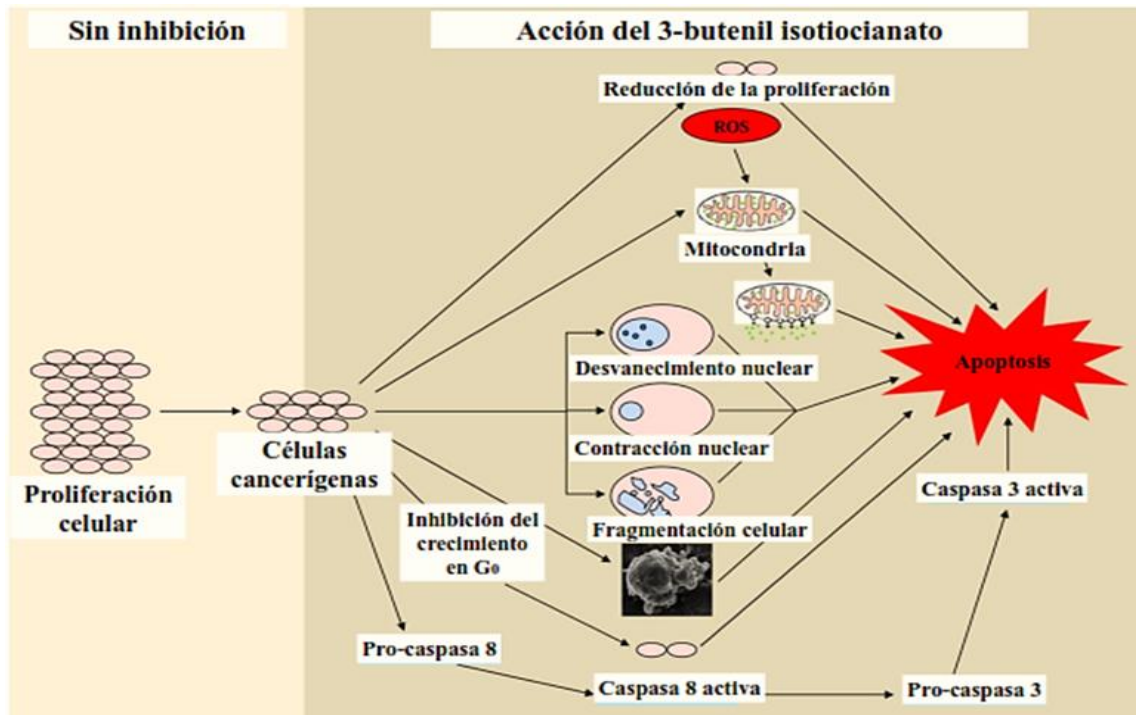


Figura 8. Mecanismo de acción del 3-butenil isotiocianato

Fuente: Adaptado de Arora *et al.*, (2016)

2.2.16. La liofilización

Es un proceso utilizado para conservar material biológico mediante la eliminación de agua de una muestra. Esto significa congelar la muestra primero y luego secarla al vacío, a temperaturas muy bajas. El proceso de liofilización es, una aplicación de un fenómeno físico llamado sublimación: la transición de una sustancia de estado sólido a un estado gaseoso, sin pasar por la fase líquida. Durante la liofilización, el agua de la muestra congelada se elimina como vapor de agua, sin descongelar primero la muestra. La liofilización requiere una muestra congelada. Si el punto de congelación de la muestra se suprime, por la presencia de disolventes, los disolventes deben eliminarse con una concentración de vacío antes de la liofilización, para que la muestra pueda congelar sólidos. (Williams, 2016)

Así mismo, la liofilización es un método que minimiza los cambios físicos en el alimento que normalmente acompañan a la deshidratación, manteniendo inalterados los componentes termolábiles (proteínas, sabores, colores, nutrientes). Además, disminuye los procesos de la oxidación. Consta de cuatro etapas básicas; pretratamiento: congelación, secado primario (sublimación del hielo) y secado secundario (desorción de humedad). (*Ellab Validation Solutions*, 2018)

El pretratamiento puede incluir cualquier procedimiento como concentración o dilución de compuestos, adición de estabilizantes al producto o puede pasar directamente al proceso de la congelación a temperaturas bajo 0°C, suficientemente bajas, para permitir su completa solidificación; luego se procede a adecuar la presión en la cámara hasta que sea menor que la del vapor del hielo (0,097mm Hg a -40°C). Una vez alcanzada esta presión, se aplica calor a los estantes, lo que proporciona la energía necesaria para la sublimación del hielo; a medida que avanza el secado, se observa cómo disminuye el espesor de la capa congelada y aumenta el de los sólidos parcialmente secos; esta es la llamada fase del secado primario. Cuando el hielo se ha eliminado, se necesita un tiempo de secado adicional para eliminar el agua residual que se adsorbe o se atrapa en la matriz sólida; finalizando así con el secado secundario. (Vecchio, 2010)

La liofilización se realiza por debajo del punto triple y al vacío (0,0098°C y 4,58mm Hg), donde el hielo, el agua y el vapor de agua coexisten en equilibrio, haciendo que el hielo se sublime. El proceso incluso puede ocurrir a la presión atmosférica, siempre y cuando la presión de vapor de agua esté por debajo de 4,58mm Hg (Vecchio, 2010). El objetivo relevante en la aplicación del método de liofilización, es asegurar que los requerimientos de calidad como el potencial químico o biológico original después de la reconstrucción, se cumpla no solo inicialmente, sino durante toda la vida útil del producto. De todas las operaciones de secado, la liofilización es el más costoso, tanto en la inversión de capital como en los gastos operativos y de mantenimiento

2.2.17. Cromatografía

Sacristán *et al.*, (2011), precisan que el término cromatografía deriva de las palabras griegas *chroma* (color) y *graphein* (escribir), que se refiere al hecho de que los pigmentos vegetales separados se revelan como bandas de colores. Sin embargo, también se indicó que las sustancias incoloras podrían separarse por el mismo procedimiento. Sin duda, la cromatografía es uno de los métodos de separación más poderosos jamás descubiertos. La Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) lo define como:

Un método utilizado originalmente para separar los componentes de una muestra donde los componentes se dividen en dos fases, una de las cuales es estacionaria, mientras que la otra se mueve. La fase estacionaria puede ser una sustancia estacionaria, un líquido sobre un soporte sólido o un gel. La fase estacionaria puede contener una columna, estirada en forma de capa o dispuesta en forma de película. El móvil puede ser gaseoso o líquido.

– Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)

Gómez y Serrano (2009), señalan que la cromatografía líquida de alto rendimiento, es una técnica cromatográfica utilizada para separar componentes con diferentes interacciones químicas, entre el analito y la columna cromatográfica. Básicamente, es un sistema que consiste en un contenedor de fase móvil, bomba, inyector, columna de separación y detector. El analito se pasa a través de una columna en la fase estacionaria que bombea la fase móvil líquida a alta presión. La solución por analizar se ingresa en pequeñas cantidades en la corriente de la fase móvil y allí se retarda mediante interacciones químicas con la fase estacionaria al pasar la columna. El retraso se llama tiempo de retención, exclusivo de cada analito. Depende del tipo de analito, la fase estacionaria y la composición de la fase móvil del analito, de la

fase estacionaria y de la composición de la fase móvil. Ellos también mencionaron que los solutos más comunes utilizados en la fase móvil, son combinaciones de agua purificada con líquidos orgánicos, siendo los más comunes el metanol y el acetonitrilo, las sales y los tampones se usan a menudo para contribuir a la separación de los componentes. El ácido trifluoroacético también se usa para actuar como un agente de apareamiento iónico. Estas combinaciones introducen el concepto de elución en gradiente. Consiste en la variación de la composición en la fase móvil, para adaptarse a los diferentes analitos y lograr mejores resultados. El gradiente separa la matriz de analito en función de la afinidad del analito a través de la composición de la fase móvil. Cada analito tiene una gradiente de evasión (elución) óptimo para obtener la máxima separación de picos en el detector.

– Cromatografía en fase normal

Fue el primer tipo de HPLC que separa los analitos en función de la polaridad. Este método utiliza una fase estacionaria polar y una fase móvil no polar (He y Pistorius, 2017; Hernández y Ruíz, 2008 y Christian, 2009) que se utiliza cuando el analito es polar. El análisis polar es mantenido por la fase estacionaria polar. La adsorción aumenta con la polaridad del analito y la interacción entre el analito y la fase estacionaria, esto aumenta el tiempo de elución. La fuerza de la interacción depende no solo de grupos funcionales, sino también de factores estéricos e isómeros estructurales. El uso de solventes polares reduce el tiempo de retención, mientras que los solventes hidrofóbicos aumentan el tiempo de retención. Algunos solutos polares interactúan con la fase estacionaria e inactivan la columna. (Gómez y Serrano, 2009)

– Cromatografía de fase inversa

Este tipo de HPLC es el más común. En esta técnica, se utilizan una fase estacionaria relativamente no polar y una fase móvil moderadamente polar.

(Hernández y Ruíz, 2008 y Christian, 2009). La fase estacionaria típica se trata con silicio con RMe_2SiCl , donde R es una cadena lineal con un grupo alcalino (Hernández y Ruíz, 2008), como una fase móvil polar, por ejemplo, metanol, acetonitrilo, tetrahidrofurano, agua o con frecuencia se utiliza una mezcla de agua con uno de los solventes orgánicos (Christian, 2009). El principio básico de este método, se basa en las interacciones de solvente polar, analito no polar y fase estacionaria no polar.

2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

Calor

Energía interna en tránsito. Fluye de una parte de un sistema a otro, o de un sistema a otro, en virtud únicamente de una diferencia de temperatura. Durante el proceso, no se conoce el calor. La magnitud conocida durante el proceso, es la velocidad de calor Q , que es una función del tiempo y solo puede determinarse cuando ha transcurrido el tiempo. (Zemansky, 1985)

Glucosinolatos

Aniones orgánicos solubles en agua que incluyen aproximadamente 120 compuestos, cuya estructura química corresponde a ésteres β -tioglucósidos N-hidroxisulfato o ésteres (Z)-N-hidroximinosulfato o S-lucopiranosil tiohidroximatos. Poseen un átomo de azufre unido a una β -D-glucopiranososa y una cadena lateral sobre el carbono α del grupo imino. (Fahey, *et al.*, 2001)

Glucosinolatos cianogénicos

Grupos metabólicos secundarios de las plantas, que están relacionados directamente con los glucosinolatos. (Rinc, 2014)

Liofilización

Proceso de secado mediante sublimación. Se ha perfeccionado con el fin de disminuir las pérdidas de los compuestos responsables del sabor y el aroma en los alimentos, los cuales se pierden durante los procesos convencionales de secado. El proceso de liofilización consta principalmente de dos pasos: el primero consiste en congelar el producto; y, en el segundo paso, el producto es secado por sublimación directa del hielo bajo presión reducida. (Orrego, 2008)

Isotocianatos

Producto químico Grupo $-N=C=S$, formado mediante la sustitución del oxígeno en disocianato Grupo con un azufre son potentes compuestos electrofílicos que reaccionan rápidamente, bajo condiciones fisiológicas, con algunos compuestos nucleofílicos como aminas, aminoácidos, alcoholes y agua. (Raton, 2015; Kempson, 2009, p.198)

Mashua

Se le conoce también *añu*, *isaño* o *cubio*, es una planta herbácea perenne, originaria de la región andina, así mismo, su hábitat de distribución natural se extiende desde Colombia hasta el norte de Argentina, entre los 2 400 hasta los 4 300 msnm, y desde hace algunas décadas se cultiva también en algunas regiones de Nueva Zelanda y Canadá, (Manrique *et al.*, 2013). La mashua tienen un elevado contenido de proteínas (mayores a los de la papa, la oca y el olluco), carbohidratos, fibra, ácido ascórbico (vitamina C) y calorías. También contiene una elevada concentración de glucosinolatos aromáticos que, al ser hidrolizados, se transforman en isotiocianatos, compuestos químicos responsables de otorgar el típico sabor picante a los tubérculos. (Manrique *et al.*, 2013)

Pico cromatográfico

Representa una función gaussiana, que es una distribución de las moléculas que fluyen a lo largo del tiempo. La estimación y valorización del pico conlleva la evaluación del número de moléculas de cada soluto (cada pico) y, por tanto, la cantidad o concentración de la misma. (Díaz, 2011)

Mirosinasa

Enzima que se cree que es un sistema de defensa química que se activa al daño en los tejidos de las plantas y actúa como primera barrera química, para disuadir a un amplio espectro de patógenos. (Koroleva *et al.*, 2000)

Temperatura

La temperatura de un sistema es una propiedad que determina si un sistema se halla o no en equilibrio térmico con otros sistemas. La temperatura en todos los sistemas en equilibrio puede representarse mediante un número. El establecimiento de una escala de temperaturas consiste simplemente en la adopción de un conjunto de reglas para asignar un número a un conjunto de isotermas correspondientes y un número distinto a un conjunto diferente de isotermas correspondientes. (Zemansky, 1985)

Tiempo

Es una dimensión física fundamental, que puede ser cuantificado utilizando operaciones repetidas, entendiéndose como una operación al proceso que se repite de una manera igual e indefinidamente. La unidad de tiempo escogida es el segundo, éste último se entiende como la 86 400 av parte del día solar medio. (Zemansky, 1985)

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1. TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

3.1.1. Tipo de investigación

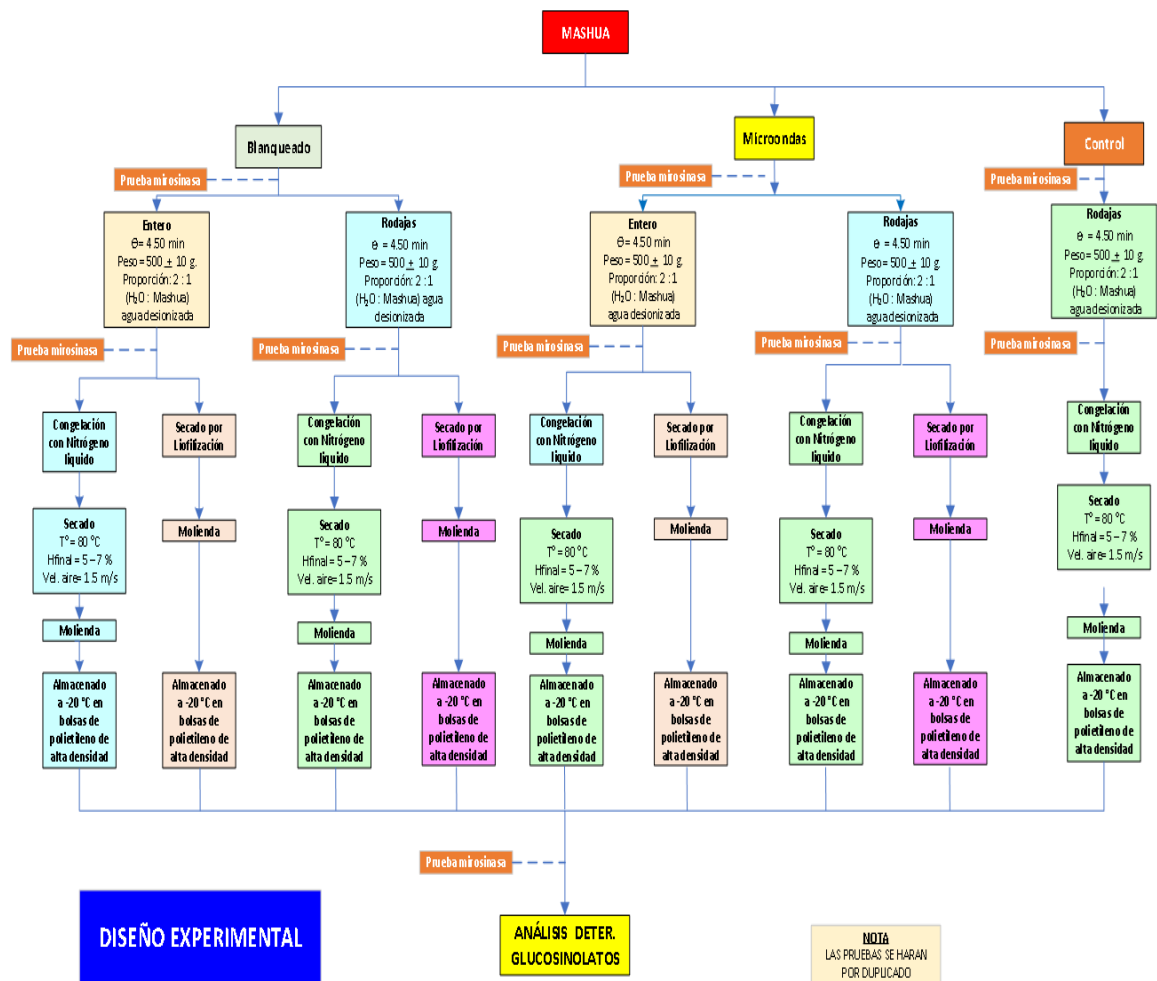
El estudio fue de tipo experimental, ya que, según Hernández, Fernández y Baptista, (2010), “se manipulan deliberadamente una o más variables independientes (supuestas causas) para analizar las consecuencias de esa manipulación sobre una o más variables dependientes (supuestos efectos), dentro de una situación de control para el investigador”. Según Montgomery, (2004), “es una prueba o serie de pruebas en las que se hacen cambios deliberados en las variables de entrada de un proceso o sistema, para observar e identificar las razones de los cambios que pudieran observarse en la respuesta de salida”. El tipo de investigación, debido a los factores analizados y el efecto de su interrelación; se considera además de experimental, documental y de desarrollo.

Es estudio corresponde a un nivel explicativo, ya que define el comportamiento entre las variables; es decir, los compuestos funcionales (GLS) y la actividad de la mirosinasa y su influencia en la degradación de los GLS de la mashua.

3.1.2. Diseño de investigación

El diseño de investigación fue experimental, basado en la determinación de las concentraciones de los compuestos glucosinolatos totales e individuales, presentes en mashua liofilizada o deshidratada. Los datos experimentales

fueron obtenidos por duplicado, mediante métodos cuantitativos cromatográficos (HPLC), con metodologías ya establecidas. La variedad morada de mashua fue sometida a tratamientos de exposición al sol, ebullición, microondas y liofilización, donde se determinó la interrelación entre las variables propuestas, mediante análisis comprobables, medibles y replicables, basados en los resultados estadísticos; que sustentan las respuestas a las hipótesis planteadas de manera científica.



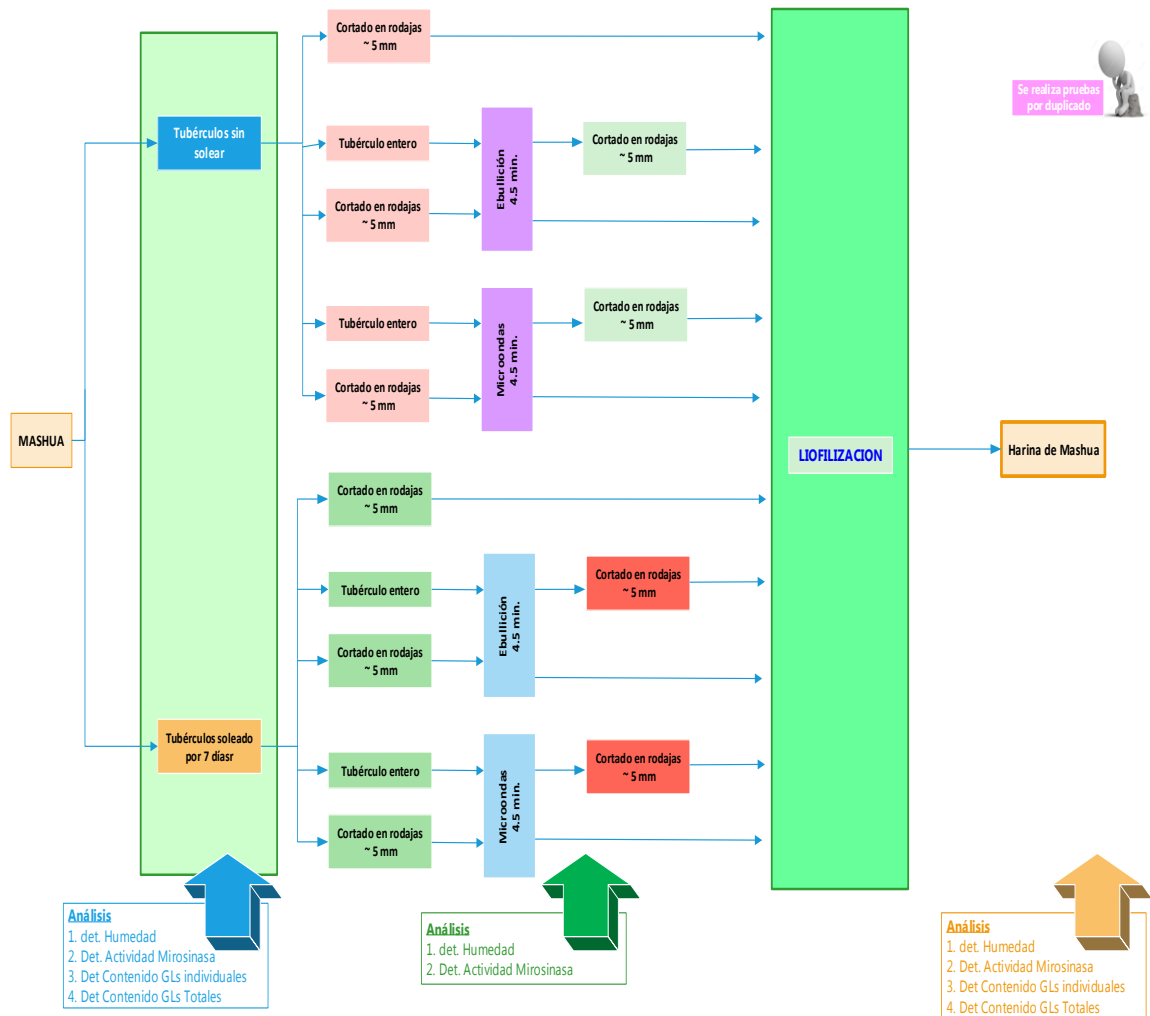


Figura 9. Diseño experimental

Fuente. Elaboración propia

3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA

3.2.1. Población

La población estuvo constituida por la especie de mashua morada (*Tropaeolum tuberosum*), proveniente de la provincia de Yunguyo del departamento de Puno.

3.2.2. Muestra

Estuvo constituida por 10 kg de mashua de eco tipo morada, a la que se le aplicó 20 tratamientos, diferentes: de blanqueado, microondas, deshidratación y liofilización.

3.3. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Indicador	Escala
V.I Temperatura	°C	Intervalo
VD Glucosinolatos	[] de glucosinolatos (μmol^{-1} BS)	Intervalo

3.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA RECOLECCIÓN DE DATOS

3.4.1. Técnicas

En la presente investigación se utilizó el método descriptivo para poder describir la Evaluación del Efecto del Procesamiento por calor sobre el contenido de glucosinolatos de mashua (*Tropaeolum tuberosum*) deshidratada por liofilización, con la finalidad de evaluar los tipos y el contenido de glucosinolatos además de la actividad de la mirosinasa de la variedad morada de mashua fresca. Partiendo de una revisión bibliográfica se seleccionó el procedimiento de laboratorio a aplicar en la determinación de estos, el cual una vez aplicado y obtenidos los resultados se procedió a describir los parámetros que afectan el procesamiento mediante calor sobre el contenido de glucosinolatos de mashua. La técnica usada se detalla a continuación:

a. Cromatografía líquida de alta presión (HPLC):

La cromatografía líquida de alta presión es una técnica de separación basada en la distinta retención de los componentes de una muestra disueltos en la fase móvil al pasar por la fase estacionaria. Se caracteriza por la elevada presión de operación necesaria para conseguir una velocidad óptima de la fase móvil. La interacción entre el soluto de la fase móvil y la fase estacionaria puede ser modificada eligiendo diferentes disolventes y fases estacionarias.

3.4.2. Instrumentos

Material de laboratorio:

a) Material de vidrio

- Beakers de 50 y 100 ml.
- Embudos
- Erlenmeyers
- Fiolas de 5, 10, 25, 50, 100, 250 y 500 ml

- Frascos color caramelo de 10, 30 y 50 ml
- Matraz aforado
- Placas Petri
- Probetas de 5, 10, 25, 50, 100, 250 y 500 ml
- Pipetas de 1, 2, 5 y 10 ml
- Tubos de ensayo convencionales y con tapa rosca
- Viales para HPLC

b) Equipos y aparatos

- Agitador Vortex (*VELP scientific* Modelo F202A0175, Italia)
- Balanza analítica (OHAUS Modelo AR2140, EEUU)
- Balanza de Presión (BL6 Sartorius, EEUU)
- Baño María (GFL Modelo 1083, Alemania)
- Bomba de vacío (Vacubrand Modelo ME2C, Alemania)
- Congeladora (Electrolux, Perú)
- Centrifuga (Rotofix 32 Hettich Zentrifugen, Alemania)
- Cocina eléctrica (Practika, Perú)
- Equipo de Filtración
- Estufa (TZ4T Autonics)
- Estufa de vacío (VWR 1400 E-2, EEUU)
- Horno microondas (Samsung Modelo N° AME 610B, Corea del Sur)
- Licuadora (Oster, EEUU)
- Módulo de Separación HPLC Shimadzu modelo Nexera X2 equipado con auto inyector, con sistema acoplado y Software Empower
- Phmetro (HANNA)
- Refrigerador (LG, Perú)
- Secador de cabina (Fravill, Alemania)
- Selladora (Sealer Modelo KF-300 H, EEUU)
- Sonicador (Branson Modelo 3510, EEUU)

- Speed Vac System (Labconco, EEUU)

c) Otros materiales

- Micropipetas de 5-50 μ L, 100-1000 μ l y 20-200 μ l (Boeco)
- Papel filtro (Whatman)
- Tamiz Tyler N° 18 (0,85)
- Termómetro (Hanna)
- Tubos de centrifuga (Centerion)
- Tubos eppendorf (Eppendorf)
- Tubos Falcom de 15 y 50 mL. (Centurion)
- Vasos de centrifuga (Centurion)
- Vertex Plus Saule 100 x 4.6 mm Eurospher II 100-5, C-18
- Shield RP 18, 5 μ m, columna de 4,6 x 250 mm (Waters)
- Equipo de destilación de agua modelo PURELAB flex (with UV, Pirification Pack and TOC) (Millipore)

d) Reactivos

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

3.4.3. Métodos

- **Evaluación de la influencia de los tratamientos de blanqueo y deshidratación de mashua morada.**

Se evaluó la influencia de los tratamientos de blanqueo y deshidratación por liofilización en el momento del corte y después de los tratamientos de blanqueo y liofilización en relación con la actividad de mirosinasa. Cada muestra blanqueada, se dividió en dos subgrupos, uno de los cuales se molió después de congelar con nitrógeno líquido y se almacenó a -20°C en bolsas de polietileno de alta densidad, bien cerradas en el momento del análisis; mientras que el otro, se secó como se detalla en la siguiente sección. Todos los tratamientos se realizaron por duplicado.

En las muestras procesadas, se determinó la humedad, la materia seca y la actividad de mirosinasa.

- Determinación de humedad y materia seca

Se empleó el método gravimétrico porcentual Método 920.151 (AOAC, 1995), en el cual, un peso determinado de muestra es secado en estufa a presión de vacío hasta obtener un peso constante. El contenido de humedad, se calculó por diferencia de pesos y la materia seca se calculó por diferencia del porcentaje de humedad respecto al 100 por ciento.

- Determinación del contenido de glucosinolatos por HPLC

Se utilizó el método descrito por Grosser y van Dam, (2017):

A. Preparación de soluciones necesarias para la extracción de glucosinolato

- Se preparó 500 mL de metanol al 70 % (MeOH) en agua (ultrapura), en una botella de vidrio.
- Se preparó 20 mM de acetato de sodio (NaOAc) (pH = 5.5) agregando 0,82 g de NaOAc o 1,36 g de NaOAc x 3 H₂O en 500 ml de agua; se ajustó el pH con cloruro de hidrógeno (HCl). Luego se guardó el NaOAc en el refrigerador.
- Luego se preparó el material de la columna, mezclando 10 g de gel de dextrano reticulado (tipo G-25) con 125 ml de agua ultrapura, y se almacenó la mezcla resultante en un refrigerador (4°C).

B. Preparación de la solución de sulfatasa

- Se disolvió 10,000 unidades de arilsulfatasa (tipo H-1 de *Helix pomatia*) en 30 ml de agua ultrapura y se agregó 30 ml de etanol absoluto (EtOH). Se mezcló la solución y se transfirió a un tubo de centrifugación de 250 ml o a varios tubos más pequeños, según la disponibilidad.
- Se centrifugó la mezcla a 2.650 xg durante 20 min a temperatura ambiente (TA). Luego se transfirió el sobrenadante (s) a un vaso de precipitados; se añadió 90 ml de EtOH y se mezcló. Seguidamente, se centrifugó la mezcla en uno o más tubos de centrifugación a 1.030xg durante 15 min a temperatura ambiente.
- Luego se desechó los sobrenadantes. Seguidamente se disolvió y se combinó los gránulos en un total de 25 ml de agua ultrapura. Luego se agitó bien en vórtex, y se dispensó en tubos de 1 ml y se almacenó en un congelador a -20°C.

C. Preparación de la solución de referencia de sinigrin

- Se pesó alrededor de nueve mg de monohidrato de sinigrina con una precisión de 1 μg (por *ejemplo*, 8 769 mg). luego se transfirió a un matraz volumétrico de 10 ml y se disolvió el monohidrato de sinigrina en 10 ml de agua ultrapura.
- Se calculó la molaridad de la solución madre y se preparó cinco referencias de sinigrina entre 50-750 μM diluyendo la solución madre.
- Se dispensó las diferentes referencias de sinigrina en tubos de reacción de 1,5 ml y se congeló a 20°C; luego, se incluyeron una serie de cinco referencias de sinigrin en cada lote de extracción. Se utilizó los valores de molaridad correctos para las referencias de sinigrina utilizadas actualmente al calcular las concentraciones.

D. Extracción de Glucosinolatos

El proceso seguido consistió:

- Se pesó material vegetal liofilizado y finamente molido (generalmente 50 - 100 mg de peso seco; las concentraciones finales de glucosinolato en el extracto deben estar en el rango de la curva de referencia) a 0,1 mg más cercano en 2 ml, etiquetado, redondo - Tubos de reacción de fondo. Se agregó dos bolas pequeñas de metal (3 mm de diámetro) como retardantes de ebullición a cada tubo.

Para las muestras frescas, se congelo instantáneamente y luego se molieron bajo congelados con nitrógeno líquido y se mantuvieron congelados hasta la extracción. Para ello, se aumentó la cantidad de material pesado para extracción y el porcentaje de MeOH en el líquido de extracción a 85 %, para compensar la dilución por el agua en los materiales.

- Se pipeteó 1 ml de alcohol metílico (MeOH) al 70 % en cada tubo y se agitó en vórtex brevemente. Se cerró los tubos con tapas de seguridad antes de colocarlos, lo más rápido posible, en un baño de agua caliente (90-92°C) durante unos minutos (~ 5 min), hasta que el 70 % de MeOH simplemente hierva.
- Se colocó los tubos de muestra en un baño de ultrasonidos durante 15 min. Mientras tanto, se sacó la sulfatasa y las cinco muestras de referencia de sinigrina del congelador, para descongelarlas a temperatura ambiente.
- Después de la ultrasonificación, se centrifugó los tubos de muestra a 2 700 xg en una centrífuga de mesa de trabajo durante 10 minutos a temperatura ambiente; Debe formarse un pellet en cada tubo. Seguidamente, se agregó los sobrenadantes a las columnas etiquetadas y se pipeteó las cinco muestras de referencia, en columnas separadas.
 - a. Mientras pipetean los sobrenadantes, se mantiene la punta sobre el pellet, para evitar pipetear los materiales de la planta. Se tuvo en cuenta que, cuando se utilizan muestras secas, el volumen del sobrenadante será inferior a 1,0 ml.
- Se agregó 1 ml de MeOH al 70 % a los gránulos restantes en los tubos de muestra y se agitó los tubos antes de colocarlos en un baño de ultrasonidos durante 15 minutos. Se centrifugó los tubos nuevamente, como en el paso anterior, y se agregó los sobrenadantes a las columnas respectivas; Debido a las propiedades del material de la columna, el grupo sulfato cargado negativamente de los glucosinolatos, se mantuvo específicamente en la columna.
- Se lavó las columnas con los extractos en tres pasos secuenciales.

- b. Se pipeteó 2 x 1 ml de MeOH al 70 % en cada columna y se esperó a que la columna seque, antes de agregar el siguiente 1 ml; esto elimino más compuestos apolares de los extractos (v.g. clorofila).
 - c. Se enjuagó el MeOH agregando 1 ml de agua ultrapura a cada columna.
 - d. Se pipeteó 2 x 1 ml de tampón NaOAc 20 mM en cada columna, para crear las condiciones óptimas para la reacción de sulfatasa.
- Se sacó la rejilla con las columnas de la bandeja de desechos y se secó los pies de la rejilla con un pañuelo de papel. Seguidamente, se colocó la rejilla sobre el bloque con viales y tubos etiquetados, asegurándose de que cada punta de columna estaba en el tubo de 2 ml correspondiente, etiquetado.
 - Se agregó 20 µl de solución de sulfatasa a las columnas, y nos aseguramos de que la sulfatasa llegue a la superficie del material de la columna. Seguidamente, se pipeteó 50 µl de tampón NaOAc en cada columna para eliminar la sulfatasa, y posteriormente se cubrió las columnas con papel de aluminio y dejó reposar toda la noche, lo que permitirá, debido a las actividades de la sulfatasa, eliminar el grupo sulfato, liberando los desulfoglucosinolatos de la columna para que puedan eluir con el agua.
 - Al día siguiente, eluyó los desulfoglucosinolatos pipeteando 2 x 0,75 ml de agua ultrapura en cada columna. Cuando todas las columnas se secaron, se levantó el soporte de la columna y retiró de los tubos de reacción.
- e. Se tapó los tubos (asegúrese de que haya agujeros en las tapas) y congelaron en nitrógeno líquido o en un congelador a -80°C, durante 30 minutos. Seguidamente, se congelaron las muestras durante 12-

24 h (dependiendo del número de muestras y la capacidad del liofilizador) para eliminar toda el agua.

- Después de la liofilización, se volvió a disolver el residuo en un volumen exacto (generalmente 1,0 ml) de agua ultrapura, y se transfirió las muestras y las cinco referencias de Sinigrin, a viales de HPLC etiquetados. Se Mantuvo las muestras en un refrigerador (4°C) por hasta dos semanas o en su defecto en un congelador (-20°C) por hasta un año, antes de analizarlas con HPLC.
- Se dejó secar las columnas de vidrio bajo el capó durante la noche y desecharon cuando estuvieron secas. Seguidamente, se recuperó las bolas de metal de los tubos de muestra utilizados para reutilizarlos.

E. Mediciones de HPLC de muestras extraídas

- Se separó los glucosinolatos en una columna C 18 de fase inversa (4,6 x 150 mm, 3 µm, 300 Å) con un gradiente de acetonitrilo-agua (Anexo 13 y Tabla 1), Tabla 1). y un flujo de 0,75 ml/min y una temperatura de la columna de 40°C. seguidamente se realizó la detección y cuantificación a 229 nm.
- Se midió las referencias de Sinigrin en la misma columna, pero con un método de gradiente adaptado para reducir el uso de solventes (ver Anexo 13, Tabla 2). Seguidamente, se comenzó con la inyección de las cinco referencias de Sinigrin, empezando la referencia con la concentración más baja. Luego se inyectó las muestras, incluida una inyección de metanol (en blanco) después de cada décima muestra, para limpiar la columna y evitar el arrastre de picos.

F. Identificación y cuantificación de glucosinolatos.

1) Identificación

- a. Se compararon los espectros UV y los tiempos de retención de los picos en las muestras con referencias de glucosinolatos puros disponibles comercialmente o las referencias bibliográficas.

2) Cuantificación

- a. Se Integró el área bajo los picos de las cinco referencias de sinigrin y las muestras.
- b. Luego se calculó una curva de calibración de las cinco referencias de sinigrina medidas en función del área integrada. Se usó la ecuación de la línea de regresión (Ecuación 1) para calcular la cantidad interpolada de glucosinolatos (Ecuación 2).
- c. Seguidamente para calcular la concentración de los diferentes glucosinolatos, se multiplicó la cantidad interpolada (x) por el factor de respuesta (M) para la detección a 229 nm Los factores de respuesta de consenso de los desulfoglucosinolados más comúnmente detectados (Anexo 16 y Tabla 3).
- d. Luego, para calcular la cantidad final de glucosinolatos (x_t) en la muestra, se tiene en cuenta el factor de dilución (D) y la masa de muestra (w) utilizada para el análisis (Ecuación 3).

$$(Ec. 1) \quad y = mx + C$$

$$(Ec. 2) \quad x = \frac{y - C}{m}$$

$$(Ec. 3) \quad x_t = \frac{X * M * D}{W}$$

y = área del pico

m = pendiente de la curva de regresión de referencia de 5 puntos

c = la intersección de la línea de regresión con el eje y

x = cantidad de glucosinolatos en el extracto

x_t = concentración de glucosinolatos en la muestra de plantas

D = factor de dilución

M = factor de respuesta para la detección a 229 nm de Buchner (1987) o Brown *et al.*, (1993)

w = masa de la muestra utilizada para la extracción.

– Fórmulas, procesamiento y análisis de datos

Empleadas para la cuantificación:

a. Contenido de glucosinolatos

$$[GSL] = \frac{(A - 3900) * V_f * V_{ext} * FR * F_d * 10^5}{17900000 * V_{col} * W_{mta} * MS * PM}$$

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

Donde:

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

b. Actividad mirosinasa.

$$MYR = \left[\left(\frac{A_{NI} - 3900}{17900000} \right) * V_{Bl} - \left(\frac{A_{Trat} - 3900}{17900000} \right) * \frac{V_{ext} * F_d * 10^8}{W_{mta} * V_{col} * MS * PM * t_{Rx}} \right]$$

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

Donde:

- MYR: Actividad Mirosinasa (nmol/gBS.min)
- ABl: Área HPLC del Blanco
- ATrat: Área HPLC del Tratamiento
- Wmta: Peso de muestra utilizado para preparar el extracto (g.)
- Vext: Volumen del extracto enzimático (ml)
- Vcol: Volumen añadido a la columna (ml)
- VfBl: Volumen final del Blanco (ml)
- VfTrat: Volumen final del Tratamiento (ml)
- MS: Contenido de Materia Seca
- PM: Peso Molecular (g/mol)
- tRx: Tiempo de Reacción Enzimática (min)
- Fd: Factor de Dilución.

3.5. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

Los resultados son presentados en tablas y gráficos y sometidas a un Análisis de Varianza y a la Prueba de Duncan y Tukey para comprobar las diferencias entre las medias, a un 95 % de confianza, para lo cual se utilizó software estadístico statgraphics Centurion XV versión 15.2 (StatPoint Inc., Warrenton, Virginia, EE. UU.) y programa estadístico INFO STAT versión libre 2018.

CAPÍTULO IV

MARCO FILOSÓFICO

La investigación se realizó a través de un diseño transeccional o transversal, empleándose el procedimiento de comparaciones reflexivas y experimentales, ya que se ha determinado que los glucosinolatos son un tipo de compuestos fitoquímicos que, al igual que otros compuestos bioactivos, son sustancias muy lábiles que se degradan fácilmente por la luz, el calor, enzimas, etc. Dada la importancia de estos compuestos en la prevención de ciertos tipos de cáncer que tienen relación con la contaminación ambiental, resulta esencial definir los factores que influyen sobre su contenido y su distribución. El sulforafano, el isotiocianato derivado de glucorafano, presenta propiedades anticancerígenas (Zhang *et al.*, 1994, Keck y Finley, 2004) Indol-3-carbinol, un derivado de glucobrasicina, también tiene propiedades anticancerígenas (Choi *et al.*, 2010), además, isotiocianato de fenetilo puede bloquear la conversión de varios agentes carcinógenos a sus formas cancerígenas (Hecht, 2000).

Es bajo este contexto que, desde el punto de vista nutricional humana, los tiocianatos han sido estudiados en detalle y se considera que son los principales responsables de la acción anticancerígena (Conaway *et al.*, 2000, Zhang *et al.*, 2006 y Mithen *et al.*, 2010). Estos compuestos pueden inducir la formación de enzimas de desintoxicación de fase II que protegen contra los agentes carcinógenos. Uno de los más importantes inductores de este tipo de enzimas de fase II, es el isotiocianato de bencilo, (Nilsson *et al.*, 2006) comúnmente conocido como glucotropaeolin. Por tanto, la variación cualitativa y cuantitativa puede deberse a factores genéticos y agroambientales. Asimismo, los tratamientos efectuados durante la conservación tras la recolección, así como de las distintas técnicas de procesado y preparación del alimento, van a influir en la estabilidad y disponibilidad de estos compuestos beneficiosos.

CAPÍTULO V

RESULTADOS

5.1. IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE GLUCOSINOLATOS

5.2.2. Identificación y cuantificación de glucosinolatos en Mashua fresca morada, sin procesamiento

- Identificación de glucosinolatos

Tabla 3

Clases de glucosinolatos identificados en mashua morado fresca

N°	Nombre sistemático	Nombre trivial	Clase
1	5-metilsulfinilpentil glucosinolato	Glucoalisina	Alifático
2	4-hidroxibencil glucosinolato	Glucosinalbina	Aromático
3	3-indolmetil glucosinolato	Glucobrasicina	Indólico
4	Bencil glucosinolato	Glucotropaeolina	Aromático
5	4-metoxibencil glucosinolato	Glucoaubrietina	Aromático

Fuente: elaboración propia

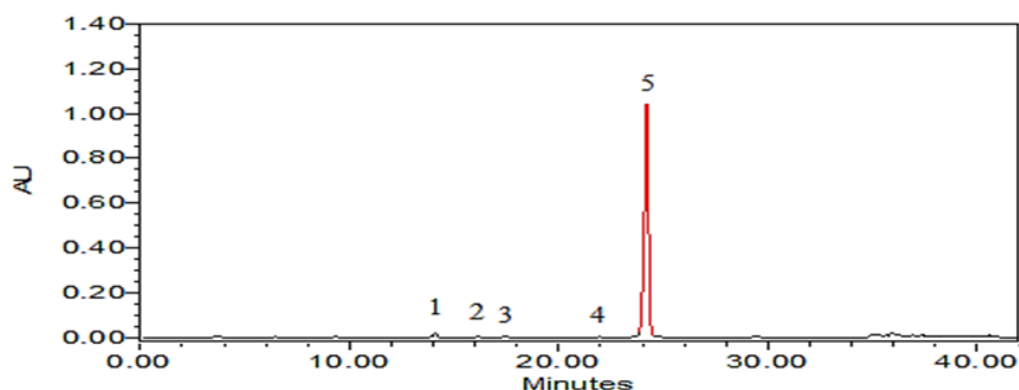


Figura 10. Perfil del Cromatograma HPLC de glucosinolatos en mashua fresca morada.

Fuente: elaboración propia

Interpretación

La mashua fresca morada (control) fue analizada por su perfil y contenido de glucosinolatos (Figura 10); donde podemos determinar, por los tiempos de retención (tr), la presencia de cinco glucosinolatos los cuales se muestran en la Tabla 4; atendiendo a su clase se identifican como un alifático, un indólico y tres aromáticos. Cabe resaltar que esta especie es muy característica por estos metabolitos secundarios.

Estos glucosinolatos corresponden a tres de naturaleza aromática: 4-hydroxybenzyl (glucosinalbin), benzyl (glucotropaeolin), y 4-methoxybenzyl (glucoaubrietin); uno de naturaleza alifática: 5-methylsulfanylpentyl (glucoalyssin) y uno de naturaleza indólica: 4-hydroxy-3-indolylmethyl (4hydroxyglucobrassicin) (Tabla 4) (Anexo 2). Así mismo, se han reportado dos tipos diferentes de glucosinolatos en la familia *Tropaeolaceae*, derivados alifáticos de metionina, isoleucina y valina y derivados aromáticos de fenilalanina y tirosina (Fahey *et al.*, 2001; Ortega *et al.*, 2006), mencionan que los precursores de los glucosinolatos en Mashua son la fenilalanina y la tirosina.

– Cuantificación de glucosinolatos en mashua fresca morada

Tabla 4

Contenido de glucosinolatos individuales en mashua cruda (fresca), variedad morada

Tipo de Glucosinolato	Naturaleza	Concentración ($\mu\text{mol g}^{-1}$ BS)	Porcentaje respecto del total (%)
<i>Glucoalyssin</i>	Alifática	2,092730408	1,82
<i>Glucosinalbin</i>	Aromática	0,266696987	0,23
<i>4-OH glucobrassicin</i>	Indólica	0,210234111	0,18
<i>Glucotropaeolin</i>	Aromática	0,287119729	0,25
<i>Glucoaubrietin</i>	Aromática	112,2265725	97,52
GSL totales		115,0833537	100,00

Fuente: elaboración propia

Interpretación

El contenido de glucosinolatos totales para mashua, variedad morada fue de $115,07 \mu\text{mol g}^{-1}$ BS. La suma de glucosinolatos aromáticos representó en promedio el 98,01 % ($112,78 \mu\text{mol g}^{-1}$ BS) del contenido total de glucosinolatos, de los cuales, el glucoaubrietin fue el más abundante con $112,23 \mu\text{mol g}^{-1}$ BS, representando aproximadamente el 97,52 % del contenido total de GSL. El contenido de glucosinolatos alifáticos (Glucoalyssin) representó el 1,82 % ($2,09 \mu\text{mol g}^{-1}$ BS) y de glucosinolatos indólicos (4-Hydroxyglucobrassicin), el 0,18 % ($0,20 \mu\text{mol g}^{-1}$ BS) del contenido total de glucosinolatos. (Tabla 4)

- Efecto de las condiciones de almacenamiento (refrigeración, sombra y expuestos al sol) pos-tratamiento sobre los glucosinolatos

Tabla 5

*Análisis de varianza del contenido de glucosinolatos totales ($\mu\text{mol/g BS}$) para mashua (*Tropaeolum tuberosum*).*

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Efectos principales					
A: Almacenamiento	11091,3	2	5545,66	738,69	0,0000
B: Día	3971,31	5	794,263	105,8	0,0000
Interacciones					
AB	7674	10	767,4	102,22	0,0000
Residuos	135,133	18	7,50741		
Total (Corregido)	22871,8	35			

Fuente: elaboración propia

Tabla 6

*Pruebas de múltiples rangos para glucosinolatos totales por almacenamiento
Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD*

Almacenamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos homogéneos
Expuestos al sol	12	28,6842	0,79096	X
Refrigeración	12	62,1817	0,79096	X
Sombra	12	68,775	0,79096	X

Fuente: elaboración propia

Interpretación

El análisis estadístico mostró que hay una diferencia significativa ($p < 0.05$) en el contenido total de glucosinolato/glucoaubrietina y tipo de almacenamiento: el contenido de sombra es más alto, segundo en contenido de enfriamiento y menos expuestos al sol; sin embargo, para los otros glucosinolatos, no existe una diferencia significativa entre el almacenamiento en frío y la sombra, pero con el almacenamiento de los expuestos al sol, este último se presenta en cantidades más pequeñas.

Tabla 7

Contenido de glucosinolatos ($\mu\text{mol/g bs}$) en mashua almacenadas en refrigeración, sombra y expuestas al sol durante 15 días

	Glucosinolatos totales	Glucoalisina	Glucosinalbina	Glucobrasicina	Glucotropaeolina	Glucoaubrietina
Días	Refrigeración					
0	54,19	1	0,12	0,09	0,17	52,8
3	57,56	1,11	0,14	0,12	0,19	56,01
6	75,78	1,19	0,16	0,13	0,18	74,12
9	57,62	0,96	0,16	0,11	0,15	56,24
12	78,38	1,36	0,14	0,13	0,18	76,56
15	49,57	1,06	0,11	0,09	0,15	48,16
Días	Sombra					
0	54,19	1	0,12	0,09	0,17	52,8
3	78,63	1,17	0,2	0,13	0,18	76,95
6	82,13	1,36	0,18	0,13	0,17	80,29
9	74,85	1,19	0,15	0,13	0,17	73,22
12	64,03	0,98	0,14	0,11	0,17	62,63
15	58,83	0,86	0,13	0,11	0,16	57,58
Días	Expuestos al sol					
0	54,19	1	0,12	0,09	0,17	52,8
3	76,05	1,19	0,16	0,13	0,18	74,39
6	23,81	0,53	0,09	0,07	0	23,12
9	7,66	0,38	0,05	0	0	7,23
12	5,9	0,32	0,05	0	0	5,53
15	4,51	0,76	0	0,09	0	3,75

Fuente: elaboración propia

Interpretación

Los resultados del contenido de glucosinolatos de la mashua almacenada en refrigeración, sombra y expuestas al sol, se muestran en el Tabla 8. El análisis estadístico (Anexo 3) mostró que hay una diferencia significativa ($p < 0,05$) en el contenido total de glucosinolato/glucoaubrietina y tipo de almacenamiento: el contenido de sombra es más alto, segundo en contenido de enfriamiento y menos expuestas al sol; sin embargo, para los

otros glucosinolatos, no existe una diferencia significativa entre el almacenamiento en frío y la sombra, pero con el almacenamiento de los expuestos al sol, este último se presenta en cantidades más pequeñas máximo de cinco para los *ítems* formulados. En cuanto al indicador: motivación hacia el ahorro se halló lo siguiente: una media de 2,19, una moda de 1,25; valor mínimo de 1 y un valor máximo de 5 para los *ítems* formulados.

- Identificación y cuantificación de glucosinolatos en mashua con tratamientos

Tabla 8

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

Factor	Nivel	Media
Tratamiento previo	Con exposición al sol	48,4015 ^a
	Sin exposición al sol	64,9026 ^b
Tratamiento de blanqueado	Microondas	29,1428 ^a
	Ebullición	84,1613 ^b
Estado del tubérculo	Entero	61,3351 ^b
	Cortado	51,9691 ^a
Temperatura de secado	60°C	55,7072 ^a
	80°C	57,5970 ^a

Nota: * Las medias de los niveles para un mismo bloque (factor) que compartan el mismo superíndice no es estadísticamente diferente ($P > 0,05$).

Fuente: elaboración propia

Interpretación

El contenido de glucosinolatos totales para mashua, variedad morada, con un nivel de significación $p < 0,05$ indica que existe diferencia altamente significativa, afectado por el tratamiento previo, el tratamiento de blanqueado y el estado del tubérculo; así mismo, el tratamiento de liofilización no tuvo un efecto significativo con un nivel de significación $p < 0,05$, pero si en algunas de las interacciones entre factores (Anexo 5 y Tabla A).

Mediante una prueba de múltiples rangos, aplicando el procedimiento de comparación múltiple de Duncan, se determinó si existen diferencias,

estadísticamente significativas, entre los niveles de un mismo factor para los cuatro factores evaluados con un nivel de significación $p < 0,05$. (Tabla 8)

En términos generales, existe una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos anteriores. Los tubérculos indican en el momento del blanqueamiento y los tratamientos de blanqueamiento ($p > 0,05$), con los tubérculos expuestos al sol, que los tubérculos enteros y aquellos que fueron sometidos blanqueamiento por ebullición y los tratamientos respectivos, registran el contenido total de glucosinolato más alto, que se puede ver en los gráficos de dispersión y los gráficos promedio que se muestran en el Anexo 6, Figuras 1A, 1B y 1C. Sin embargo, con respecto a la temperatura de secado, no existe una diferencia, estadísticamente significativa, entre el secado a 60°C y el secado a 80°C ($P > 0,05$), como lo confirman los gráficos de dispersión y los gráficos promedio que se muestran en el Apéndice 6, Figura 1D. Las interacciones entre los factores se pueden ver gráficamente en el Anexo 7 y Figura 1.

Tabla 9

Contenido de glucosinolatos totales ($\mu\text{mol/g BS}$) para mashua procesada (*Tropaeolum tuberosum*)

Tratamiento					
		Inicial	91,60 \pm 1,09 ^{EF}	91,60 \pm 1,09 ^D	
		Blanqueado	Secado °C		
Tratamiento	Tratamiento de Blanqueado	Estado del Tubérculo	60	80	
Tratamiento previo: con exposición al sol	Ebullición	Entero	84,28 \pm 6,07 ^{Eb}	61,95 \pm 1,54 ^{Ba}	
		Cortado	76,23 \pm 1,37 ^{DEa}	62,48 \pm 2,83 ^{Ba}	
	Microondas	Entero	46,12 \pm 4,95 ^{Cb}	16,20 \pm 2,09 ^{Aa}	
		Cortado	25,41 \pm 1,13 ^{ABa}	14,55 \pm 4,05 ^{Aa}	
	Sin Blanqueado			93,23 \pm 0,50 ^{EFb}	67,48 \pm 4,72 ^{Ba}
			Inicial	110,60 \pm 1,87 ^G	110,60 \pm 1,87 ^E
		Blanqueado	Secado °C		
Tratamiento	Tratamiento de Blanqueado	Estado del Tubérculo	60	80	
Tratamiento Previo: Sin exposición al sol	Ebullición	Entero	67,00 \pm 9,36 ^{Da}	107,69 \pm 3,03 ^{Eb}	
		Cortado	103,01 \pm 1,38 ^{FGa}	110,66 \pm 9,6 ^{Ea}	
	Microondas	Entero	33,31 \pm 2,27 ^{BCa}	74,14 \pm 7,02 ^{BCb}	
		Cortado	10,32 \pm 1,44 ^{Aa}	13,10 \pm 2,38 ^{Aa}	
	Sin Blanqueado			113,04 \pm 12,27 ^{Gb}	84,44 \pm 5,22 ^{CDa}

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

**Las medias dentro de una misma columna con el mismo superíndice en letra mayúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p > 0,05$) cuando se someten a la prueba de Duncan, las medias dentro de la misma fila con el mismo superíndice en letra minúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p > 0,05$) cuando se someten a la prueba de Duncan.

Fuente: elaboración propia

Interpretación

Dado los hallazgos presentados en la Tabla 8, la contribución de cada factor se midió subestimando los efectos de los otros factores, fue necesario considerar las diferencias entre cada tratamiento. La Tabla 9 muestra el contenido total de glucosinolato de la harina de mashua, variedad morada, después de haber sido sometido a 20 tratamientos diferentes de blanqueo y secado.

En el caso de los tubérculos frescos, es decir, sin el blanqueamiento con microondas con muestras con exposición al sol, se generaron reducciones significativas en el contenido total de glucosinolatos del 32,96 al 90,67 % ($P > 0,05$), mientras que el blanqueamiento por ebullición, generó aumentos no significativos del 0,05 % ($p > 0,05$) y reducciones significativas de hasta 39,42 % ($P > 0,05$), dependiendo del tratamiento.

Para los tubérculos expuestos al sol, el blanqueamiento por microondas, generó reducciones significativas en el contenido total de glucosinolatos de 49,65 a 84,11 % ($p > 0,05$); mientras que el blanqueamiento por ebullición, se generó a partir de reducciones no significativas de 7,99 % ($p > 0,05$) a reducciones significativas hasta 32,37 % ($p > 0,05$), dependiendo del tratamiento.

El secado a 60°C generó incrementos no significativos en 2,21 % ($p > 0,05$) a reducciones significativas de hasta 90,67 % ($p > 0,05$), mientras que el secado a 80°C fue generado por incrementos no significativos. Incrementos significativos de 0,05 % ($p > 0,05$) a reducciones significativas de hasta 88,15 % ($p > 0,05$), dependiendo del tratamiento.

Los valores más altos de contenido total de glucosinolato, se obtuvieron en para tubérculos sin exposición al sol, sin blanqueo y secado directamente a 60°C (113,04 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS); y, mientras que los tubérculos sin exposición al sol, cortados, hervidos, blanqueados y secados a 80°C (110,66 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS), muestran valores estadísticamente similares ($p > 0,05$) al contenido total de glucosinolato de mashua fresco sin procesamiento.

Los valores más bajos de contenido total de glucosinolato, se obtuvieron para tubérculos sin exposición al sol, cortados, blanqueados con microondas y secados a 60°C (10,32 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS), BS) y a 80°C (13,10 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS) con una reducción significativa de 90,67 y 88,15 % respectivamente ($p > 0,05$).

– Contenido de glucoalyssin

Tabla 10

Prueba de múltiples rangos, método de Duncan para evaluar el contenido de glucoalyssin en harina de mashua, liofilizada

Factor	Nivel	Media
Tratamiento previo	Con exposición al sol	1,3723 ^a
	Sin exposición al sol	1,6055 ^a
Tratamiento de blanqueado	Microondas	0,7410 ^a
	Ebullición	2,2368 ^b
Estado del tubérculo	Entero	1,6120 ^b
	Cortado	1,3658 ^a
Temperatura de secado	60 °C	1,4885 ^a
	80 °C	1,4893 ^a

Nota: Las medias de los niveles para un mismo bloque (factor) que compartan el mismo superíndice no son estadísticamente diferentes ($P > 0,05$)

Fuente: elaboración propia

Interpretación

El contenido de glucoalyssin, es el único glucosinolato alifático presente en la variedad morada, que se vio significativamente afectado por el tratamiento de blanqueo y el estado del tubérculo ($p > 0,05$). El tratamiento previo y la temperatura de secado, no tuvieron un efecto significativo, más si se evidenció interacciones entre factores ($p > 0,05$) (Anexo 5 y Tabla B). Asimismo, mediante el uso de la prueba de rango múltiple y un procedimiento de comparación múltiple de Duncan, se determinó diferencias estadísticamente significativas entre los niveles del mismo factor para los cuatro factores evaluados. (Tabla 10)

En términos generales, existe una diferencia estadísticamente significativa entre el estado del tubérculo en el momento del blanqueo y los

tratamientos de blanqueo ($p > 0,05$), de los cuales el tubérculo entero y el blanqueado por ebullición respectivamente, son los tratamientos donde se registra el mayor contenido de glucoalyssin, y que se puede ver la figura de dispersión y de medias que se presentan en el Anexo 6, Figuras 2A y 2B. Sin embargo, con respecto al tratamiento previo y la temperatura de secado, no hay una diferencia estadísticamente significativa, entre los tubérculos expuestos al sol y no expuestos al sol, ni entre el secado a 60°C y el secado a 80°C ($p > 0,05$), como lo confirman los gráficos de dispersión y los gráficos de medias, mostrados en el Anexo 6, Figuras 2C y 2D. Las interacciones entre los factores se aprecian en el Anexo 7 y Figura 2.

Tabla 11

*Contenido de glucoalyssin ($\mu\text{mol/gBS}$) para *Tropaeolum tuberosum*, variedad morada*

		Tratamiento			
		Inicial	$3,95 \pm 0,10^F$	$3,95 \pm 0,10^F$	
		Blanqueado	Secado °C		
Tratamiento previo:	Tratamiento de Blanqueado	Estado del Tubérculo	60	80	
con exposición al sol	Ebullición	Entero	$2,63 \pm 0,31^{Ea}$	$2,39 \pm 0,24^{Ea}$	
		Cortado	$2,55 \pm 0,27^{Ea}$	$1,91 \pm 0,053^{BCDa}$	
	Microondas	Entero	$1,57 \pm 0,67^{CDb}$	$0,60 \pm 0,04^{Aa}$	
		Cortado	$0,66 \pm 0,02^{Aba}$	$0,53 \pm 0,15^{Aa}$	
	Sin Blanqueado			$2,55 \pm 0,23^{Ea}$	$2,13 \pm 0,25^{CDEa}$
			Inicial	$4,60 \pm 0,17^F$	$4,60 \pm 0,17^G$
		Blanqueado	Secado °C		
Tratamiento previo:	Tratamiento de Blanqueado	Estado del Tubérculo	60	80	
Sin exposición al sol	Ebullición	Entero	$1,41 \pm 0,10^{BCa}$	$2,27 \pm ,011^{DEb}$	
		Cortado	$2,40 \pm 0,23^{DEa}$	$2,33 \pm 0,12^{DEa}$	
	Microondas	Entero	$0,46 \pm 0,05^{Aa}$	$1,56 \pm 0,04^{Bb}$	
		Cortado	$0,23 \pm 0,01^{Aa}$	$0,31 \pm 0,02^{Aa}$	
	Sin Blanqueado			$2,57 \pm 0,39^{Eb}$	$1,79 \pm 0,05^{BCa}$

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

**Las medias dentro de una misma columna con el mismo superíndice en letra mayúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p>0,05$) cuando se someten a la prueba de Duncan, las medias dentro de la misma fila con el mismo superíndice en letra minúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p>0,05$) cuando se someten a la prueba de Duncan.

Fuente: elaboración propia

Interpretación

Dado los hallazgos presentados en la Tabla 10, la contribución de cada factor se midió desestimando los efectos de los otros factores, fue necesario considerar las diferencias entre cada tratamiento. La Tabla 11, muestra el contenido de glucoalyssin de la harina de mashua, variedad morada, después de haber sido sometido a 20 tratamientos diferentes de blanqueo y secado.

Para los tubérculos frescos, es decir, sin exposición al sol, el blanqueamiento por microondas generó reducciones significativas en el contenido de glucoalyssin desde 66,05 % a 94,99 % ($P> 0,05$); mientras que el

blanqueamiento por ebullición generó reducciones significativas del 47,76 % ($p > 0,05$) hasta 69,27 % ($p > 0,05$), dependiendo del tratamiento.

Para los tubérculos expuestos al sol, el blanqueamiento por microondas generó reducciones significativas en el contenido de glucoalyssin del 60,34 al 86,50 % ($p > 0,05$); mientras que el blanqueamiento por ebullición generó reducciones significativas del 33,44 % ($p > 0,05$) a reducciones significativas de hasta 51,63 % ($P > 0,05$), dependiendo del tratamiento.

El secado a 60°C se generó a partir de reducciones significativas de 33,44 % a 94,99 % ($p > 0,05$), mientras que el secado a 80°C generó reducciones significativas de 39,36 % ($p > 0,05$) a 93,22 % ($p > 0,05$), según el tratamiento.

Los valores más altos de contenido de glucoalyssin, se obtuvieron para tubérculos sin sol, sin blanqueo y secado directamente a 60°C (2,57 $\mu\text{mol. g}^{-1}$ BS), y en tubérculos expuestos al sol, enteros, blanqueados y secos en ebullición a 60°C (2,63 $\mu\text{mol. g}^{-1}$ BS), con una disminución significativa de 44,03 % y 33,44 % ($p > 0,05$), respectivamente, en comparación con el contenido de análisis de glucosa de mashua fresco, sin procesamiento.

Los menores valores de contenido de glucoalyssin fueron obtenidos en tubérculos sin exposición al sol, cortados, blanqueados por microondas y secados a 60°C (0,23 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS) y a 80°C (0,31 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS), con una disminución significativa del 94,99 y 93,22 %, respectivamente ($p > 0,05$).

– Contenido de 4-Hydroxyglucobrassicin

Tabla 12

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

Factor	Nivel	Media
Tratamiento Previo	Con exposición al sol	0,0706 ^a
	Sin exposición al sol	0,0889 ^b
Tratamiento de Blanqueado	Microondas	0,0345 ^a
	Ebullición	0,1249 ^b
Estado del Tubérculo	Entero	0,0868 ^b
	Cortado	0,0726 ^a
Temperatura de Secado	60 °C	0,0797 ^a
	80 °C	0,0798 ^a

Nota: * Las medias de los niveles para un mismo bloque (factor) que compartan el mismo superíndice no son estadísticamente diferentes ($P > 0,05$).

Fuente: elaboración propia

Interpretación

El contenido de 4-hidroxiglucobrassicina, el único glucosinolato de indol presente en la variedad morada, fue afectado significativamente por el tratamiento previo, el tratamiento de blanqueo y el estado del tubérculo ($p > 0,05$). La temperatura de secado no tuvo un efecto significativo, pero si en algunas de las interacciones entre factores ($p > 0,05$), como se puede ver en detalle en el Anexo 5, Tabla D.

Mediante la aplicación las pruebas de rango múltiple y de comparación múltiple de Duncan, se determinó diferencias estadísticamente significativas, entre los niveles del mismo factor para los cuatro factores evaluados. (Tabla 12)

En términos generales, existe una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos anteriores, los estados de los tubérculos al momento del blanqueo y los tratamientos de blanqueo ($P > 0,05$). Los tubérculos sin exposición al sol, los tubérculos enteros y los tubérculos blanqueados por ebullición, respectivamente, son los tratamientos que registran los mayores contenidos de 4-hidroxi glucobrassicina, que también se pueden observar en los gráficos de dispersión y los gráficos de medias que se muestran en el Anexo 6, Figuras 4A, 4B y 4C.

Sin embargo, con respecto a la temperatura de secado, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre el secado a 60°C y 80°C ($p > 0,05$), lo que se confirma mediante los gráficos de dispersión y los gráficos de medias que se muestran en el Anexo 6, figura 4D.

Tabla 13

Contenido de 4-Hydroxyglucobrassicin ($\mu\text{mol/g BS}$) para mashua (*Tropaeolum tuberosum*) variedad morada

		Tratamiento			
		Inicial	0,11 \pm 0,00 ^{DE}	0,11 \pm 0,00 ^{BC}	
		Blanqueado	Secado °C		
Tratamiento	Tratamiento de Blanqueado	Estado del Tubérculo	60	80	
Previo: con exposición al sol	Ebullición	Entero	0,13 \pm 0,00 ^{EFGb}	0,10 \pm 0,00 ^{Ba}	
		Cortado	0,13 \pm 0,01 ^{EFGb}	0,09 \pm 0,01 ^{Ba}	
	Microondas	Entero	0,06 \pm 0,01 ^{Cb}	0,01 \pm 0,00 ^{Aa}	
		Cortado	0,03 \pm 0,00 ^{Aba}	0,01 \pm 0,01 ^{Aa}	
	Sin Blanqueado			0,12 \pm 0,00 ^{EFb}	0,09 \pm 0,01 ^{Ba}
			Inicial	0,13 \pm 0,01 ^{EF}	0,13 \pm 0,01 ^C
		Blanqueado	Secado °C		
Tratamiento	Tratamiento de Blanqueado	Estado del Tubérculo	60	80	
Previo: Sin exposición al sol	Ebullición	Entero	0,09 \pm 0,01 ^{Da}	0,16 \pm 0,00 ^{Db}	
		Cortado	0,15 \pm 0,00 ^{FGa}	0,15 \pm 0,01 ^{Da}	
	Microondas	Entero	0,04 \pm 0,00 ^{BCa}	0,10 \pm 0,01 ^{BCb}	
		Cortado	0,01 \pm 0,00 ^{Aa}	0,01 \pm 0,00 ^{Aa}	
	Sin Blanqueado			0,16 \pm 0,02 ^{Gb}	0,11 \pm 0,01 ^{BCa}

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

**Las medias dentro de una misma columna con el mismo superíndice en letra mayúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p>0,05$) cuando se someten a la prueba de Duncan, las medias dentro de la misma fila con el mismo superíndice en letra minúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p>0,05$) cuando se someten a la prueba de Duncan.

Fuente: elaboración propia

Interpretación

Teniendo en cuenta los resultados presentados en la Tabla 12, la contribución de cada factor se midió sin tener en cuenta los efectos de otros factores, fue necesario considerar las diferencias entre cada tratamiento. La Tabla 14 muestra el contenido de 4-hidroxiglucobrassicina en la harina de mashua, variedad morada, después de ser sometida a los 20 tratamientos diferentes de blanqueo y secado. Las interacciones entre los factores se presentan en la Figura 4 del Anexo 7.

Para tubérculos frescos, es decir, sin exposición al sol, el blanqueamiento por microondas generó reducciones de la 4-hidroxi glucobasicina no significativas de 17,95 % ($p > 0,05$) hasta reducciones significativas del contenido del 93,84 % ($p > 0,05$), mientras que el blanqueo por ebullición generó aumentos significativos en el contenido de 4-hidroxi glucobasicina hasta en un 24,55 % ($p > 0,05$) y reducciones significativas hasta en un 25,86 % ($p > 0,05$), dependiendo del tratamiento.

Para los tubérculos expuestos al sol, el blanqueado por microondas generó reducciones significativas en el contenido de 4-hidroxi glucobasicina desde 46,05 hasta 88,32 % ($p > 0,05$), mientras que el blanqueamiento por ebullición generó aumentos significativos de hasta el 21,02 % y reducciones no significativas de hasta el 19,85 % ($p > 0,05$), dependiendo del tratamiento.

El secado a 60°C generó incrementos significativos de hasta 24,94 % y reducciones significativas de hasta 93,84 % ($p > 0,05$), mientras que el secado a 80°C generó incrementos significativos de hasta 24,5 % y reducciones hasta de 89,89 % ($p > 0,05$), dependiendo del tratamiento.

Los niveles más altos de 4-hidroxi glucobrassicina, se obtuvieron en tubérculos sin exposición al sol, sin blanqueo y secado directamente a 60°C (0,16 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS), y en tubérculos sin exposición al sol, enteros, blanqueados por ebullición y secados a 80°C (0,16 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS), un aumento significativo de 24,94 % y 24,55 % ($p > 0,05$), respectivamente, en comparación con el contenido de 4-hidroxi glucobrassicina en mashua fresco no procesado.

Los valores más bajos de contenido de 4-hidroxi glucobrassicina, se obtuvieron para tubérculos sin exposición al sol, cortados, blanqueados en el microondas y secados a 60°C (0,008 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS) y a 80°C (0,013 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS), con una reducción significativa de 93,84 % y 89,89 %, respectivamente ($p > 0,05$).

– Contenido de glucosinalbin

Tabla 14

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

Factor	Nivel	Media*
Tratamiento previo	Con exposición al sol	0,0706 ^a
	Sin exposición al sol	0,0889 ^b
Tratamiento de blanqueado	Microondas	0,0345 ^a
	Ebullición	0,1249 ^b
Estado del tubérculo	Entero	0,0868 ^b
	Cortado	0,0726 ^a
Temperatura de secado	60 °C	0,0797 ^a
	80 °C	0,0798 ^a

Nota: * Las medias de los niveles para un mismo bloque (factor) que compartan el mismo superíndice no son estadísticamente diferentes ($P > 0,05$).

Fuente: elaboración propia

Interpretación

El contenido de glucosinalbin, uno de los tres glucosinolatos aromáticos presentes en la variedad morada, se vio significativamente afectado, solo por el tratamiento de blanqueo ($p > 0,05$). El tratamiento previo, la condición del tubérculo y la temperatura de secado, no tuvieron un efecto significativo, pero si en algunas de las interacciones entre los factores ($p > 0,05$) (Anexo 5 y Tabla D).

Mediante una prueba de rango múltiple, y la aplicación del procedimiento de comparación múltiple de Duncan, se estableció diferencias estadísticamente significativas, entre los niveles del mismo factor para los cuatro factores evaluados (Tabla 14).

En términos generales, existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos de blanqueado ($p > 0,05$), siendo el tratamiento de ebullición el registro de mayor contenido de glucosinalbina, según se puede observar en las figuras de dispersión y de medias que se presentan en el Anexo 6 y Figura 3.

Sin embargo, con respecto al tratamiento previo, la condición del tubérculo en el momento del blanqueo y la temperatura de secado, se observó que no existe una diferencia estadísticamente significativa, entre los tubérculos expuestos al sol y no expuestos al sol, entre los tubérculos enteros y cortados o entre el secado a 60°C y seco a 80°C ($p > 0,05$) (Figuras 3B, 3C y 3D del Anexo 6). Las interacciones entre los factores se presentan en la Figura 3 del Anexo 7.

Tabla 15

*Contenido de glucosinalbin ($\mu\text{mol/g BS}$) para mashua (*Tropaeolum tuberosum*) variedad morada*

Tratamiento					
		Inicial	0,09 \pm 0,00 ^E	0,09 \pm 0,00 ^{BCD}	
		Blanqueado	Secado °C		
Tratamiento previo:	Tratamiento de blanqueado	Estado del tubérculo	60	80	
con exposición al sol	Ebullición	Entero	0,13 \pm 0,00 ^{EGb}	0,06 \pm 0,00 ^{ABCa}	
		Cortado	0,11 \pm 0,00 ^{EFa}	0,09 \pm 0,02 ^{BCDa}	
	Microondas	Entero	0,05 \pm 0,00 ^{Da}	0,09 \pm 0,06 ^{BCDa}	
		Cortado	0,02 \pm 0,00 ^{Aa}	0,04 \pm 0,03 ^{ABa}	
	Sin Blanqueado			0,10 \pm 0,00 ^{Ea}	0,07 \pm 0,00 ^{ABCa}
			Inicial	0,15 \pm 0,01 ^{GH}	0,15 \pm 0,01 ^D
		Blanqueado	Secado °C		
Tratamiento previo:	Tratamiento de blanqueado	Estado del tubérculo	60	80	
Sin exposición al sol	Ebullición	Entero	0,06 \pm 0,01 ^{Da}	0,11 \pm 0,00 ^{CDa}	
		Cortado	0,11 \pm 0,00 ^{EFa}	0,12 \pm 0,02 ^{CDa}	
	Microondas	Entero	0,03 \pm 0,00 ^{BCa}	0,09 \pm 0,01 ^{BCDb}	
		Cortado	1,2E-03 \pm 0,00 ^{Aa}	4,9E-3 \pm 0,00 ^{Aa}	
	Sin blanqueado			0,16 \pm 0,02 ^{Hb}	0,09 \pm 0,01 ^{BCDa}

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

**Las medias dentro de una misma columna con el mismo superíndice en letra mayúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p > 0,05$) cuando se someten a la prueba de Duncan, las medias dentro de la misma fila con el mismo superíndice en letra minúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p > 0,05$) cuando se someten a la prueba de Duncan.

Fuente: elaboración propia

Interpretación

Según los hallazgos presentados en la Tabla 14, la contribución de cada factor se midió sin tener en cuenta los efectos de otros factores, fue necesario considerar las diferencias entre cada uno de los tratamientos. La Tabla 16 muestra el contenido de glucosinalbina en la harina de mashua, variedad morada, después de ser sometida a los 20 diferentes tratamientos de blanqueado y secado.

Para tubérculos frescos, es decir, sin exposición al sol, el blanqueado por microondas generó reducciones no significativas de 40,37 % ($p > 0,05$) a

reducciones significativas de hasta el 99,22 % ($p > 0,05$) en contenido de glucosinalbina; mientras que el blanqueado por ebullición generó desde reducciones no significativas de 19,16 % ($P > 0,05$) a reducciones significativas de hasta 58,10 % ($p > 0,05$), dependiendo del tratamiento.

Para los tubérculos expuestos al sol, el blanqueado por microondas generó reducciones no significativas de 2,16 % ($p > 0,05$) hasta reducciones significativas de hasta 80,16 % ($p > 0,05$), mientras que el blanqueado por ebullición, generó incrementos significativos en hasta 38,94 % ($p > 0,05$) y reducciones no significativas de hasta 36,57 % ($p > 0,05$), dependiendo del tratamiento.

El secado a 60°C generó incrementos no significativos en 5,89 % a reducciones significativas de hasta 99,22 % ($p > 0,05$), mientras que el secado a 80°C, generó reducciones no significativas de 19,16 % ($p > 0,05$) hasta reducciones significativas de 96,66 % ($p > 0,05$), dependiendo del tratamiento.

Los valores más altos de contenido de glucosinalbina, se obtuvieron en tubérculos sin exposición al sol, sin blanqueado y secado directamente a 60°C (0,16 $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ BS), y para tubérculos expuestos al sol, enteros, blanqueados por ebullición y secados a 60°C (0,13 $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ BS), un aumento no significativo de 5,88 % y un incremento significativo de 38,94 % ($p > 0,05$), respectivamente, en comparación con el contenido de glucosinalbin en Mashua fresca morada, sin procesamiento.

El contenido más bajo de glucosinalbin, se alcanzó en los tubérculos sin exposición al sol, cortados, blanqueados con microondas y secados a 60°C (1,2E-03 $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ BS) y 80°C (4,9E-03 $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ BS), con disminución significativa de 99,22 % y 96,66 % ($p > 0,05$), respectivamente.

– Contenido de glucotropaeolin

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

– Contenido de glucoaubrietin

El contenido de glucoaubrietina, el glucosinolato aromático más abundante e importante en mashua morada, se vio significativamente afectado por el tratamiento previo, el tratamiento de blanqueado y el estado del tubérculo ($P > 0,05$), la temperatura de secado no tuvo un efecto significativo, pero si algunas de las interacciones entre factores ($p > 0,05$), como se puede ver en el Anexo 5, Tabla E.

Tabla 16

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

Factor	Nivel	Media
Tratamiento previo	Con exposición al sol	46,6519 ^a
	sin exposición al sol	63,3752 ^b
Tratamiento de blanqueado	Microondas	28,3271 ^a
	Ebullición	81,7000 ^b
Estado del tubérculo	Entero	59,5584 ^b
	Cortado	50,4687 ^a
Temperatura de secado	60 °C	54,0741 ^a
	80 °C	55,9530 ^a

Nota: * Las medias de los niveles para un mismo bloque (factor) que compartan el mismo superíndice no son estadísticamente diferentes ($P > 0,05$).

Fuente: elaboración propia

Interpretación

Mediante la prueba de rango múltiple y el procedimiento de comparación múltiple de Duncan, se determinó diferencias estadísticamente significativas, entre los niveles del mismo factor para los cuatro factores evaluados. (Tabla 16)

En términos generales, existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos de la harina de mashua, variedad morada, después de haber sido sometido a 20 tratamientos diferentes de blanqueo y secado previos, en el momento del blanqueamiento y los tratamientos de blanqueamiento ($p > 0,05$), siendo los tubérculos sin exposición al sol, los tubérculos enteros y aquellos blanqueados por ebullición, respectivamente, donde se registra el mayor contenido de glucoaubrietin , según se evidencia en el Anexo 6 y Figuras 5A, 5B y 5C.

Con respecto a la temperatura de secado, no existe una diferencia estadísticamente significativa, entre el secado a 60°C y el secado a 80°C ($p > 0,05$), según se evidencia en el Anexo 6 y Figura 5D. Las interacciones entre los factores se pueden ver gráficamente en el Anexo 7 y Figura 5.

Tabla 17

Contenido de glucoaubrietin ($\mu\text{mol/gBS}$) para *Tropaeolum tuberosum*, variedad morada

		Tratamiento	
		Inicial	87,21 \pm 0,97^{EFG}
		Blanqueado	Secado °C
Tratamiento previo: con exposición al sol	Tratamiento de blanqueado	Estado del tubérculo	60
			80
	Ebullición	Entero	81,39 \pm 6,38 ^{DEFb}
		Cortado	73,43 \pm 1,64 ^{DEa}
	Microondas	Entero	44,44 \pm 4,27 ^{Db}
		Cortado	24,70 \pm 1,14 ^{Aba}
	Sin Blanqueado		90,45 \pm 0,27 ^{FGHb}
		Inicial	105,49 \pm 1,66^{HI}
		Blanqueado	Secado °C
Tratamiento previo: Sin exposición al sol	Tratamiento de blanqueado	Estado del tubérculo	60
			80
	Ebullición	Entero	65,43 \pm 9,24 ^{Da}
		Cortado	100,35 \pm 1,62 ^{GHla}
	Microondas	Entero	32,78 \pm 2,21 ^{BCa}
		Cortado	10,08 \pm 1,43 ^{Aa}
	Sin Blanqueado		110,16 \pm 11,84 ^{lb}
			82,45 \pm 5,14 ^{CDa}

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

**Las medias dentro de una misma columna con el mismo superíndice en letra mayúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p > 0,05$) cuando se someten a la prueba de Duncan, las medias dentro de la misma fila con el mismo superíndice en letra minúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p > 0,05$) cuando se someten a la prueba de Duncan.

Fuente: elaboración propia

Interpretación

Según los resultados presentados en la Tabla 16, la contribución de cada factor se midió desestimando los efectos de los otros factores, fue necesario considerar las diferencias entre cada tratamiento. La Tabla 18 muestra el contenido de glucoaubrietina. En el caso de los tubérculos frescos, es decir, sin el blanqueado por microondas, se produjeron reducciones significativas en el contenido de glucoaubrietina del 31,37 % hasta 90,44 % ($p > 0,05$); mientras que el blanqueado por ebullición, generó aumentos no significativos en 2,44 %

($P > 0,05$) y reducciones significativas de hasta el 37,98 % ($p > 0,05$), dependiendo del tratamiento.

Para los tubérculos expuestos al sol, el blanqueamiento por microondas, generó reducciones significativas en el contenido de glucoaubrietina del 49,03 % al 83,98 % ($p > 0,05$), mientras que el blanqueado por ebullición generó reducciones no significativas del 6,68 % ($p > 0,05$) a reducciones significativas hasta 31,89 % ($p > 0,05$), dependiendo del tratamiento. (Tabla 18)

El secado a 60°C generó incrementos no significativos de 4,42 % ($p > 0,05$) hasta reducciones significativas de 90,44 % ($p > 0,05$), mientras que el secado a 80°C generó incrementos no significativos de 2,44 % ($p > 0,05$) hasta reducciones significativas de 87,90 % ($p > 0,05$), dependiendo del tratamiento. (Tabla 18)

Los valores más altos de contenido de glucoaubrietina, se obtuvieron para tubérculos sin exposición al sol, sin blanqueado y secados directamente a 60°C (110,16 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS); y, para tubérculos sin exposición al sol, cortados, blanqueados por ebullición y secados a 80°C. (108,06 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS), siendo estos valores estadísticamente iguales ($p > 0,05$) al valor del contenido de glucoaubrietina en mashua fresca morada sin procesar. (Tabla 18)

Los valores más bajos de contenido de glucoaubrietina, se obtuvieron en tubérculos sin exposición al sol, cortados, blanqueados por microondas y secados a 60°C (10,08 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS) y 80°C (12,77 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS), con una reducción significativa de 90,44 y 87,89 %, respectivamente ($p > 0,05$). (Tabla 18)

- Actividad mirosinasa de las muestras de mashua morada

Tabla 18

ANOVA multifactorial para la actividad mirosinasa en mashua, variedad morada

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>GI</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>
Efectos principales				
A: Estado del tubérculo	267230	1	267230	177,86
B: Tratamiento de blanqueado	2,81021 E6	1	2,81021 E6	1870,38
C: Tratamiento previo	1020320	1	1,02032 E6	679,09
Interacciones				
AB	267230	1	267230	177,86
AC	22295,7	1	22295,7	14,84
BC	1,02032 E6	1	1,02032 E6	679,09
ABC	22295,7	1	22295,7	14,84
Residuos	12019,9	8	1502,48	
Total (Corregido)	5,44191 E6	15		

Nota: número de casos =16

Fuente: Elaboración propia

Interpretación

El efecto del blanqueado (inactivación enzimática), se evaluó mediante tres factores: el pretratamiento (tubérculos expuestos al sol y tubérculos sin exposición al sol), el tratamiento de blanqueo (ebullición y microondas), y la condición de los tubérculos en el momento del blanqueado (enteros y cortados en rodajas).

La actividad de mirosinasa en mashua morada procesada, se vio significativamente afectada por el tratamiento previo ($p > 0,05$), el tratamiento de blanqueo ($p > 0,05$), la condición o estado del tubérculo en el momento del blanqueado ($p > 0,05$) y la interacción entre estos tres factores ($p > 0,05$) La actividad mirosinasa residual, luego de cada tratamiento, se muestra en la Tabla 18 y 19.

Tabla 19

*Influencia del procesamiento en la actividad mirosinasa ($\mu\text{mol/g BS Min}$) para *Tropaeolum tuberosum*, variedad morada*

		Blanqueado	Actividad de la Mirosinasa (mol/g BS Min)
Tratamiento previo	Tratamiento de blanqueado	Estado del Tubérculo	
Con exposición al sol	Ebullición	Entero	666,26 ^{AB}
		Cortado	0,00 ^A
	Microondas	Entero	0,00 ^A
		Cortado	0,00 ^A
Sin exposición al sol	Ebullición	Entero	1527,05 ^B
		Cortado	1159,43 ^B
	Microondas	Entero	0,00 ^A
		Cortado	0,00 ^A
Inicial			12719,80 ^C

Nota: *Las medias dentro de una misma columna con el mismo superíndice en letra mayúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p>0,05$) cuando se someten a la prueba de Duncan ($n=2$).

Fuente: Elaboración propia

Interpretación

La mirosinasa de mashua blanqueada por ebullición mostró, para los tubérculos expuestos al sol, una disminución abrupta y significativa del 94,8 % en la actividad, cuando el tubérculo ingresó a todo el tratamiento de blanqueado; y, una pérdida total de actividad, cuando el tubérculo entró en rodajas comparada con mashua fresco, sin blanquear ($p> 0,05$); Para los tubérculos sin exposición al sol, se observó que hubo reducciones significativas abruptas de 88 % y 90,9 % para los tubérculos enteros y en rodajas, respectivamente ($p> 0,05$). En el caso de mashua blanqueada por microondas, tanto para tubérculos enteros como para tubérculos cortados, expuestos al sol o sin exposición al sol, la mirosinasa mostró una pérdida total de su actividad catalítica.

CAPÍTULO VI

DISCUSIÓN

Respecto a la *identificación y cuantificación de glucosinolatos en mashua fresca morada sin procesamiento*, se hallaron cinco glucosinolatos en la mashua fresca morada sin procesamiento. El primero fue la glucoaubrietina que representa el 97,52 por ciento, del total de glucosinolatos, seguido de la glucoalisina que representa el 1,82 por ciento y el resto de glucosinolatos representa el 0,66 por ciento, por lo cual la correlación entre glucosinolatos totales y glucoaubrietina es alta. Al respecto Johns y Towers (1981) y Ramallo *et al.*, (2004), han reportado solo la presencia de glucoaubrietina en variedades domésticas de mashua. Por otro lado, Ortega *et al.*, (2006), reportaron e identificaron tres glucosinolatos aromáticos en muestras de mashua cultivadas y sus parientes silvestres, los cuales fueron: glucosinalbina, glucotropaeolina y glucolimnatina (3 metoxibencil glucosinato) y seis perfiles diferentes de glucosinolatos (solo glucolimnatina; solo glucotropaeolina; glucosinalbina y glucotropaeolina; glucosinalbina y glucolimnatina; glucotropaeolina y glucolimnatina; y aquellos que presentaron glucoalisina, glucotropaeolina y glucolimnatina). Así también, Martín y Higuera, (2016), identificaron como glucosinato preponderante en genotipos de mashua colombiana a la glucoaubrietina, y en menor medida a la glucoalisina. Valer, (2001), citados por Manrique *et al.*, (2013) y Limaymanta (2018), reportaron la presencia de glucosinalbina, metoxi-hidroxi-bencil glucosinato, glucoaubrietina y glucotropaeolina en diferentes partes de la planta de mashua, siendo la glucoaubrietina el glucosinato predominante (Johns y Towers (1981; Ramallo *et al.*,2004). Asimismo, Martín y Higuera (2016) y Ramírez y Roosevelt (2017), identificaron a glucotropaeolina, gluconasturtina, glucoaubrietina y glucobrassicina en la accesión de mashua chispeada, predominando la glucobrassicina en esta accesión.

La muestra de mashua fresca morada inicial (día cero), presentó una cantidad total de glucosinolatos totales de 54,19 $\mu\text{mol/g}$ bs (calculada como equivalente a glucotropaeolina). Moscol (2013) informó la cantidad de 107,3 $\mu\text{mol/g}$ bs en mashua morada. Por otra parte, Arias, (2011), afirma que el contenido de glucósidos y glucosinolatos cianogénicos, en vegetales frescos, está influenciado por muchos factores, como el tipo de suelo, el espacio de la planta, la luz, la temperatura y la aplicación de fertilizantes, que pueden indicar la gran variación en el contenido de glucosinolato en los estudios efectuados.

Existen pocos estudios de glucosinolatos orientados a la raíz y tubérculos de los Andes, en comparación con las especies de *Brassica*. Varios estudios han reportado contenido de glucosinolato en flores de brócoli 10,97 $\mu\text{mol/g}$ bs (Álvarez-Jubete *et al.*, 2014), 10,35 $\mu\text{mol/g}$ bs (Aguiló-Aguayo *et al.*, 2015) y de 3,0 a 20,9 $\mu\text{mol/g}$ bs (Valverde *et al.*, 2015). Del mismo modo, Kapusta-Duch *et al.*, (2016), informaron el contenido de glucosinolato en los valores de hallazgo de coliflor verde, coliflor púrpura y nabicol de 5,2, 8,26 y 7,34 $\mu\text{mol/g}$ bs.

También, Martín e Higuera (2016), mencionan que el perfil y el contenido de glucosinolatos en el tubérculo Mashua dependen de la variedad, la región y los estados de crecimiento. Según el análisis de estos, el actor principal es la glucoaubrietina, que rara vez se halla en vegetaciones comestibles, por lo que no hay reportes de sus efectos fisiológicos (Ramallo *et al.*, 2004). Sin embargo, hay estudios sobre su efecto fungicida (Martín y Higuera, 2016), que han tenido mucho éxito en la reducción de hongos patógenos del suelo, nematodos, insectos y también se ha evaluado su efecto sobre los rendimientos de los cultivos (McGuire, 2003). Por lo tanto, se puede decir que el contenido de glucosinolatos en mashua es mayor en comparación con el de las especies de maca y *Brassica*, lo que hace de este cultivo una fuente valiosa de glucosinolatos, principalmente del tipo aromático. Sin embargo, los

glucosinolatos en grandes cantidades, pueden tener efectos perjudiciales sobre el sistema nervioso; por lo tanto, la dosis diaria aceptable es de entre 24 y 1 200 mg/persona/día. (Hernandez, 1997)

Asimismo, en relación al efecto de las de las condiciones de almacenamiento (refrigeración, sombra y exposición al sol) pos tratamientos sobre los glucosinolatos, los resultados del contenido de glucosinato de mashua, almacenado en condiciones de refrigeración, sombra y sol (Tabla 8), se halló una diferencia significativa ($p < 0,05$) en el contenido total de glucosinato/glucoaubrietina y tipo de almacenamiento: el contenido de sombra es más alto, sin embargo, para los otros glucosinolatos, no existe una diferencia significativa entre el almacenamiento en frío y la sombra, pero con el almacenamiento soleado, este último se presenta en cantidades más pequeñas.

Según Endara y Coley (2011), los factores ambientales influyen en el metabolismo secundario, porque las plantas de estrés producen más metabolitos secundarios. Cramer *et al.* (2011), mencionan que las respuestas de las plantas al tratamiento de almacenamiento, son dinámicas y complejas; como las vías metabólicas de la síntesis de glucosinolatos. Por otra parte, es importante señalar que el mashua almacenado, en diferentes condiciones, estuvo expuesto a tensiones abióticas de humedad relativa, temperatura y radiación solar, principalmente, estos factores no fueron controlados; sin embargo, se monitoreó la humedad relativa y la temperatura del tubérculo y el entorno en el que se monitorearon las muestras, así como las temperaturas internas del tubérculo, como se señaló anteriormente.

Como puede verse en la Tabla 8, el contenido de glucosinato de las muestras enfriadas en relación con el control, se comportó fluctuante durante los 15 días de almacenamiento, con el pico más alto el día 12 (78,38 $\mu\text{mol} / \text{g}$ bs) y con una ligera disminución actualizada en comparación con el control

(49,57 $\mu\text{mol/g bs}$). En consecuencia, se precisa que la refrigeración preserva el nivel de glucosinolato durante los 15 días de evaluación. La temperatura es un factor decisivo en la actividad respiratoria en particular y el metabolismo en general.

Al respecto, Ramón (2017), menciona que el enfriamiento reduce la respiración y la sudoración en los tubérculos mashua. Una disminución de 10°C provoca una reducción en la velocidad de reacción a la mitad (Wills *et al.*, 1999). Por otro lado, Ramallo *et al.*, 2004 realizaron una prueba con dos variedades de mashua, para evaluar el efecto del almacenamiento a 6°C en glucosinolatos, señalando que, en la variedad morada, el contenido de glucosinolato se mantuvo estable durante el período de evaluación de contraste de la variedad amarilla, cuyo contenido A medida que el glucosinolato aumentó y posteriormente disminuyó. Esta tendencia se justificó por la complejidad de la regulación bioquímica del glucosinolato en la síntesis y degradación de los tubérculos. Es importante tener en cuenta que la estructura celular, la respiración y la transpiración de las verduras y los tubérculos, no son las mismas. Por lo tanto, las condiciones de almacenamiento en frío producen resultados diferentes. La mayoría de los estudios, recomiendan la refrigeración para mantener o aumentar el contenido de glucosinolatos en las especies de Brassica. En nuestro estudio, el enfriamiento permitió aumentar en un 44,64 % en comparación con el control hasta el día 12, por lo que podríamos recomendar mantener los tubérculos mashua, a la temperatura de la cosecha, después de la cosecha durante menos de 12 días.

Con respecto al almacenamiento en la sombra, fue posible aumentar el nivel total de glucosinolato hasta el día 6 (82,13 $\mu\text{mol/g bs}$) y, posteriormente, el contenido disminuyó ligeramente al control (58,83 $\mu\text{mol/g bs}$) La temperatura del microclima, generado alrededor de los tubérculos, fluctuó entre $8,2 - 19,1^{\circ}\text{C}$ y la humedad relativa entre 35,0 - 82,0 por ciento. Song y Thornalley (2007), no observaron una disminución significativa en el contenido de glucosinolato en

las verduras *Brassica* (brócoli, coles de Bruselas, coliflor y col verde), cuando se almacenaron a temperatura ambiente y se refrigeraron. Las diferencias en los datos pueden deberse a la diferencia en las condiciones de almacenamiento (temperatura fluctuante versus temperatura controlada). Hwang, Jang, y Kim, (2012), mencionan que el almacenamiento prolongado, a temperatura ambiente, puede reducir el nivel de glucosinolatos en la col coreana, ya que Toivonen y Forney (2004), informaron un rápido deterioro de los glucosinolatos en el brócoli, después de la cosecha cuando se mantienen a temperatura ambiente, principalmente causados por deshidratación más rápida y ruptura de las paredes celulares, y por lo tanto hidrólisis enzimática por mirosinasa.

Es importante, subrayar que Ramón (2017), menciona que el mashua almacenado en la sombra, sufrió pérdida de agua durante los días de evaluación, pero esta deshidratación no generó muchos cambios en el nivel de glucosinolatos. Como se menciona en los estudios, en las verduras *Brassica*, el almacenamiento a temperatura ambiente mantiene o disminuye el nivel de glucosinolatos; por el contrario, en la mashua el almacenamiento a temperatura ambiente bajo sombra, ha permitido incrementar el nivel de glucosinolatos, incluso mayor al almacenamiento refrigerado. Por otro lado, el almacenamiento a temperatura ambiente a la sombra, permitió aumentar el nivel de glucosinolatos incluso más que el almacenamiento refrigerado. En las verduras de *Brassica*, la pérdida de la estructura celular se genera posiblemente a temperatura ambiente, lo que provoca pérdidas en el contenido de glucosinolatos, a diferencia del almacenamiento de tubérculos de mashua de sombra.

En relación, al almacenamiento en sol, los tubérculos fueron expuestos a tres tensiones abióticas (humedad relativa, temperatura y radiación solar), que causaron cambios en el metabolismo de mashua, aumentando el contenido total de glucosinolatos hasta el día 3 (76,05 $\mu\text{mol} / \text{g bs}$), desde entonces hasta

el día 15, el nivel de glucosinolato disminuyó gradualmente a 4,51 $\mu\text{mol/g}$ bs. Por lo tanto, se observa que desde el día 9, no se detecta la presencia de glucobrasicina, esto puede deberse al hecho de que los glucosinolatos inorgánicos son más sensibles a las condiciones de almacenamiento, en comparación con los alifáticos y aromáticos (Verkerk, *et al.*, 2001). Del mismo modo, la glucotropaeolina no se detecta desde el día seis. La temperatura del microclima generado alrededor de los tubérculos, varía entre 3,5-50,8°C, temperaturas muy extremas y variables, que pueden indicar que el calor generado. Al respirar los tubérculos más el calor obtenido del clima soleado, la temperatura circundante aumenta a 50°C, un hecho relacionado con la pérdida de peso durante este período (Ramón, 2017). Por lo tanto, se puede suponer que se produjo la ruptura del tejido celular, causando que el glucosinolato y la mirosinasa entren en contacto, generando efectos significativos sobre el contenido de glucosinolato. No se ha controlado el estrés, pero si se monitoreó, el sol que es una práctica doméstica/ancestral realizada por cultivadores de Mashua en las montañas peruanas; el sol está hecho para aumentar la dulzura y disminuir el contenido de glucosinolato en el medio ambiente de mashua. (Grau *et al.*, 2003)

De otro lado, en lo que concierne a la *identificación de glucosinolatos en la materia prima (mashua morada sin procesamiento)*, los desulfoglucosinolatos se identificaron comparando los tiempos de retención y las propiedades de los espectros UV para desulfoglucosinolatos de extractos de maca purificados (*Lepidium meyenii* Walp.) (Campos *et al.*, 2011), que comparten 4 de los 5 glucosinolatos identificados en este trabajo (glucosalysin, glucosinalbin, 4-hydroxylucobrassicin, glucotropaeolin) y mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz and Pavón) (Campos *et al.*, 2011), ya que coincide con los cinco glucosinolatos identificados. Vale la pena mencionar los análisis realizados por Yábar *et al.*, (2011) realizado por Campos *et al.*, (2011) en condiciones idénticas.

En cuanto a la *identificación de glucoalyssin*, fue reportado inicialmente como *Tropaeolum tuberosum* por Campos *et al.*, (2011). La presencia de glucoalyssin, se confirmó comparando los tiempos de retención (Anexo 7) y los espectros UV (Anexo 8) con investigaciones previas sobre el brócoli (Ciešlik y cols. , 2007), la maca (Yabar y cols., 2011) y la mashua. (Campos *et al.*, 2011), comparten el mismo glucosinolato alifático, observando similitud en los tiempos de migración y retención del perfil cromatográfico y espectros de absorción idénticos con un pico de absorción máximo a 226,4 nm y un pico de absorción más bajo a 277,2 nm.

Respecto, a la *identificación de glucosinalbin*, fue reportado previamente por Fahey y cols.(2001), en la familia Tropaeolaceae y específicamente en *Tropaeolum tuberosum* por Ortega *et al.*,(2006). La presencia del glucosinalbin, se confirmó comparando los tiempos de retención (Anexo 7) y los espectros UV (Anexo 8) con investigaciones previas sobre maca y mashua (Campos *et al.*, 2011) que comparten el mismo glucosinolato. observando similitud en los tiempos de migración y retención del perfil cromatográfico y espectros de absorción similares con un pico de absorción máximo entre 274 y 280 nm.

En lo que atañe a la *identificación de 4-Hydroxyglucobrassicin*, Campos *et al.* (2011), reportaron previamente el 4-hidroxiglucobrassicina en *Tropaeolum tuberosum*. La presencia de 4-hidroxiglucobrassicina se confirmó utilizando estándares de glucosinolato típicos en muestras de colza. El material de referencia certificado utilizado fue BCR-367R (Linsinger *et al.*, 2001). La comparación de los tiempos de retención (Anexo 7) y los espectros UV (Anexo 8) se realizó con investigaciones previas sobre la maca (Yabar *et al.*, 2011) y la mashua (Campos, 2011) que comparten el mismo glucosinolato de indol, observando similitud en los tiempos de migración y retención del perfil cromatográfico y espectros de absorción idénticos con un pico de absorción máximo a 281,9 nm.

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

En lo que atañe, a la *identificación de glucoaubrietin*, constituye el glucosinolato más importante y abundante que se encuentra en el mashua. Este compuesto fue reportado previamente por Fahey *et al.*, (2001) en la familia *Tropaeolaceae* y más específicamente en *Tropaeolum tuberosum* según Johns (1982), Johns y Neil Towers (1981), Johns *et al.* (1982) y Ramallo *et al.* (2004) La presencia de glucoaubrietin se confirmó en comparación con los resultados obtenidos por Ramallo *et al.*, (2004) (Anexo 9), quienes encontraron perfiles de HPLC similares para 6 variedades diferentes de mashua (3 amarillas, 2 moradas y 1 anaranjada) e identificaron, por cromatografía de gases/espectrometría, de masas los productos de descomposición de glucoaubrietin (4-metoxibencil isotiocianato). y trazas de 4-metoxibenceno acetonitrilo) confirmando la presencia de 4-metoxibencil glucosinolato (glucoaubrietin). Tanto en los ensayos de Ramallo *et al.*, (2004), como en la presente investigación, este glucosinolato aparece después de 20 minutos de tiempo de retención, tiene la misma migración que el glucosinolato equivalente encontrado por Piacente *et al.*, (2002) y coincide con el espectro de absorción de glucoaubrietin encontrado en mashua por (Campos *et al.*, 2011) (Anexo 8).

Fahey *et al.*, (2001), informaron ocho glucosinolatos para la familia *Tropaeolaceae*: etil glucosinolato (glucolepidiin), 1-metiletil glucosinolato (glucoputranjivin), 1-metilpropil glucosinolato (glucocohlearin), 2-glucosinolato glucosinolato, metilpropilo (identificación tentativa), 2-hidroxi-2-metilpropil glucosinolato (glucoconringiin), bencil glucosinolato (glucotropaeolin), 4 - hidroxibencil glucosinolato (glucosinalbin) y 4-metoxibencil glucosinolato

(glucoaubrietin); tres de ellos se reportaron que estaban presentes en *Tropaeolum tuberosum*: glucotropaeolin, glucoputranjivin y glucocochlearin.

Ramallo *et al.* (2004), estudiaron el contenido de glucosinolato en seis variedades de *Tropaeolum tuberosum* (3 amarillas, 2 moradas y 1 anaranjada) nativos de Bolivia e identificaron y cuantificaron por HPLC la presencia de p-metoxibencil glucosinolato (glucoaubrietin) como el único glucosinolato presente en mashua. Ortega *et al.*, (2006), identificaron y cuantificaron por HPLC los glucosinolatos presentes en 442 variedades peruanas de mashua cultivada y 39 variedades de sus parientes silvestres e informaron la presencia de tres glucosinolatos aromáticos: 4-hidroxibencil glucosinolato (glucosinalbin), bencil glucosinolato (glucotropaeolin) y m-metoxibencil glucosinolato (glucolimnathin), divididos en 6 fenotipos de agrupación diferente.

Cabe mencionar, a Arias (2011), analizó 65 variedades de mashua de Colombia, a través de cromatografía de capa delgada, análisis espectrofotométrico y HPLC e identificó tentativamente dos glucosinolatos: p-hidroxibencilglucosinolato (glucosinalbin) y 2-feniletil glucosinolato (gluconasturtiin). Igualmente, Valer, (2001) identificó y cuantificó cuatro glucosinolatos en varios órganos (hojas, tallos, tubérculos y raíces) de mashua, variedad morada: 4-hidroxibencil glucosinolato (glucosinalbin), metoxihidroxibencil glucosinolato (identificación a nivel de ensayo), bencil glucosinolato (glucotropaeolin) y 4-metoxibencil glucosinolato (glucoaubrietin).

Finalmente, se deduce que los glucosinolatos de naturaleza aromática son los que se encuentran más comúnmente en mashua, pero la presencia o ausencia de algunos glucosinolatos depende de los genes y el entorno de la variedad con la que desea trabajar, es decir, de la matriz de la planta, las

condiciones agronómicas, el tiempo de cosecha, manejo después de la cosecha, entre muchos otros factores influyentes.

En lo que respecta a la *cuantificación de glucosinolatos*, en el cotejo con los resultados previos para la variedad morada, Valer (2001), al estudiar el contenido de glucosinolato del genotipo ARB 5240 de mashua (variedad morada), relacionada con el genotipo DP 0224 (representante del eco tipo morado en la investigación actual), reportó 121,11 y 117,1 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS de contenido total de glucosinolatos (todos de naturaleza aromática) y glucoaubrietin, respectivamente, con valores muy similares a los reportados en esta investigación.

Al comparar las concentraciones obtenidas para la variedad estudiada, de origen nacional, con resultados previos reportados en mashua cultivados en otros países, podemos mencionar a Ramallo *et al.*, (2004), que analizó seis variedades de mashua (3 amarillas, 2 moradas y 1 naranja), de la estación experimental en PROINPA, Bolivia e informó 36,5, 53,6 y 53,7 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS para las tres variedades amarillas, 83,7 y 90 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS para las dos moradas y 84,1 para la anaranjada; las concentraciones encontradas son más bajas que las reportadas para las mismas variedades (amarillo y morado) en el estudio actual. Esto, probablemente se deba, en parte, al uso de agua hirviendo en lugar de metanol como disolvente de extracción, a las condiciones agronómicas y/o otros factores externos. A su vez, Arias (2011) realizó un análisis comparativo del contenido total de glucosinolato de 65 genotipos de mashua pertenecientes a la Colección Regional de la Universidad Nacional de Colombia (incluidas las variedades amarillas y moradas) y descubrió que el contenido total de glucosinolato, presente en los genotipos de mashua colombianas, varía entre 1,20 y 30,40 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS, valores muy por debajo de los resultados obtenidos en la presente investigación, que pueden depender del método de

cuantificación utilizado (método de ferrocianuro) que proporciona menos confiabilidad y precisión que el método de HPLC utilizado en este trabajo.

Finalmente, debido a que hay dos subespecies en *T. tuberosum*: mashua cultivada (*Tropaeolum tuberosum* spp *tuberosum*) y la forma silvestre (*Tropaeolum tuberosum* spp. Wild), debe mencionarse que a pesar del hecho de que Ortega y cols. (2006), que analizó 442 conexiones de mashua cultivado y 39 genotipos de sus parientes silvestres, de la región de Cusco, informaron un contenido total de glucosinolatos entre 0,27 y 50,74 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS, donde la mayoría genotipos con bajos niveles de GSL, pertenecía a la población cultivada ($< 5,00 \mu\text{mol g}^{-1}$ BS), y aquellos con el mayor contenido, a la población silvestre ($> 25 \mu\text{mol g}^{-1}$ BS). Los resultados informados en este estudio contradicen y superan con creces estas concentraciones, tanto para el mashua cultivada (utilizada en este trabajo) como para sus parientes silvestres.

Por lo tanto, al analizar y evaluar los resultados reportados en esta investigación, con investigaciones anteriores sobre el contenido de glucosinolato en mashua, las concentraciones encontradas en este trabajo exceden el contenido informado en el trabajo anterior, excepto Valer (2001), que informa concentraciones similares para la variedad morada que informa concentraciones similares para la variedad morada.

Este análisis mostró no solo un mayor nivel de contenido de glucosinolato en comparación con otros estudios en mashua, sino también con otros vegetales comestibles que tienen glucosinolatos en su composición. Por ejemplo, las cantidades o concentraciones totales reportadas de glucosinolatos en la coliflor (*Brassica oleracea* var *botrytis*), el brócoli (*B. oleracea* var *itálica*), las coles de Bruselas (*Boleracea* var *gemmifera*) y el rábano (*Raphanus sativus*) son 1,8, 16,7, 34,9 y 7,0 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS respectivamente (Mithen *et al.*,

2000). Estas verduras contienen diferentes tipos de glucosinolatos (alifáticos, aromáticos, indólicos) pero no el que se encuentra contenido en mashua (glucoaubrietina). De acuerdo con Fahey *et al.* (2001), solo se han reportado dos especies no Tropaeolaceae que producen glucoaubrietina: *Lepidium bonariense* y *Aubrietia delwidea* (ambas de la familia Brassicaceae).

Por lo tanto, los resultados de este estudio demuestran que el mashua es una fuente importante de glucosinolatos aromáticos, muy superior a casi todas o todas las demás especies de plantas comestibles. Esto es extremadamente importante debido al alto valor medicinal y quimiopreventivo de esta especie. La investigación ha demostrado que los glucosinolatos y sus productos de degradación (isotiocianatos), juegan un papel importante en la prevención de varios tipos de cáncer (Cristal y Lampe, 2012; Lampe y Peterson, 2002; Zhang, 2004; Zhang *et al.*, 2005; Finley, 2005; Higdon *et al.*, 2007). De este modo, la síntesis de varios estudios realizada por Mithen y cols., 2000 y Fahey *et al.*, 2001), informaron que el consumo de alimentos que contienen glucosinolatos en su composición, puede disminuir el riesgo de cáncer rectal y cáncer de colon.

El glucosinolato de bencilo tiene varias características protectoras contra el cáncer (Wattenberg, 1977; Wattenberg, 1981; Tawfiq *et al.*, 1995; Fahey *et al.*, 1997) y estudios específicos han demostrado que la actividad del dimetilbenz (a) cancerígeno mamario antraceno (DMBA), fue inhibido por el isotiocianato de bencilo (producto de degradación del glucosinolato de bencilo: GSL aromático presente en mashua) (Wattenberg, 1977 y 1981). Como el glucoaubrietin (p-metoxibencil glucosinolato) está estructuralmente relacionada con el bencil glucosinolato, podemos especular que también tiene actividad anticancerígena.

Hablando específicamente de mashua en Perú, se cree que la variedad morada tiene propiedades anticancerígenas (conocimiento popular) y, de hecho, Noratto *et al.*, (2004), estudiando el potencial anticancerígeno de mashua, informaron que los extractos de mashua, suprimen la proliferación de células tumorales, mostrando que los extractos ricos en isotiocianato tienen actividad anticancerígena en células experimentales de colon y próstata. Además, la extracción de fracciones químicas bioactivas de mashua, con acción anticancerígena y pruebas clínicas con animales transgénicos que presentaban cáncer de colon, próstata y melanoma, mostraron que el extracto combinado con ging-seng, lovastatina y γ -tocotrienol fue el más efectivo; efecto atribuido a los glucosinolatos de mashua y sus productos de degradación correspondientes, es decir, isotiocianatos (Roca y Manrique, 2005); lo que evidencia la relevancia y potencial preventivo de la presencia de glucosinolatos en mashua.

- Influencia de los tratamientos aplicados del procesamiento de la mashua en la retención de glucosinolatos totales e individuales en el contenido de glucosinolatos.

Pueden ocurrir diferentes procesos durante el blanqueado y la deshidratación (lío-filizado) que determinan el destino de GSL. En este sentido, es esencial identificar la influencia de cada uno de los pasos que implica el tratamiento, para determinar las condiciones del proceso de acuerdo con el objetivo que se persigue y así optimizar los procesos.

En lo que atañe, al *tratamiento de blanqueado*, se tiene que el blanqueado por ebullición proporcionó los niveles de GSL totales e individuales más altos, mientras que el blanqueado por microondas tuvo el nivel más bajo e incluso condujo a la pérdida total de glucosinolatos. Estos resultados están de

acuerdo con los reportados por Vallejo *et al.*, (2002), cuya investigación encontró claras desventajas al usar el tratamiento con microondas debido a una alta pérdida en el contenido total de glucosinolato (74 %); Sin embargo, en su trabajo, el proceso de ebullición también tuvo una tasa de reducción significativa del 55 % en comparación con las verduras frescas; Esto se debe principalmente a la lixiviación de GSL en el medio, que también se atribuye a la pérdida de glucosinolatos en la presente investigación, ya que los glucosinolatos son solubles en agua, por lo que una fracción de estos compuestos se lixivian en el medio. debido a la lisis celular, cuando el método de blanqueo incluye el uso de agua (Mullin y Sahasrabudhe, 1978; Gliszczyńska-Świgło *et al.*, 2006). Asimismo, Slominski y Campbell (1989), informaron en el repollo, más del 50 % de los productos de degradación de glucosinolatos en el medio. Además, Sones *et al.*, (1984), se refieren a la degradación térmica debido a la pérdida de GSL debido a la volatilización.

Se ha señalado que la ebullición causa grandes pérdidas en el nivel de glucosinolato (Ciska y Kozłowska, 2001; Oerlemans *et al.* 2006; Volden *et al.*, 2008), sin embargo, este trabajo demuestra que, si las condiciones de procesamiento están controladas y se logra una buena interacción entre los factores, se pueden obtener altos rendimientos o porcentajes de retención, lo que contradice el informe de estos autores. La hipótesis que se establece para esta investigación, con la información obtenida sería que, en ebullición, el proceso de ruptura celular, probablemente, ocurre cuando las temperaturas son desfavorables para la hidrólisis enzimática por mirosinasa, especialmente en períodos de exposición más largos, ya que es poco probable que ocurra esta hidrólisis.

El proceso de blanqueo por microondas, presenta resultados controvertidos en la literatura debido a las diferentes condiciones utilizadas, como el tiempo, la potencia y el volumen de agua añadida (López-Berenguer *et*

al., 2007). La alta tasa de evaporación del agua de lixiviación con glucosinolato de brócoli, puede explicar las dramáticas pérdidas en el caso de Vallejo (2002), lo cual es consistente con los hallazgos de este trabajo. Por el contrario, Verkerk y Dekker (2004), informaron un aumento del 78 % en el contenido total de glucosinolato en la col de microondas, suponiendo que el aumento se debió a la mayor capacidad de extracción; sin embargo, no usaron agua durante el blanqueo lo que podría explicar la ausencia de pérdida en el contenido de GSL. Otros autores que informan niveles más altos de glucosinolatos de microondas, usan cantidades mínimas de agua, como Yuan *et al.*, (2009), que utiliza 200 g de brócoli con 10 ml de agua, eliminando el riesgo de pérdida de lixiviación y Rungapamestry *et al.* (2006), que utiliza solo 16 ml de agua con 120 g de col, reduciendo ligeramente el contenido de glucosinolato con este tratamiento. Por lo tanto, bajo las condiciones utilizadas para esta investigación (agua: tubérculos 2 :1), la pérdida de glucosinolatos probablemente se deba a su lixiviación en el agua de cocción, por lo que es necesario evitar agregar un exceso de agua durante el blanqueo.

Por otro lado, la velocidad y el grado de degradación de los glucosinolatos, están relacionados con la velocidad y el principio de la transferencia de calor. En la ebullición convencional, el calentamiento comienza en la superficie de los alimentos y el calor se transfiere lentamente al centro de alimentos por conducción; por el contrario, en la cocción por microondas, las microondas penetran en el centro de alimentos por radiación y el calor generado dentro de los alimentos, como medida que la humedad se transfieren a la superficie, se produce un aumento equivalente de temperatura más rápido en el blanqueo por microondas que en la ebullición. (Knutson, Marth y Wagner, 1987), lo que provoca una mayor degradación térmica y pérdida de glucosinolatos.

En lo que concierne, a la *condición del estado del tubérculo*, las concentraciones de glucosinolatos totales más altas, se obtuvieron con

tubérculos cortados. Una práctica culinaria común, es cortar las verduras antes de cocinarlas, lo que las expone a la acción de la enzima mirosinasa, que degrada los glucosinolatos, causando una disminución en su contenido. Song y Thornalley, (2007), encontraron que un corte muy delgado tenía un efecto marcado en el contenido de glucosinato; Además, se requirió un período de post-corte significativo, de más de una hora, para observar una disminución significativa en el contenido de glucosinato, aunque dicha reducción no excedió el 10 %; Por el contrario, las verduras finamente picadas, expuestas al medio ambiente durante hasta 6 horas, registraron pérdidas de hasta el 75 % para la coliflor, el brócoli y las coles de Bruselas y el 60 % para la col verde.

Anteriormente, se había sugerido la pérdida de glucosinolatos debido a la alteración celular causada por el cortado, era producida por la participación de la mirosinasa, una enzima catalizadora de la hidrólisis de los GLS. (Ludikhuyzey Hendrickx, 2000; Smith *et al.*, 2003)

Por otro lado, como las verduras casi siempre se muelen o pican antes del procesamiento industrial, es importante mencionar que cuando la matriz vegetal se pica, la hidrólisis de los glucosinolatos es limitada, mientras que en la homogeneización mecánica (trituration), el grado de degradación de los glucosinolatos es mucho mayor. El grado de daño físico y, por lo tanto, la liberación de sus componentes, puede explicar estas diferencias. En el caso del corte, la hidrólisis ocurrirá solo en la superficie de corte. Un cálculo aproximado predice que esto representa solo un pequeño porcentaje de daño celular, posiblemente explicando la hidrólisis limitada de los glicosinolatos; mientras que, en el caso de aplastamiento u homogeneización, el daño aumenta debido a la liberación de una mayor cantidad de mirosinasa y glucosinolatos, lo que resulta en una mayor degradación. (Verkerk *et al.*, 2001)

En esta investigación, no solo se registraron los niveles más altos de contenido de glucosinolato con tubérculos cortados versus tubérculos enteros, sino que se encontraron aumentos significativos en la concentración de glucosinolato sobre la concentración inicial en mashua fresco y sin procesar. El estudio del corte como parte del procesamiento y el consiguiente aumento en el contenido de glucosinolato, fue informado por primera vez por Verkerk *et al.*, (2001), donde la actividad de mirosinasa fue aparentemente neutralizada por dicho aumento de glucosinolato, que se atribuyó a un mecanismo de aumento de glucosinolato inducido por el estrés, que juega un papel importante más allá del mecanismo de degradación conocido. La mashua sufre diferentes tipos de estrés durante el manejo posterior a la cosecha, lo que podría desencadenar un metabolismo complejo en los glucosinolatos, donde el corte, por ejemplo, pone en contacto la enzima degradante mirosinasa con glucosinolatos, lo que podría causar la hidrólisis de los glucosinolatos de alto grado (Jia *et al.*, 2009), sin embargo, esto también puede inducir la biosíntesis de glucosinolatos durante los tratamientos de blanqueo y/o cocción. (Yuan *et al.*, 2009)

La hipótesis de la acumulación de glucosinolato inducida por el estrés también es respaldada por Bennett y Wallsgrove (1994), quienes informan niveles más altos de glucosinolato, debido al impacto ambiental y al corte o corte como parte del procesamiento.

Por otro lado, Hansen *et al.*, (1995) y Schreiner *et al.*, (2007), propusieron que el aumento observado en la concentración de glucosinolato podría asociarse con niveles elevados de metabolitos (por ejemplo, aminoácidos, aminos) que se originan a partir de la descomposición de otros compuestos y están disponibles para la biosíntesis de glucosa de novo y luego, bajo condiciones de bajo estrés y menos daño celular, la síntesis de novo de GLS puede equilibrar o incluso superar las pérdidas debido a su hidrólisis y

resultar en un aumento en la concentración de GLS. (Doughty *et al.*, 1995; Takasugi y Monde, 1991; Koritsas *et al.*, 1991)

El nivel de glucosinolatos en mashua es, por lo tanto, un reflejo de dos procesos fisiológicos opuestos: la hidrólisis de glucosinolatos por mirosinasa y la inducción de la biosíntesis de glucosinolatos de una manera aún desconocida. Estos resultados, subrayan el hecho de que la acumulación de glicosinolatos inducida por plantas, se debe a la síntesis de glucosa de novo en lugar del transporte de GSL entre los órganos, y que la biosíntesis se controla a nivel de transcripción génica. (Textor y Gershenzon, 2009)

Por lo tanto, la biosíntesis de novo, la degradación y el transporte de glucosinolatos, pueden constituir un delicado diagrama de regulación dinámica a través del cual se cumplen diversas funciones fisiológicas. (Chen y Andreasson, 2001)

En lo tocante, al *tiempo de blanqueado*, el efecto del tiempo de blanqueo, fue probado utilizando estadísticos como la prueba de Duncan que mostró que la concentración de glucosinolatos totales e individuales en el caso del blanqueo por microondas, se redujo significativamente con todos los tiempos probados. (3, 4,5 y 6 minutos); mientras que, en el caso del blanqueado a ebullición, no hubo diferencia e incluso hubo aumentos significativos en el contenido total de glucosinolato e individuales después de 4,5 y 6 minutos (tubérculos cortados).

Los resultados de esta investigación, son consistentes con los reportados por Vallejo *et al.*, (2002), que mostró una reducción del 74 % en la concentración total de glucosinolato cuando el brócoli se colocó en el microondas durante cinco minutos a 1000 W, lo que explica esta reducción por

el alto grado de pérdida de agua que contienen los glucosinolatos lixiviados, sin embargo, la evaporación de agua no ha sido reportado. En contraste, Rungapamestry *et al.* (2006), mostró una reducción promedio en el repollo fue de 32 % de su peso fresco, después de ser cocinada en el microondas durante 7 minutos a 750 W de potencia; Las bajas pérdidas reportadas en su trabajo pueden deberse, en parte, a una superficie más pequeña para la penetración de calor en la porción de repollo en comparación con las porciones de brócoli, brócoli o mashua, y también debido a la menor potencia (750 W) en tratamiento con microondas. Contradictoriamente, Verkerk y Dekker (2004), demostraron un aumento del 78 % en el contenido total de glucosinolatos, después de que la col roja se sometiera a microondas durante 4 minutos y 48 segundos a 900 W, probablemente debido a la mayor capacidad de extracción química de los glucosinolatos de col procesados en comparación con el repollo fresco, aunque esto parece poco probable, ya que los glucosinolatos se extraen fácilmente con metanol al 70 % (Quinsac, no publicado) y se omite el uso del agua, eliminando el riesgo de lixiviación de GSL en el medio ambiente y considerando esa exposición a microondas redujo el contenido de humedad por evaporación, concentrando el presente GSL. Con respecto a la ebullición, Vallejo *et al.*, (2002), informó reducciones de hasta el 55 % con cinco minutos de blanqueamiento.

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

En lo relativo, al efecto *de la exposición al sol*, una práctica común en la población es que, antes de consumir los tubérculos de mashua, son expuestos

a la luz solar directa durante unos días para aumentar la dulzura y mejorar el sabor. Esta práctica aumenta el contenido de azúcar, y, probablemente induciendo a la degradación del almidón, y también puede reducir la cantidad de isotiocianatos, compuestos que se originan como consecuencia de la degradación de los glucosinolatos (Grau *et al.*, 2003; Dolores y Espín, 1997). La exposición prolongada a la luz solar afecta sustancialmente la síntesis de fitoquímicos (Hertog *et al.*, 1992). Las variables ambientales, como la radiación ultravioleta, afectan la composición química de las plantas al inducir respuestas al estrés (Antonious *et al.*, 1996; Reifenrath y Müller, 2007). Esta radiación ultravioleta es, por lo tanto, una causa de estrés abiótico (Smetanska, 2006). También se sabe que, el efecto nocivo de la radiación UV incluye daños en los tejidos estructurales, cambios en la citomorfología y cambios en la permeabilidad de las células epidérmicas internas. (Lichtscheidl, 1985)

En mashua morada, se probó el efecto soleado, a través de la prueba de Duncan que mostró que la concentración de glucosinolatos totales se redujo significativamente en tubérculos soleados versus no soleados, lo mismo se observó en 4-hidroxi glucobrassicin y glucoaubrietin; mientras que ocurre lo contrario en glucoalyssin y glucosinalbin, donde se encontraron concentraciones más altas en los tubérculos soleados que en los tubérculos sin sol; y el glucotropaeolin registró pérdida o ausencia total, independientemente del pretratamiento, es decir, para tubérculos soleados o sin solear.

En lo referido, al *efecto del secado y/o liofilización*, la mashua es valioso como un tubérculo fresco (crudo) para uso doméstico, pero también es interesante como polvo deshidratado o harina liofilizada, debido a su alto contenido de compuestos biológicamente activos. Es importante precisar que, para efectos de desarrollo de esta investigación, el proceso de secado está directamente asociado a la liofilización de la mashua, y es por ello que nos referiremos exclusivamente al producto liofilizado como producto secado.

Mrkic *et al.*, (2010), estudió el efecto de las condiciones de secado sobre el contenido de glucosinolato de brócoli y descubrió que el blanqueamiento antes del secado causaba una disminución significativa en el contenido de glucosinolato, lo que disminuía aún más el proceso de secado, lo que está de acuerdo con los resultados de este trabajo.

La degradación térmica de los glucosinolatos se produce a altas temperaturas (Oerlemans *et al.*, 2006), pero en algunos casos, como 80°C, puede registrar un mayor contenido o retención de glucosinolatos, ya que 80°C implica una temperatura más alta, pero un menor tiempo de exposición para este tratamiento térmico; mientras que 60°C implica una temperatura más baja, pero un tiempo de exposición más largo para lograr el mismo nivel de humedad objetivo, alcanzado más rápido a 80°C, dicha exposición prolongada también contribuiría a la pérdida del contenido de glucosinolato por la degradación térmica del mismo.

En lo referido, a la *selección de los mejores tratamientos*, se resalta que estudiar el contenido de glucosinolato a través de diferentes pasos de procesamiento, como el soleado (que convierte los almidones en azúcares, mejorando el sabor), el blanqueado (que por inactivación enzimática evita la degradación del glucosinolato) y el secado y/o liofilización (que aumenta la deshidratación la vida útil y la presentación mejorada del producto), entre otros factores estudiados en la presente investigación (estado del tubérculo y tiempo de blanqueo), permitirán la selección futura de variedades y tratamientos de acuerdo con el objetivo perseguido.

Si el objetivo es un producto con un alto contenido de glucosinolato beneficioso que se pueda utilizar como fuente de alimento funcional o materia prima en la medicina, los tratamientos de elección, que registraron los valores

más altos de contenido total de glucosinolato, se obtuvieron para los tubérculos sin soleado, sin blanqueado y secado directamente a 60°C (113,04 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS), y para tubérculos sin soleado, cortados, blanqueados por ebullición y secos directamente a 80°C (110,66 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS), estos valores son estadísticamente iguales ($p > 0,05$) al valor total del contenido de glucosinolato en mashua fresco sin procesar.

Si el objetivo es un producto bajo en glucosinolato, eliminando así el amargor y la astringencia producidos por algunos de estos compuestos, para producir líneas de sabor mejoradas que ayuden a aumentar la aceptación de este cultivo altamente proteico, los tratamientos de elección, que tienen los más bajos valores totales de contenido de glucosinolatos para tubérculos sin soleado, cortados, blanqueados en microondas y secados a 60°C (10,32 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS) y 80°C (5,90 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS) y 80°C (13,10 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS), con una disminución significativa de 91 y 88 %, respectivamente ($p > 0,05$).

En lo tocante, a la *actividad de la enzima mirosinasa en el procesamiento de mashua*, se precisa que como la presencia de la enzima mirosinasa es crucial en la producción de productos de descomposición de glucosinolatos importantes en el cuidado y la protección de la salud, es importante evaluar la actividad hidrolítica restante en mashua después del procesamiento. En *Brassicaceae*, el sistema de glucosinolato mirosinasa juega un papel importante en la defensa contra herbívoros y patógenos (Halkier y Gershenzon, 2006). Su eficacia puede estar relacionada con la calidad y cantidad de glucosinolatos, así como con la actividad de mirosinasa.

La mayoría de las investigaciones se han centrado en los efectos beneficiosos de los glucosinolatos y sus productos de degradación en la salud; Sin embargo, hay muy poca información sobre la estabilidad de la mirosinasa

durante el procesamiento, además del hecho de que la mayoría de las investigaciones se realizaron en extractos crudos, pero sin procesar. Sin embargo, en este artículo intentamos determinar el efecto que cada etapa de procesamiento tiene sobre la actividad de la mirosinasa de *Tropaeolum tuberosum*.

Los pocos estudios anteriores han demostrado que el sistema de glucosinolato mirosinasa, se modifica durante el procesamiento debido a la inactivación parcial o total de la mirosinasa, la degradación térmica de los glucosinolatos y sus productos de hidrólisis, la pérdida de cofactores enzimáticos, la lixiviación de glucosinolatos y sus derivados en el medio de cocción y / o blanqueado, o volatilización de los derivados (Dekker *et al.*, 2000). El grado de estas pérdidas, probablemente, depende de la duración y el tipo de tratamiento térmico, el grado de desintegración del material y la misma matriz de la planta. (Rosa y Heaney, 1993)

La baja actividad de la mirosinasa en el soleado, puede estar relacionada con la disminución en la concentración de ácido L-ascórbico, Ramón (2017) informó esta disminución. En este sentido, Shikita *et al.*, (1999) y Burmeister *et al.*, (2000), mencionan que el ácido ascórbico, es un cofactor conocido de la mirosinasa, que sirve como catalizador básico en la hidrólisis del glucosinolato, y su cambio de concentración altera la actividad enzimática. Lee *et al.*, (2017) afirman que la disminución del contenido de ácido ascórbico y la expresión del gen MBP2 (relacionado con la mirosinasa), fueron las principales causas de la reducción de la actividad de la mirosinasa en el rábano. Posiblemente también la actividad enzimática disminuye al reducir la cantidad de sustrato presente en mashua.

El blanqueamiento por microondas causó la pérdida total de la actividad de mirosinasa, excepto solo por tres minutos de blanqueado, donde también se registraron reducciones abruptas, manteniendo solo el 4 y el 5 % de la actividad de mirosinasa para tubérculos cortados y tubérculos enteros, respectivamente. Estos resultados, coinciden con los reportados por Rungapamestry *et al.*, (2006), en cuya investigación, la actividad de la mirosinasa se perdió por completo después de dos minutos de microondas. El blanqueado por microondas puede conducir a aumentos rápidos de temperatura en la matriz de la planta (SALE, 1976). El tratamiento de blanqueado con microondas, ha propuesto un modelo de dos pasos para la inactivación de la mirosinasa, que consiste en un período de inactivación inicial rápida seguido de un deterioro más lento que finalmente se estabiliza (Italica *et al.*, 1999), en este caso, lo cual, en esta investigación, fue demostrada por la reducción abrupta de la actividad de mirosinasa después de enviar mashua al blanqueado en el microondas durante 3 minutos. La actividad de mirosinasa blanqueada por mayor tiempo, se perdió por completo. Estas observaciones son similares a las de Verkerk y Dekker (2004) cuando la col roja se colocó en el microondas durante cuatro minutos y 48 segundos a 900 W, mostrando una caída repentina en la actividad de la mirosinasa a los 144 segundos.

El tratamiento del blanqueo por ebullición de la variedad morada o purpura registró mayores pérdidas en los tubérculos cortados en relación con el conjunto y mayores pérdidas en los tubérculos soleados en comparación con los sin soleado. Se ha informado que la temperatura ideal para la actividad de mirosinasa es de 30°C y que esta actividad se reduce en un 70 % a 50°C durante cinco minutos (Ludikhuyze *et al.*, 2000), esto podría explicar la relativa alta tasa de pérdida de actividad de mirosinasa por ebullición. Rungapamestry *et al.*, (2008), informaron que el blanqueo por ebullición, no redujo significativamente la actividad de la mirosinasa de brócoli, esta diferencia en relación con las mayores pérdidas en mashua, puede deberse principalmente a

la diferente estructura física de cada especie en relación con la penetración de calor.

La mirosinasa es una enzima relativamente termolábil. Sin embargo, en *Brassicaceae* su estabilidad térmica varía según la especie, en la col verde se observó una estabilidad a 55°C durante 10 minutos (Ghawi *et al.*, 2012) y a 60°C en el brócoli (Matushesk *et al.*, 2004). Verkerk y Dekker, (2004) mencionan que la actividad de mirosinasa aumenta con calor moderado hasta aproximadamente 60°C, y la inactivación ocurre a temperaturas más altas. Por ejemplo, la mirosinasa de mostaza amarilla y colza, tiene la mayor estabilidad térmica de Brassicas y se inactiva a 70°C durante 10 minutos (Van Eylen *et al.*, 2007). Por lo tanto, podemos mencionar que la actividad de mirosinasa depende de varios factores, algunos de los cuales son la temperatura y la concentración de ácido ascórbico.

La velocidad y el grado de inactivación de la mirosinasa están relacionados con la velocidad y el principio de transferencia de calor. En la ebullición convencional, el calentamiento comienza en la superficie de los alimentos y el calor se transfiere lentamente al centro de alimentos por conducción; por el contrario, en la cocción por microondas, las microondas penetran en el centro de alimentos por radiación y el calor generado dentro de los alimentos, es transferido a la superficie, por consiguiente, se produce un aumento equivalente de temperatura más rápido en el blanqueado por microondas que por ebullición. (Knutson *et al.*, 1987)

Verkerk y Dekker (2004) encontraron que, usando microondas de 900 W, el repollo alcanzó 100°C después de 2,8 minutos, después de lo cual la enzima mirosinasa se desnaturalizó; Sin embargo, cuando se trata a 180 W, incluso después de 25 minutos, la temperatura interna del repollo no superó los

90°C, condiciones en las que una mirosinasa más termoestable aparentemente puede sobrevivir parcialmente y mantener cierta actividad hidrolítica.

En los tubérculos cortados, la síntesis de nuevos glucosinolatos puede inducirse como ya se mencionó anteriormente; Es entonces cuando la actividad de la mirosinasa puede neutralizarse mediante dicho aumento en GSL, que se atribuye a un componente de aumento inducido por el estrés en GSL, que juega un papel importante y adicional al mecanismo de degradación conocido. (Verkerk *et al.*, 2001)

CONCLUSIONES

1. La concentración de glucosinolatos en la mashua, variedad morada, se ve significativamente afectado por el tratamiento previo de exposición al sol, el blanqueo, el estado del tubérculo y las interacciones entre ellos, pero no por el proceso de liofilización.
2. La actividad de la mirosinasa se ve significativamente afectada por el tratamiento previo de exposición al sol y el blanqueamiento, por lo que las concentraciones de glucosinato y la actividad residual de la mirosinasa, dependen del método y la duración del procesamiento, así como de la interacción entre ellos.
3. Se obtuvieron valores superiores con contenido total de glucosinolatos, para tubérculos sin solear, sin blanquear y deshidratados directamente a 60°C (113,04 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS) y para tubérculos expuestos a tratamientos de soleado, cortados, blanqueados por ebullición a 80°C y luego liofilizados (110,66 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS), siendo estos valores similares al valor total del contenido de glucosinato en mashua cruda fresca ($p > 0,05$).
4. El contenido total más bajo de glucosinato se obtuvieron para tubérculos sin exposición al sol, cortados, cocinados en el microondas y deshidratados a 60°C (10,32 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS) y 80°C (13,10 $\mu\text{mol g}^{-1}$ BS), con una reducción significativa de 91 y 88 %, respectivamente ($p > 0,05$).
5. Los métodos de blanqueo, secado y liofilización minimizan las pérdidas de nutrientes y proporcionan una mejor calidad física.

RECOMENDACIONES

A los investigadores se recomienda:

1. Evaluar la inactivación de la mirosinasa antes del almacenamiento posterior a la cosecha, para no generar cambios importantes en el nivel de glucosinolato.
2. Realizar estudios enzimáticos y moleculares para dilucidar los mecanismos de biosíntesis de glucosinolatos
3. Determinar el tipo de compuestos formados como resultado de la degradación del glucosinolato, especialmente durante la exposición al sol.
4. Realizar estudios de los metabolitos de siembra de mashua para conocer los efectos del estrés abiótico antes de la cosecha y si esto es relevante para el almacenamiento posterior a la cosecha.
5. La glucoaubrietina, a pesar de ser el glucosinolato individual más importante y abundante de mashua, no se encuentra a menudo en plantas comestibles y, como resultado, no hay informes de sus posibles efectos fisiológicos. Johns *et al.*, (1982) informaron varios usos de mashua en la medicina popular o tradicional, relacionándolos con la presencia de GSL en la planta; Dadas estas prometedoras propiedades medicinales, debe alentarse la investigación específica sobre los efectos biológicos de la glucoaubrietina.
6. Una vez que se definan las propiedades biológicas de los glucosinolatos presentes en mashua, especialmente la glucoaubrietina, se deben definir prácticas agrícolas apropiadas y tratamientos pos-cosecha para optimizar el contenido de glucosinolatos en los tubérculos de mashua.

7. El consumo de harina de mashua, puede proporcionar un medio para optimizar la absorción de isotiocianatos in vivo. Sin embargo, los estudios posteriores que investigan la hidrólisis in vivo deben realizarse para demostrar si estas observaciones son reproducibles en el tracto digestivo humano.

8. Investigar hasta qué punto la mirosinasa es capaz de hidrólisis cuando está parcialmente inactivada.

9. Realizar estudios *in vitro* e *in vivo* de la actividad anticancerígena de esta especie, y establecer la concentración y las dosis necesarias para suprimir la proliferación de células tumorales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfageme, A. y Ramírez, N. (2016). *Acceso a servicios financieros de los hogares en el Perú*. Lima: Banco Central de Reserva Del Perú.
- Aguilera Garca, *et al.*, (2008). *Alimentos Funcionales: Aproximación a una nueva alimentación*. (Comunidad de Madrid, Ed.). Madrid: itnucam. Recuperado de file:///C:/Users/lmedi/OneDrive/DOCTORADO/SEMINARIO TESIS II/referencias GLUCOSINOLATOS/GLUCOSINOLATOS/alimentos-funcionales-aproximacion-a-una-nueva-alimentacion.pdf
- Aguiló-Aguayo, I., Suarez, M., Plaza, L., Hossain, M. B., Brunton, N., Lyng, J. G., y Rai, D. K. (2015). Optimization of pulsed electric field pre-treatments to enhance health-promoting glucosinolates in broccoli flowers and stalk. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(9), 1868–1875. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6891>
- Aguirre, G., Almanza, J., Cadima, X., Condori, P., Gandarillas, A., Gandarillas, E., ... Terrazas, F. (2003). *Conservación y uso de la Biodiversidad de Raíces y Tuberculos Andinos: Una década de investigación para el Desarrollo (1993-2003)*. (W. García y X. Cadima, Eds.). Cochabamba
- Alvarez-Jubete, L., Valverde, J., Kehoe, K., Reilly, K., Rai, D. K., y Barry-Ryan, C. (2014). Development of a Novel Functional Soup Rich in Bioactive Sulforaphane Using Broccoli (*Brassica oleracea* L. ssp. *italica*) Florets and Byproducts. *Food and Bioprocess Technology*, 7(5), 1310–1321. <https://doi.org/10.1007/s11947-013-1113-9>

- Angelino, D., y Jeffery, E. (2014). Glucosinolate hydrolysis and bioavailability of resulting isothiocyanates: Focus on glucoraphanin. *Journal of Functional Foods*, 7(1), 67–76. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.09.029>
- Antonious, G. F., Kasperbauer, M. J., y Byers, M. E. (1996). Light reflected from colored mulches to growing turnip leaves affects glucosinolate and sugar contents of edible roots. *Photochemistry and Photobiology*, 64(3), 605–610. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1996.tb03112.x>
- Aranceta, J., Serra, L. (2003). *Guía de alimentos funcionales*. Sociedad Española de Nutrición Comunitaria., 14. Recuperado de http://www.fesnad.org/resources/files/Publicaciones/guia_alimentos_funcionales.pdf
- Arbizu, C., Tapia, M., y Fao. (1992). Cultivos marginados: otra perspectiva de 1492. *Producción y protección vegetal*, 26, 345. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Ares, A. M., Bernal, J., Nozal, M. J., Turner, C., y Plaza, M. (2015). Fast determination of intact glucosinolates in broccoli leaf by pressurized liquid extraction and ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Food Research International*, 76, 498–505. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.06.037>
- Arias, M. C. (2011). *Análisis y comparación de los glucosinolatos presentes en diferentes accesiones de cubio (Tropaeolum tuberosum) para evaluar su uso potencial en el control del patógeno de la papa Spongospora subterranea*. Universidad Nacional de Colombia, 1, 1–122.
- Arora, R., Kumar, R., Mahajan, J., Vig, A. P., Singh, B., Singh, B., y Arora, S. (2016). 3-Butenyl isothiocyanate: a hydrolytic product of glucosinolate as a potential cytotoxic agent against human cancer cell lines. *Journal of Food*

Science and Technology, 53(9), 3437–3445.
<https://doi.org/10.1007/s13197-016-2316-7>

Avato, P., y Argentieri, M. P. (2015). Brassicaceae: a rich source of health improving phytochemicals. *Phytochemistry Reviews*, 14(6), 1019–1033.
<https://doi.org/10.1007/s11101-015-9414-4>

Baenas, N., y Moreno, D. A. (2017). *Ricos en glucosinolatos / isotiocianatos*, 69–78.

Barrera. (2004). *INIAP -Estación Experimental Santa Catalina*. Recuperado de <http://181.112.143.123/bitstream/41000/2827/1/iniapsc322est.pdf>

Bateman, J. (1961). *Una prueba exploratoria de la alimentación usando Tropaeolum tuberosum*. Turrialba, 11, 98-100.

Becker. (2015). *The Glucosinolate/Myrosinase System: Variation in Glucosinolates, Hydrolysis Products, Transcript Abundance, And Quinone Reductase Bioactivity In Brassica Sp.* *Crops.*, 151, 10-17.
<https://doi.org/10.1145/3132847.3132886>

Bell, L; Wagstaff, C. 2014. Glucosinolates, myrosinase hydrolysis products, and flavonols found in rocket (*Eruca sativa* and *Diplotaxis tenuifolia*). *Journal of agricultural and food chemistry* 62(20):4481-4492.

Bennett, R. N., y Wallsgrave, R. M. (1994). *Secondary metabolites in plant defence mechanisms*. *New Phytologist*, 127(4), 617–633.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1994.tb02968.x>

Bhattacharya, A; Tang, L; Li, Y; Geng, F; Paonessa, J; Chen, S; Zhang, Y. 2009. *Inhibition of bladder cancer development by allyl isothiocyanate*. *Carcinogenesis* 31(2):281-286.

- Bones, A. M., y Rossiter, J. T. (1996). The myrosinase-glucosinolate system, its organisation and biochemistry. *Physiologia Plantarum*, 97(1), 194–208. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1996.tb00497.x>
- Brack, A. (1999). *Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú*. Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de las Casas.
- Brewer, M. S., Begum, S., y Bozeman, A. V. A. (1994). *Characteristics of frozen broccoli*, 18(1995), 479–493.
- Brown, K. K., y Hampton, M. B. (2011). *Biological targets of isothiocyanates*. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1810(9), 888–894. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2011.06.004>
- Burmeister, W. P., Cottaz, S., Rollin, P., Vasella, A., y Henrissat, B. (2000). High resolution x-ray crystallography shows that ascorbate is a cofactor for myrosinase and substitutes for the function of the catalytic base. *Journal of Biological Chemistry*, 275(50), 39385–39393. <https://doi.org/10.1074/jbc.M006796200>
- Campos, D., Chirinos, R., Barreto, O., Noratto, G., y Pedreschi, R. (2013). Optimized methodology for the simultaneous extraction of glucosinolates, phenolic compounds and antioxidant capacity from maca (*Lepidium meyenii*). *Industrial Crops and Products*, 49, 747–754. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.06.021>
- Campos, D., Yábar, E., Pedreschi, R., y Chirinos, R. (2011). Glucosinolate content and myrosinase activity evolution in three maca (*Lepidium meyenii* Walp.) ecotypes during preharvest, harvest and postharvest drying. *Food Chemistry*, 127(4), 1576–1583. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.021>

- Cárdenas, M. 1989. *Manual de plantas económicas de Bolivia*. 2 ed. La Paz, Bolivia, Amigos del libro.
- Castro, C. I. E. (2011). *Universidad de Cuenca. Universidad de Cuenca, (Síndrome Irlen)*, 167. Recuperado de file:///C:/Users/CTRIST~1/AppData/Local/Temp/TECN07.pdf
- Chan Moromisato, J. P. (2015). *Eficacia antioxidante de los compuestos fenológicos de la mashua (Tropaeolum tuberosum) en la estabilidad del aceite de linaza (Linum usitatissimum L.)*. Universidad Nacional Agraria La Molina.
Recuperado de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/1791>
- Chen, S., y Andreasson, E. (2001). Update on glucosinolate metabolism and transport. *Plant Physiology and Biochemistry*, 39(9), 743–758. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(01\)01301-8](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(01)01301-8)
- Chirinos, R., Campos, D., Costa, N., Arbizu, C., Pedreschi, R., y Larondelle, Y. (2007). Phenolic profiles of andean mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón) tubers: Identification by HPLC-DAD and evaluation of their antioxidant activity. *Food Chemistry*, 106(3), 1285–1298. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.024>
- Chirinos, R., Campos, D., Warnier, M., Pedreschi, R., Rees, J. F., y Larondelle, Y. (2008). Antioxidant properties of mashua (*Tropaeolum tuberosum*) phenolic extracts against oxidative damage using biological in vitro assays. *Food Chemistry*, 111(1), 98–105. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.03.038>
- Choi, H. S., Cho, M. C., Lee, H. G., y Yoon, D. Y. (2010). Indole-3-carbinol induces apoptosis through p53 and activation of caspase-8 pathway in

- lung cancer A549 cells. *Food and Chemical Toxicology*, 48(3), 883–890. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.12.028>
- Cieślik, E., Leszczyńska, T., Filipiak-Florkiewicz, A., Sikora, E., y Pisulewski, P. M. (2007). Effects of some technological processes on glucosinolate contents in cruciferous vegetables. *Food Chemistry*, 105(3), 976–981. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.047>
- Ciska, E., y Kozłowska, H. (2001). The effect of cooking on the glucosinolates content in white cabbage. *European Food Research and Technology*, 212(5), 582–587. <https://doi.org/10.1007/s002170100293>
- Ciska, E., Martyniak, B., Przybyszewska, y Kozłowska, H. (2000). Black p-branes and their vertical dimensional reduction. *Nuclear Physics B*, 489(1–2), 264–278. [https://doi.org/10.1016/S0550-3213\(96\)00633-5](https://doi.org/10.1016/S0550-3213(96)00633-5)
- Clarke, D. B. (2010). Glucosinolates, structures and analysis in food. *Analytical Methods*, 2(4), 310–325. <https://doi.org/10.1039/b9ay00280d>
- Cole, R. A. (1976). Isothiocyanates, nitriles and thiocyanates as products of autolysis of glucosinolates in Cruciferae. *Phytochemistry*, 15(5), 759–762. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)94437-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)94437-6)
- Collazos. (1996). *Tablas Peruanas de Composición de Alimentos. Séptima Edición*. Recuperado de <http://bvs.minsa.gob.pe/local/minsa/1652.pdf>
- Collett, M. G., Stegelmeier, B. L., y Tapper, B. A. (2014). Could nitrile derivatives of turnip (*Brassica rapa*) glucosinolates be hepato- or cholangiotoxic in cattle? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(30), 7370–7375. <https://doi.org/10.1021/jf500526u>

- Conaway, C. (2000). Reflux-inducing dietary factors and risk of adenocarcinoma. *Nutr Cancer*, 38(United States PT-Journal Article PT-*Research Support, Non-U.S. Gov't LG-English DC-20010829 OVID MEDLINE UP 20131217*), 223–228.
<https://doi.org/10.1207/S15327914NC382>
- Cramer, G. R., Urano, K., Delrot, S., Pezzotti, M., y Shinozaki, K. (2011). Effects of abiotic stress on plants: A systems biology perspective. *BMC Plant Biology*, 11. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-11-163>.
- Christian, G. (2009). *Química analítica*. Mcgraw-ill/interamericana editores, S.A. Sexta edición. México, D.F.
- Dekker, M., Verkerk, R., y Jongen, W. M. F. (2000). Predictive modeling of health aspects in the food production chain: A case study on glucosinolates in cabbage. *Trends in Food Science and Technology*, 11(4–5), 174–181. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)00062-5](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)00062-5)
- Díaz. (2011). Curso de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC): Prácticas de laboratorio y cuestiones teórico-prácticas. Parte III. Práctica de laboratorio: optimización en la separación de compuestos semejantes mediante modificación de la fase móvil. *Reduca (Biología)*, 4(3), 48–78
- Doughty, K. J., Kiddle, G. A., Pye, B. J., Wallsgrove, R. M., y Pickett, J. A. (1995). *Selective induction of glucosinolates in oilseed rape leaves by methyl jasmonate*. *Phytochemistry*, 38(2), 347–350.
[https://doi.org/10.1016/0031-9422\(94\)00653-B](https://doi.org/10.1016/0031-9422(94)00653-B)
- Ellab Validation Solutions. (2018). *The Freeze-Drying Theory and Process - Things to Consider*. Retrieved from https://www.ellab.com/Files/Files/White-Papers/The-Freeze-DryingTheory-and-Process_ellab-whitepaper.pdf

- Endara, M. J., y Coley, P. D. (2011). The resource availability hypothesis revisited: A meta-analysis. *Functional Ecology*, 25(2), 389–398. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2010.01803.x>
- Espín, C. 2013. *Aporte al rescate de la mashua aplicando técnicas de cocina de vanguardia* Bachelor's thesis.
- Espinosa, Patricio., y Centro Internacional de la Papa. Departamento de Ciencias Sociales. (1997) *Raíces y tubérculos andinos cultivos marginados en el Ecuador: situación actual y limitaciones para la producción* (p. 178). ABYA-YALA.
- Fahey, J. W., Zalcmann, A. T., y Talalay, P. (2001). The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, 56(1), 5–51. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00316-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00316-2)
- Fahey, W. Jed, Zhang, Yuesheng, and P. T. (1997). *Broccoli sprouts: An exceptionally rich source of inducers of*. *Pnas*, 94 (September), 10367–10372.
- Fairlie, T., Holle, M. y Morales, M. (1999). *Raíces y tubérculos andinos*. Avances de investigación.
- Fenwick, G. R., Heaney, R. K., y Mullin, W. J. (1983). *Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants*. *Critical reviews in food science and nutrition*, 18(2), 123–201.
- Finley, J. W. (2005). Proposed criteria for assessing the efficacy of cancer reduction by plant foods enriched in carotenoids, glucosinolates, polyphenols and selenocompounds. *Annals of Botany*, 95(7), 1075–1096. <https://doi.org/10.1093/aob/mci123>

- Galletti, S., Bernardi, R., Leoni, O., Rollin, P., y Palmieri, S. (2001). Preparation and biological activity of four epiprogoitrin myrosinase-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(1), 471–476. <https://doi.org/10.1021/jf000736f>
- Ghawi, S. K., Methven, L., Rastall, R. A., y Niranjana, K. (2012). Thermal and high hydrostatic pressure inactivation of myrosinase from green cabbage: A kinetic study. *Food Chemistry*, 131(4), 1240–1247. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.111>
- Gigolashvili, T., Yatushevich, R., Rollwitz, I., Humphry, M., Gershenzon, J., y Flügge, U. I. (2009). The plastidic bile acid transporter 5 is required for the biosynthesis of methionine-derived glucosinolates in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 21(6), 1813–1829. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.066399>
- Gliszczyńska-Świątło, A., Ciska, E., Pawlak-Lemańska, K., Chmielewski, J., Borkowski, T., y Tyrakowska, B. (2006). Changes in the content of health-promoting compounds and antioxidant activity of broccoli after domestic processing. *Food Additives and Contaminants*, 23(11), 1088–1098. <https://doi.org/10.1080/02652030600887594>
- Gómez, R. U., y Serrano, A. (2009). *Cromatografía principios y aplicaciones*. *Cromatografía*, 5, 1–18.
- Grau, A., Ortega, R., Nieto, C., y Hermann, M. (2003). *Mashua Tropaeolum tuberosum Ruiz and Pav. Promoting the Conservation and Use of Underutilized and Neglected Crops*. 25. Recuperado de [http://books.google.com.pe/books?id=ASLFjZxwIJC&pg=PA45&lpg=PA45&dq=Mashua+Tropaeolum+tuberosum+Ruiz+and+Pav.+\(Promoting+the+Conservation+and+Use+of+Underutilized+and+Neglected+Crops+25\)&source=bl&ots=Sh5RLghmRP&sig=AqXm0FnWlaWpqDOEcB4uNhubzbo&hl=en&sa=X](http://books.google.com.pe/books?id=ASLFjZxwIJC&pg=PA45&lpg=PA45&dq=Mashua+Tropaeolum+tuberosum+Ruiz+and+Pav.+(Promoting+the+Conservation+and+Use+of+Underutilized+and+Neglected+Crops+25)&source=bl&ots=Sh5RLghmRP&sig=AqXm0FnWlaWpqDOEcB4uNhubzbo&hl=en&sa=X)

- Greensmith, 1998. *Practical Dehydration. Food Chemistry* (Vol. 68).
[https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(99\)00214-9](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(99)00214-9)
- Grosser, K., y van Dam, N. M. (2017). A Straightforward Method for Glucosinolate Extraction and Analysis with High-pressure Liquid Chromatography (HPLC). *Journal of Visualized Experiments*, (121), 1–9.
<https://doi.org/10.3791/55425>
- Gutierrez, y Montano. (2002). *Químico Farmacéutico*. Recuperado de [http://www.colombianadesalud.org.co/TALENTO_HUMANO/MANUAL DE FUNCIONES Y COMPETENCIAS/QUIMICO FARMACEUTICO.pdf](http://www.colombianadesalud.org.co/TALENTO_HUMANO/MANUAL_DE_FUNCIONES_Y_COMPETENCIAS/QUIMICO_FARMACEUTICO.pdf)
- Halkier, B. A., y Gershenzon, J. (2006). Biology and Biochemistry of Glucosinolates. *Annual Review of Plant Biology*, 57(1), 303–333.
<https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105228>
- Hansen, C. H., Du, L., Naur, P., Olsen, C. E., Axelsen, K. B., Hick, A. J., Halkier, B. A. (2001). CYP83B1 Is the Oxime-metabolizing Enzyme in the Glucosinolate Pathway in Arabidopsis. *Journal of Biological Chemistry*, 276(27), 24790–24796. <https://doi.org/10.1074/jbc.M102637200>
- Hansen, M., Møller, P., y Sørensen, H. (1995). Glucosinolates in Broccoli Stored under Controlled Atmosphere. *J.Amer. Hort. Sci*, 120(6), 1069–1074. <https://doi.org/10.1021/jf904306r>
- Hanschen, FS, Rohn, S., Mewis, I., Schreiner, M. y Kroh, LW (2012). Influencia de la estructura química en la degradación térmica de los glucosinolatos en brotes de brócoli. *Food Chemistry*, 130 (1), 1–8.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.109>
- He, y. Pistorius, P. (2017). *Carbon transfer during melting of direct reduced iron*. Diciembre de 2016. *Iron and Steel Technology* 14(1):68-71

- Hecht, S. S. (2000). *Inhibition of carcinogenesis by isothiocyanates*. *Drug Metabolism Reviews*, 32(3–4), 395–411. <https://doi.org/10.1081/DMR-100102342>
- Henao, J., Muñoz, L., Padilla, L., y Ríos, E. (2010). Extracción y caracterización del aceite esencial de *Lippia origanoides* H.B.K. " Orégano de monte" cultivado en el Quindío y evaluación de la actividad antimicrobiana. *Rev. Invest. Univ. Quindío*, 21(3), 82–86. Recuperado de http://blade1.uniquindio.edu.co/uniquindio/revistainvestigaciones/adjuntos/pdf/113d_n2109.pdf.
- Hernandez, O. y Ruíz, A. (2008). *Fundamentos y aplicaciones de las técnicas de fraccionamiento de carbohidratos. Cromatografía y técnicas afines*. 29(1),107-112.
- Hernandez Sampieri, R., Fernandez Collado, C., y Baptista Lucio, M. del P. (2010). *Definición del alcance de la investigación a realizar: exploratoria, descriptiva, correlacional o explicativa*. (M. G. Hill, Ed.), Metodología de la investigación (Quinta Edi). Mexico. Recuperado de <http://www.casadellibro.com/libro-metodologia-de-la-investigacion-5-ed-incluye-cd-rom/9786071502919/1960006>
- Hernandez, M. (1997). *Glucosinolatos de la dieta. Un posible factor causal de neuropatías con modificaciones del transporte neuroaxonal*, (January 1998), 6–8.
- Hertog, M. G. L., Hollman, P. C. H., Hertog, M. G. L., y Katan, M. B. (1992). Content of Potentially Anticarcinogenic Flavonoids of 28 Vegetables and 9 Fruits Commonly Consumed in the Netherlands. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(12), 2379–2383. <https://doi.org/10.1021/jf00024a011>

- Higdon, J. V., Delage, B., Williams, D. E., y Dashwood, R. H. (2007). Cruciferous vegetables and human cancer risk: epidemiologic evidence and mechanistic basis. *Pharmacological Research*, 55(3), 224–236. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2007.01.009>
- Hind, N. (2010). Tropaeolaceae: 688, 689. *Tropaeolum Tuberosum*. *Curtis's Botanical Magazine*, 27(3), 301–313. <https://doi.org/10.1111/j.1467-8748.2010.01707.x>
- Holst, B., y Williamson, G. (2004). A critical review of the bioavailability of glucosinolates and related compounds. *Natural Product Reports*, 21(3), 425–447. <https://doi.org/10.1039/b204039p>
- Hwang, E. S., Jang, M. R., y Kim, G. H. (2012). Effects of storage condition on the bioactive compound contents of Korean cabbage. *Food Science and Biotechnology*, 21(6), 1655–1661. <https://doi.org/10.1007/s10068-012-0220-0>
- Italica, L. C., Ludikhuyze, L., Ooms, V., Weemaes, C., y Hendrickx, M. (1999). *Kinetic Study of the Irreversible Thermal and Pressure Inactivation of myrosinase from broccoli*, 1794–1800.
- Jia, C. G., Xu, C. J., Wei, J., Yuan, J., Yuan, G. F., Wang, B. L., y Wang, Q. M. (2009). Effect of modified atmosphere packaging on visual quality and glucosinolates of broccoli florets. *Food Chemistry*, 114(1), 28–37. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.009>
- Johns, T., y Neil Towers, G. H. (1981). Isothiocyanates and thioureas in enzyme hydrolysates of *Tropaeolum tuberosum*. *Phytochemistry*, 20(12), 2687–2689. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(81\)85268-5](https://doi.org/10.1016/0031-9422(81)85268-5)

- Johns, T., Kitts, W. D., Newsome, F., y Towers, G. H. N. (1982). Anti-reproductive and other medicinal effects of *Tropaeolum tuberosum*. *Journal of Ethnopharmacology*, 5(2), 149–161.
[https://doi.org/10.1016/0378-8741\(82\)90040-X](https://doi.org/10.1016/0378-8741(82)90040-X)
- Kapusta-Duch, J., Kusznerewicz, B., Leszczyńska, T., y Borczak, B. (2016). Effect of cooking on the contents of glucosinolates and their degradation products in selected Brassica vegetables. *Journal of Functional Foods*, 23, 412–422. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.03.006>
- Keck, A. S., y Finley, J. W. (2004). *Cruciferous Vegetables: Cancer Protective Mechanisms of Glucosinolate Hydrolysis Products and Selenium. Integrative Cancer Therapies*, 3(1), 5–12.
<https://doi.org/10.1177/1534735403261831>
- King, S. R., y Gershoff, S. N. (1987). Nutritional evaluation of three underexploited andean tubers: *Oxalis tuberosa* (Oxalidaceae), *Ullucus tuberosus* (Basellaceae), and *Tropaeolum tuberosum* (Tropaeolaceae). *Economic Botany*, 41(4), 503–511. <https://doi.org/10.1007/BF02908144>
- Kissen, R., y Bones, A. M. (2009). Nitrile-specifier proteins involved in glucosinolate hydrolysis in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Biological Chemistry*, 284(18), 12057–12070.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M807500200>
- Koritsas, V. M., Lewis, J. A., y Fenwick, G. R. (1991). Glucosinolate responses of oilseed rape, mustard and kale to mechanical wounding and infestation by cabbage stem flea beetle (*Psylliodes chrysocephala*). *Annals of Applied Biology*, 118(1), 209–221.
<https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1991.tb06099.x>

- Koroleva, O. A., Davies, A., Deeken, R., Thorpe, M. R., Tomos, A. D., y Hedrich, R. (2000). Identification of a New Glucosinolate-Rich Cell Type in Arabidopsis Flower Stalk. *Plant Physiology*, 124(2), 599–608. <https://doi.org/10.1104/pp.124.2.599>
- Kristal, A. R., y Lampe, J. W. (2002). Brassica Vegetables and Prostate Cancer Risk: A Review of the Epidemiological Evidence. *Nutrition and Cancer*, 42, 1-9.
- Kumar, P., Augustine, R., Singh, A. K., y Bisht, N. C. (2017). Feeding behaviour of generalist pests on *Brassica juncea*: implication for manipulation of glucosinolate biosynthesis pathway for enhanced resistance. *Plant Cell and Environment*, 40(10), 2109–2120. <https://doi.org/10.1111/pce.13009>
- Lambrix, V. (1952). *Clinical picture of Japanese encephalitis in children in 1948*. Tohoku J Exp Med, 55(2–3), 177–184. <https://doi.org/10.1105/tpc.010261.thiogluco-sides>
- Lambrix, V., Reichelt, M., Mitchell-olds, T., Kliebenstein, D. J., y Gershenzon, J. (2001). The *Arabidopsis Epithiospecifier* Protein Promotes the Hydrolysis of Glucosinolates to Nitriles and Influences Trichoplusia ni Herbivory. *The Plant cell*, 13(12), 2793–2807. <https://doi.org/10.1105/tpc.010261.thiogluco-sides>
- Lampe, J. W., y Peterson, S. (2002). *Recent Advances in Nutritional Sciences and Cancer Risk: Genetic Polymorphisms Alter the Preventive Effects of Cruciferous Vegetables* 1. J Nutr., (June), 2991–2994.
- Lee, J. G., Lim, S., Kim, J., y Lee, E. J. (2017). The mechanism of deterioration of the glucosinolate-myrosinase system in radish roots during cold storage after harvest. *Food Chemistry*, 233, 60–68. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.104>

- Lichtscheidl-Schultz, I. (1985). Effects of UV-C and UV-B on cytomorphology and water permeability of inner epidermal cells of *Allium cepa*. *Physiologia Plantarum*, 63(3), 269–276.
<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1985.tb04264.x>
- Lim, T. K. (2016). Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants. Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants (Vol. 10). <https://doi.org/10.1007/978-94-017-7276-1>
- Limaymanta, E. (2018). *Efecto del estrés abiótico post-cosecha en la síntesis de glucosinolatos, actividad mirosinasa y carotenoides en mashua (Tropaeolum tuberosum)*. Universidad Nacional Agraria la Molina.
- Linsinger, T., Kristiansen, N., Beloufa, N., Schimmel, H., y Pauwels, J. (2001). *BCR information The certification of the total glucosinolate and sulphur contents of three rapeseed (colza) materials*.
- López-BerenguerR, Carbajal, Moreno, y García-Viguera. (2007). *School Feeding Programme Jamaica, 1962*. <https://doi.org/10.1021/jf071680t>
- Ludikhuyze, L., L., R., y Hendrickx, M. (2000). The activity of myrosinase from broccoli (*Brassica oleracea* L. cv. *Italica*): Influence of intrinsic and extrinsic factors. *Journal of Food Protection*, 63(3), 400–403.
<https://doi.org/10.4315/0362-028X-63.3.400>
- Manrique, I., Arbizu, C., Vivanco, F., Gonzales, R., Ramírez, C., Chávez, O., ... Ellis, D. (2013). *Tropaeolum tuberosum* Ruíz y Pav. Colección de germoplasma de mashua conservada en el Centro Internacional de la Papa (CIP). *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53, 160.
<https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

- Márquez Lema. (2008). *Departamento de Genética. Mejora genética del contenido en glucosinolatos en semillas de mostaza etíope (Brassica carinata A. Braun).*
- Martín, J. C., y Higuera, B. L. (2016). Glucosinolate composition of Colombian accessions of mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón), structural elucidation of the predominant glucosinolate and assessment of its antifungal activity. *Journal of the science of food and agriculture*, 96(14), 4702–4712. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7689>
- Matusheski, N. V., Juvik, J. A., y Jeffery, E. H. (2004). *Heating decreases epithiospecifier protein activity and increases sulforaphane formation in broccoli. Phytochemistry*, 65(9), 1273–1281.
<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.04.013>
- Méndez, G., Osorio Fortich, M. del R., Torrenegra, M. E., y González, J. G. (2015). Extraction, characterization and antioxidant activity of essential oil from *Plectranthus amboinicus* L. *Revista Cubana de Farmacia*, 49(4).
- McGuire, A. M. (2003). *Mustard Green Manures Replace Fumigant and Improve Infiltration in Potato Cropping System*. *Cm*, 2(1), 0.
<https://doi.org/10.1094/cm-2003-0822-01-rs>
- Mithen, (2000). The nutritional significance, biosynthesis and bioavailability of glucosinolates in human foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 967–984.
Recuperado de <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0034657993&partnerID=40&md5=8d33f08449de43fff5f40df3700a8628>
- Mithen, R., Bennett, R., y Marquez, J. (2010). Glucosinolate biochemical diversity and innovation in the Brassicales. *Phytochemistry*, 71(17–18), 2074–2086. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.09.017>

- Montgomery, D. (2004). *Diseño y análisis de experimentos*. Limusa Wiley.
- Mrkic, V., Redovnikovic, I., Jolic, S., Delonga, K., y Dragovic-Uzelac, V. (2010). Effect of drying conditions on indole glucosinolate level in broccoli. *Acta Alimentaria*, 39(2), 167–174. <https://doi.org/10.1556/AAlim.39.2010.2.8>
- Muñoz, LJ, Henao, J., Padilla, L., Ríos, E. (2010). Extracción y caracterización del aceite esencial de *Lippia origanoides* hbk "orégano de monte" cultivado en el quindío y evaluación de la actividad antimicrobiana extracción. *Revista de Investigación Universidad del Quindío*, 21 (3), 82–86.
- Mujica A, y Jacobsen E. (2004). El *potencial de los cultivos andinos en la alimentacion global*. Los Andes, 46(13), 7.
- Müller, R., de Vos, M., Sun, J. Y., Sønderby, I. E., Halkier, B. A., Wittstock, U., y Jander, G. (2010). Differential effects of indole and aliphatic glucosinolates on lepidopteran herbivores. *Journal of Chemical Ecology*, 36(8), 905–913. <https://doi.org/10.1007/s10886-010-9825-z>
- National Research council. (1989). *Cosechas Perdidas de los Incas Plantas poco conocidas de los Andes con promesa para el cultivo mundial*. (T. N. A. Press, Ed.). Washington, DC: The National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/1398>
- Nilsson, J., Olsson, K., Engqvist, G., Ekvall, J., Olsson, M., Nyman, M., y Åkesson, B. (2006). Variation in the content of glucosinolates, hydroxycinnamic acids, carotenoids, total antioxidant capacity and low-molecular-weight carbohydrates in Brassica vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(4), 528–538. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2355>

- Noratto, G.; Cisneros Zevallos, L. (2004). *Tropaeolum tuberosum* Extracts Suppress Tumor Cell Proliferation. *Mo, H. FASEB Journal*, 18(4-5): A. Recuperado de <https://eurekamag.com/research/035/988/035988086.php>
- Oblitas, E. (1969). *Plantas medicinales de Bolivia. Cochabamba, Bolivia*: Editorial los Amigos del Libro.
- Oerlemans y cols. I. (2006). Thermal degradation of glucosinolates in red cabbage. *Food Chemistry*, 95(1), 19–29. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.013>
- Ortega *et al.* (2006). Glucosinolate Survey of Cultivated and Feral Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz y Pavón) in the Cuzco Region of Peru. *Economic Botany*, 60(3), 254–264. [https://doi.org/10.1663/0013-0001\(2006\)60\[254:GSOCAF\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1663/0013-0001(2006)60[254:GSOCAF]2.0.CO;2)
- Orrego, C. (2008). *Congelación y Liofilización de Alimentos*. Manizales, Caldas, Colombia. Ed. Artes Gráficas Tizan Ltda. Manizales.
- Pacco, W. (2015). *Universidad Nacional del Altiplano*, 84. Recuperado de http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/2415/Pacco_Chua_Walter.pdf?sequence=1
- Palencia, Y. (2004). *Sustancias bioactivas en los alimentos*. Prevention juventud, 2, 1–9. Recuperado de http://www.unizar.es/med_naturista/bioactivos_en_alimentos.pdf
- Pérez, A. (1947). 581. 9861. (*Biblioteca Nacional de Colombia, Ed.*) (Cuarta). Bogotá.

- Phillips, T. (2016, 06 de agosto). *How Lyophilization Preserves Biological Material*. *The Balance*. Recuperado el 27 de marzo del 2017, de <https://www.thebalance.com/lyophilization-preserving-biological-material375590>
- Piacente, S., Carbone, V., Plaza, A., Zampelli, A., y Pizza, C. (2002). Investigation of the tuber constituents of maca (*Lepidium meyenii* Walp.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(20), 5621–5625. <https://doi.org/10.1021/jf020280x>
- Piotrowski, M., Schemenewitz, A., Lopukhina, A., Müller, A., Janowitz, T., Weiler, E. W., y Oecking, C. (2004). Desulfoglucosinolate sulfotransferases from *Arabidopsis thaliana* catalyze the final step in the biosynthesis of the glucosinolate core structure. *Journal of Biological Chemistry*, 279(49), 50717–50725. <https://doi.org/10.1074/jbc.M407681200>
- Ramallo, R., Wathelet, J. P., Le Boulengé, E., Torres, E., Marlier, M., Ledent, J. F., ... Larondelle, Y. (2004). Glucosinolates in isaño (*Tropaeolum tuberosum*) tubers: Qualitative and quantitative content and changes after maturity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(7), 701–706. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1691>
- Ramón, F. (2017). *Universidad Nacional Agraria La Molina*, 1–71. <https://doi.org/10.1016/j.cossms.2006.11.006>
- Rask, L., Andréasson, E., Ekbohm, B., Eriksson, S., Pontoppidan, B., y Meijer, J. (2000). Myrosinase: Gene family evolution and herbivore defense in Brassicaceae. *Plant Molecular Biology*, 42(1), 93–113. <https://doi.org/10.1023/A:1006380021658>

- Raton, B. (2015). Glucosinolatos de la dieta. Un posible factor causal de neuropatías con modificaciones del transporte neuroaxonal, (January 1998).
- Reifenrath, K., y Müller, C. (2007). Species-specific and leaf-age dependent effects of ultraviolet radiation on two Brassicaceae. *Phytochemistry*, 68(6), 875–885. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.12.008>
- Rinc, A. (2014). Biosíntesis De Los Glucosinolatos E Importancia Nutricional Humana Y Funciones De Protección a Las Plantas. *Revista Alimentos Hoy*, 22(31), 64–80.
- Roca, w; Manrique, I. (2005). Tubérculos Andinos Para La Nutrición Y La Salud Summary Valuating of the Genetic Resources of Andean. *Agrociencia.*, IX, 195–201.
- Rosa, E. A. S., y Heaney, R. K. (1993). The effect of cooking and processing on the glucosinolate content: Studies on four varieties of portuguese cabbage and hybrid white cabbage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 62(3), 259–265. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740620309>
- Royston, K. J., y Tollefsbol, T. O. (2015). The Epigenetic Impact of Cruciferous Vegetables on Cancer Prevention. *Current Pharmacology Reports*, 1(1), 46–51. <https://doi.org/10.1007/s40495-014-0003-9>
- Rungapamestry, V., Duncan, A. J., Fuller, Z., y Ratcliffe, B. (2006). Changes in glucosinolate concentrations, myrosinase activity, and production of metabolites of glucosinolates in cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) cooked for different durations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(20), 7628–7634. <https://doi.org/10.1021/jf0607314>

- Rungapamestry, V., Duncan, A. J., Fuller, Z., y Ratcliffe, B. (2008). Influence of blanching and freezing broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) prior to storage and cooking on glucosinolate concentrations and myrosinase activity. *European Food Research and Technology*, 227(1), 37–44. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0690-0>
- Sacristán, M. Díaz, M. Alarcón, Borja. Vicente, C. Estrella, M. (2011). *Curso de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC): Prácticas de laboratorio y cuestiones teórico-prácticas. Parte II. Práctica de laboratorio: análisis cuantitativo básico*. Reduca (Biología, 4(3), 33–47.
- Sale, A. J. H. (1976). A review of microwaves for food processing. *International Journal of Food Science y Technology*, 11(4), 319–329. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1976.tb00730.x>
- Samaniego. (2010). *Caracterización de la mashua (Tropaeolum Tuberosum C.)* En el Ecuador. Universidad Tecnológica Equinoccial Facultad.
- Sarni Machado. (1989). *Les polyphenols en agroalimentaire*. [https://doi.org/10.1016/0892-6875\(93\)90089-6](https://doi.org/10.1016/0892-6875(93)90089-6)
- Schreiner, M., Peters, P., y Krumbein, A. (2007). Changes of glucosinolates in mixed fresh-cut broccoli and cauliflower florets in modified atmosphere packaging. *Journal of Food Science*, 72(8). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00506.x>
- Sevilla, C. (2008). *Alimentos fortificados con prebióticos*. Editorial Reciteia, Universidad del Valle, Colombia (Vol. 10(1)).
- Shapiro, T. A., Stephenson, K. K., Fahey, J. W., Wade, K. L., y Talalay, P. (1998). Human metabolism and excretion of cancer chemoprotective glucosinolates and isothiocyanates of cruciferous vegetables. *Cancer*

- Epidemiology, Biomarkers y Prevention. *Cancer Epidemiology, Biomarkers y Prevention*, 7(12), 1091–1100.
<https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.74.2248>
- Shikita, M., Fahey, J. W., Golden, T. R., Holtzclaw, W. D., y Talalay, P. (1999). An unusual case of “uncompetitive activation” by ascorbic acid: Purification and kinetic properties of a myrosinase from *Raphanus sativus* seedlings. *Biochemical Journal*, 341(3), 725–732.
<https://doi.org/10.1042/0264-6021:3410725>
- Smetanska, I., & Ingenieurwissenschaften, D. Der. (2006). *Impact of elicitors on glucosinolate production in plants and exudates of turnip (Brassica rapa)*.
- Smith, S. M. (Stephen M., y Trivelli, C. (2001). *El consumo urbano de los alimentos andinos tradicionales*.
- Smith, T. K., Mithen, R., y Johnson, I. T. (2003). *Effects of Brassica vegetable juice on the induction of apoptosis and aberrant crypt foci in rat colonic mucosal crypts in vivo*. *Carcinogenesis*, 24(3), 491–495.
<https://doi.org/10.1093/carcin/24.3.491>
- Sones, K., Heaney, R. K., y Fenwick, G. R. (1984). An estimate of the mean daily intake of glucosinolates from cruciferous vegetables in the UK. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 35(6), 712–720.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.2740350619>
- Sones. (1989). *The Energy Identification Method Research on Dynamic Failure Mode*, 11(1965), 1297–1302.
- Song, L., y Thornalley, P. J. (2007). Effect of storage, processing and cooking on glucosinolate content of Brassica vegetables. *Food and Chemical Toxicology*, 45(2), 216–224. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.07.021>

- Soria, S. L., Vega, R., Damsteegt, V. D., McDaniel, L. L., Kitto, S. L., y Evans, T. A. (1998). Occurrence and partial characterization of a new mechanically transmissible virus in mashua from the Ecuadorian highlands. *Plant Disease*, 82(1), 69–73.
<https://doi.org/10.1094/PDIS.1998.82.1.69>
- Stoner, G. D., y Morse, M. A. (1997). Isothiocyanates and plant polyphenols as inhibitors of lung and esophageal cancer. *Cancer Letters*, 114(1–2), 113–119. [https://doi.org/10.1016/S0304-3835\(97\)04639-9](https://doi.org/10.1016/S0304-3835(97)04639-9)
- Takasugi, y Monde. (1991). Time-Course Studies of Phytoalexins and Glucosinolates in UV-Irradiated Turnip Tissue. *Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 46(3–4), 189–193.
<https://doi.org/10.1515/znc-1991-3-405>
- Tapia, C., Castillo, R., y Mazon, N. (1996). *Catálogo de recursos genéticos de raíces y tubérculos andinos en Ecuador*, 212.
- Tapia, M. (2007). *Guía de Campo de los Cultivos Andinos*. Defense.
<https://doi.org/10.15713/ins.mmj.3>
- Tawfiq, N., Heaney, R. K., Plumb, J. A., Fenwick, G. R., Musk, S. R. R., y Williamson, G. (1995). Dietary glucosinolates as blocking agents against carcinogenesis: Glucosinolate breakdown products assessed by induction of quinone reductase activity in murine hepa1c1c7 cells. *Carcinogenesis*, 16(5), 1191–1194. <https://doi.org/10.1093/carcin/16.5.1191>
- Textor, S., y Gershenzon, J. (2009). Herbivore induction of the glucosinolate-myrosinase defense system: Major trends, biochemical bases and ecological significance. *Phytochemistry Reviews*, 8(1), 149–170.
<https://doi.org/10.1007/s11101-008-9117-1>

- Torres, O., Perea-Dallos, y Fandino, M. (1992). (*Tropaeolum tuherosum R & P*), 19.
- Traka, M. H., Melchini, A., y Mithen, R. F. (2014). Sulforaphane and prostate cancer interception. *Drug Discovery Today*, 19(9), 1488–1492. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2014.07.007>
- Travis. (1999). Mashua. *International Plant Genetic Resources Institute*, pp. 1–65. Recuperado de https://www.bioversityinternational.org/fileadmin/_migrated/uploads/tx_news/Mashua__Tropaeolum_tuberosum_Ruíz__amp__Pav._880.pdf
- Urresta, B. (2010). *Evaluación del valor nutrición de la harina de mashua (Tropaeolum tuberosum) en dietas para pollos de engorde*. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-52-29>
- Valer, K. (2001). *Relaciones estructura - función de la actividad antimicrobiana de isotiocianatos de Tropaeolum tuberosum (mashua) y diversos análogos funcionales sintéticos*, XV, 2–5.
- Vallejo, F., Tomás-Barberán, F. A., y Garcia-Viguera, C. (2002). Glucosinolates and vitamin C content in edible parts of broccoli florets after domestic cooking. *European Food Research and Technology*, 215(4), 310–316. <https://doi.org/10.1007/s00217-002-0560-8>
- Valverde, J., Reilly, K., Villacreces, S., Gaffney, M., Grant, J., y Brunton, N. (2015). Variation in bioactive content in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) grown under conventional and organic production systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(6), 1163–1171. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6804>

- Van Eylen, D., Oey, I., Hendrickx, M., y Van Loey, A. (2007). Kinetics of the stability of broccoli (*Brassica oleracea* Cv. *Italica*) myrosinase and isothiocyanates in broccoli juice during pressure/temperature treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(6), 2163–2170. <https://doi.org/10.1021/jf062630b>
- Vecchio, C. (2010). *Freeze-Drying Process Principle and Practice. Pharmaceutical Technologies & Development*. Retrieved from <http://users.unimi.it/gazzalab/wordpress/wpcontent/uploads/2011/12/54-Liofilizzazione.pdf>
- Verkerk, R., y Dekker, M. (2004). Glucosinolates and myrosinase activity in red cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *Capitata* f. *rubra* DC.) after various microwave treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(24), 7318–7323. <https://doi.org/10.1021/jf0493268>
- Verkerk, R., Dekker, M., y Jongen, W. M. F. (2001). Post-harvest increase of indolyl glucosinolates in response to chopping and storage of Brassica vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(9), 953–958. <https://doi.org/10.1002/jsfa.854>
- Verkerk, R., Schreiner, M., Krumbein, A., Ciska, E., Holst, B., Rowland, I., ... Dekker, M. (2009). Glucosinolates in Brassica vegetables: The influence of the food supply chain on intake, bioavailability and human health. *Molecular Nutrition and Food Research*, 53(SUPPL. 2), 219–265. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200800065>
- Vig, A. P., Rampal, G., Thind, T. S., y Arora, S. (2009). Bio-protective effects of glucosinolates - A review. *LWT - Food Science and Technology*, 42(10), 1561–1572. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.05.023>

- Volden, J., Borge, G. I. A., Bengtsson, G. B., Hansen, M., Thygesen, I. E., & Wicklund, T. (2008). Effect of thermal treatment on glucosinolates and antioxidant-related parameters in red cabbage (*Brassica oleracea* L. ssp. *capitata* f. *rubra*). *Food Chemistry*.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.01.010>
- Wattenberg, L. W. (1977). Inhibition of carcinogenic effects of polycyclic hydrocarbons by benzyl isothiocyanate and related compounds. *Journal of the National Cancer Institute*, 58(2), 395–398.
<https://doi.org/10.1093/jnci/58.2.395>
- Wattenberg, Lee W. (1981). Inhibition of Carcinogen-induced Neoplasia by Sodium Cyanate, tert-Butyl Isocyanate, and Benzyl Isothiocyanate Administered Subsequent to Carcinogen Exposure. *Cancer Research*, 41(8), 2991–2994.
- Williams, K. (2016, 25 de agosto), *Lyophilization, evaporation or concentration: Which is best for my samples? Labconco*. Recuperado el 27 de marzo del 2017, de <http://www.labconco.com/news/lyophilization-concentration-orevaporation-whic>
- Wittstock, U., y Halkier, B. A. (2002). *Glucosinolate research in the Arabidopsis era*. *Trends in Plant Science*, 7(6), 263–270.
[https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02273-2](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02273-2)
- Yan, X., y Chen, S. (2007). *Regulation of plant glucosinolate metabolism*. *Planta*, 226(6), 1343–1352. <https://doi.org/10.1007/s00425-007-0627-7>
- Yuan, G., Sun, B., Yuan, J., y Wang, Q. (2009). Effects of different cooking methods on health-promoting compounds of broccoli. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, 10(8), 580–588.
<https://doi.org/10.1631/jzus.B0920051>

- Zemansky, M. Dittman, R. (1985). *Calor y termodinámica*. México, D.F., México. Ed. McGraw-Hill.
- Zhang, Y. (2004). *Cancer-preventive isothiocyanates: Measurement of human exposure and mechanism of action*. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 555(1-2 SPEC. ISS.), 173–190. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2004.04.017>
- Zhang, Y., y Talalay, P. (1994). Anticarcinogenic activities of organic isothiocyanates: Chemistry and mechanisms. *Cancer Research*, 54(7 SUPPL.)
- Zhang, Y., Li, J., y Tang, L. (2005). *Cancer-preventive isothiocyanates: Dichotomous modulators of oxidative stress*. *Free Radical Biology and Medicine*, 38(1), 70–77.
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.09.033>
- Zhang, Z., Ober, J. A., y Kliebenstein, D. J. (2006). *The gene controlling the quantitative trait locus epithiospecifier modifier1 alters glucosinolate hydrolysis and insect resistance in Arabidopsis*. *Plant Cell*, 18(6), 1524–1536. <https://doi.org/10.1105/tpc.105.039602>

ANEXOS

Anexo 1. Contraste de tiempos de retención para la identificación de GSL en mashua.

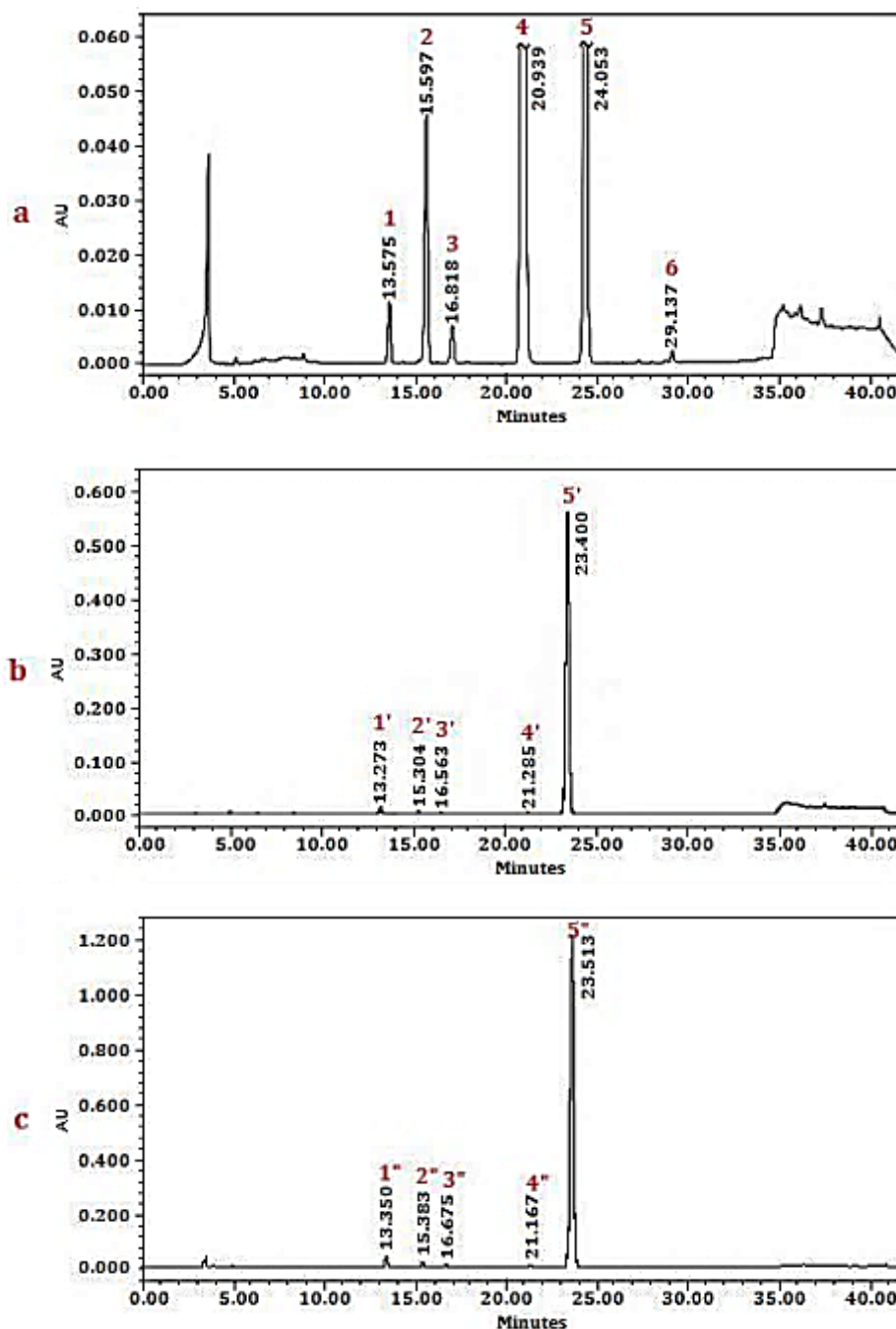


Figura 1. Perfiles HPLC para la identificación de glucosinolatos mediante el contraste de tiempos de retención. (a) Maca (Yábar *et al.*, 2011), (b) Mashua (Campos, 2011), (c) Mashua (presente investigación). (1, 1', 1") Glucoalyssin; (2, 2', 2") Glucosinalbin; (3, 3', 3") 4-Hydroxyglucobrassicin; (4,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

Anexo 2. Caracterización de los glucosinolatos identificados en los eco tipos amarillo y morado de mashua cosechada (fresca).

Caracterización de los glucosinolatos identificados ambos eco tipos de mashua fresca.

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

Fuente: * Glucoalyssin (NCBI, Pubchem Compound: Glucoalyssin, 2011), Glucosinalbin (NCBI, Pubchem Compound: Glucosinalbin, 2011), 4-Hydroxyglucobrassicin (NCBI, Pubchem Compound: 4-Hydroxyglucobrassicin, 2012), Glucotropaeolin (NCBI, Pubchem Compound: Glucotropaeolin, 2011), Glucoaubrietin (NCBI, Pubchem Compound: Glucoaubrietin, 2011). ** Glucoalyssin: (Brown, Tokuhisa, Reichelt, & Gershenzon, 2003); Glucosinalbin: (McGregor 1985, Haughn *et al.*, 1991, Griffiths *et al.*, 2000); 4-Hydroxyglucobrassicin, Glucotropaeolin: (EC 1990, Haughn *et al.*, 1991, Griffiths *et al.*, 2000, Buchner 1987, Brown *et al.*, 2003), Glucoaubrietin: (EC, 1990).

ANEXO 3: ANÁLISIS ESTADÍSTICO: CONTENIDO DE GLUCOSINOLATOS TOTALES E INDIVIDUALES

Glucosinolatos totales

ANVA - Suma de Cuadrados Tipo III

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	RAZÓN-F	VALOR-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Almacenamiento	11091.3	2	5545.66	738.69	0
B: Día	3971.31	5	794.263	105.8	0
INTERACCIONES					
AB	7674	10	767.4	102.22	0
RESIDUOS	135.133	18	7.50741		
TOTAL (CORREGIDO)	22871.8	35			

Pruebas de múltiples rangos para glucosinolatos totales por almacenamiento

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

ALMACENAMIENTO	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
Con exposición al sol	12	28.6842	0.79096	X
Refrigeración	12	62.1817	0.79096	X
Sombra	12	68.775	0.79096	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Glucosinolatos totales por Día

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

DÍA	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
15	6	37.6317	1.11859	X
9	6	46.71	1.11859	X
12	6	49.4367	1.11859	XX
0	6	54.185	1.11859	X
6	6	60.57	1.11859	X
3	6	70.7483	1.11859	X

Pruebas de múltiples rangos para glucosinolatos totales por interacción

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

INTERACCIÓN	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
Sol15	2	4.505	1.93745	X
Sol12	2	5.9	1.93745	X
Sol9	2	7.655	1.93745	X
Sol6	2	23.81	1.93745	X
Refri15	2	49.565	1.93745	X
Refri0	2	54.185	1.93745	XX
Sombra0	2	54.185	1.93745	XX
Sol0	2	54.185	1.93745	XX
Refri3	2	57.565	1.93745	XX
Refri9	2	57.62	1.93745	XX
Sombra15	2	58.825	1.93745	XX
Sombra12	2	64.03	1.93745	XX
Sombra9	2	74.855	1.93745	XX
Refri6	2	75.775	1.93745	X
Sol3	2	76.05	1.93745	X
Refri12	2	78.38	1.93745	X
Sombra3	2	78.63	1.93745	X
Sombra6	2	82.125	1.93745	X

Anexo 4. Identificación de glucoaubrietin en variedades domésticas de tubérculos de mashua, reportado por Ramallo *et al.*, (2004).

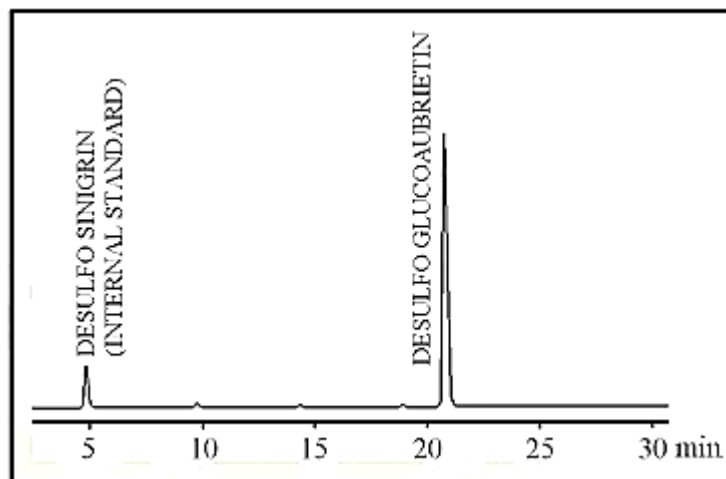


Figura A. Perfil HPLC de glucosinolatos desulfatados de variedades domésticas de tubérculos de mashua, reportado por Ramallo *et al.*, (2004).

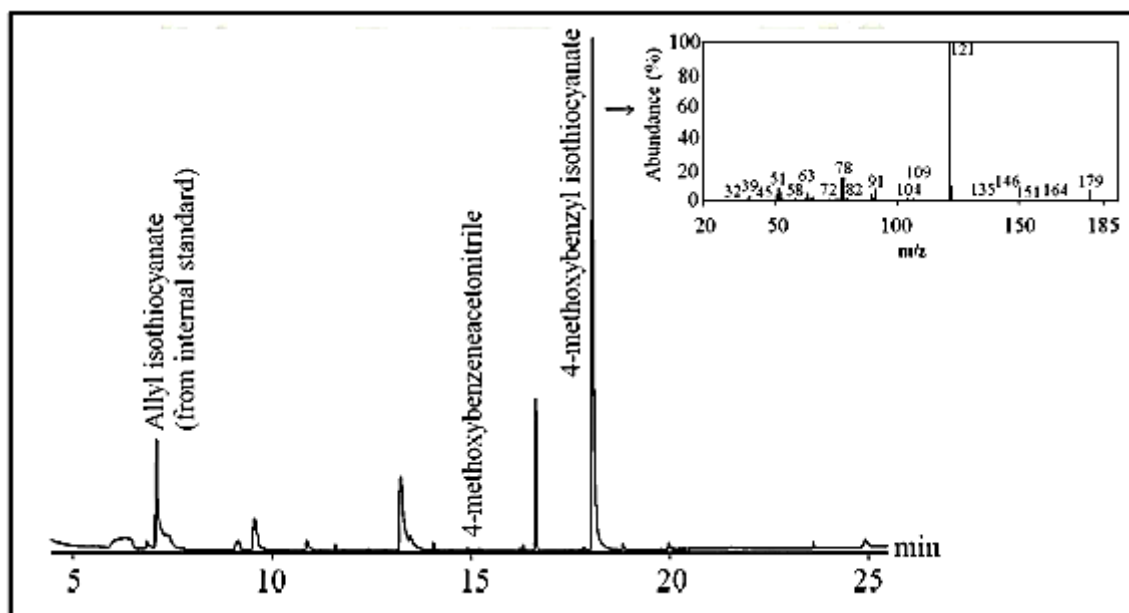


Figura B. Perfil CG de los productos de degradación de los glucosinolatos en tubérculos de mashua y espectro de masa (recuadro interior) del p-metoxibencil isotiocianato, reportado por Ramallo *et al.*, (2004).

Anexo 5. Análisis de varianza multifactorial para el contenido de glucosinolatos totales e individuales en mashua, variedad morada.

TABLA A: ANOVA multifactorial para el contenido de glucosinolatos totales en mashua, variedad morada.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento Previo	2178.29	1	2178.29	49.97	0.0000
B: Tratamiento de Blanqueado	24216.3	1	24216.3	555.5	0.0000
C: Estado del Tubérculo	701.775	1	701.775	16.1	0.0010
D: Temperatura de Secado	28.5694	1	28.5694	0.66	0.4301
INTERACCIONES					
AB	699.817	1	699.817	16.05	0.0010
AC	28.8058	1	28.8058	0.66	0.4282
AD	3562.23	1	3562.23	81.71	0.0000
BC	2375.29	1	2375.29	54.49	0.0000
BD	11.1179	1	11.1179	0.26	0.6204
CD	235.988	1	235.988	5.41	0.0334
ABC	1462.81	1	1462.81	33.56	0.0000
ABD	0.00015	1	0.00015	0	0.9986
ACD	1218.83	1	1218.83	27.96	0.0001
BCD	3.72911	1	3.72911	0.09	0.7737
ABCD	29.9753	1	29.9753	0.69	0.4192
RESIDUOS	697.505	16	43.594		
TOTAL (CORREGIDO)	37451	31			

Fuente: Statgraphics Centurion XV

*Número de casos: 40

Tabla B. ANOVA multifactorial para el contenido de glucoalyssin en mashua, variedad morada.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento Previo	0.434941	1	0.434941	4.38	0.05
B: Tratamiento de Blanqueado	17.8995	1	17.8995	180.42	0.00
C: Estado del Tubérculo	0.48494	1	0.48494	4.89	0.04
D: Temperatura de Secado	0.000005	1	0.000005	0	0.99
INTERACCIONES					
AB	0.009588	1	0.009588	0.1	0.7599
AC	0.151732	1	0.151732	1.53	0.2341
AD	1.92605	1	1.92605	19.41	0.0004
BC	1.08571	1	1.08571	10.94	0.0044
BD	0.004215	1	0.004216	0.04	0.8393
CD	0.28787	1	0.28787	2.9	0.1078
ABC	0.561456	1	0.561456	5.66	0.0302
ABD	0.047101	1	0.047101	0.47	0.5007
ACD	0.70315	1	0.70315	7.09	0.017
BCD	0.167259	1	0.167259	1.69	0.2126
ABCD	0.221861	1	0.221861	2.24	0.1543
RESIDUOS	1.5874	16	0.099213		
TOTAL (CORREGIDO)	25.5728	31			

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

*Número de casos: 40

Tabla C. ANOVA multifactorial para el contenido de glucosinabin en mashua, variedad morada.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento Previo	0.000424	1	0.0004241	0.68	0.4222
B: Tratamiento de Blanqueado	0.028352	1	0.0283518	45.35	0.0000
C: Estado del Tubérculo	0.002014	1	0.0020145	3.22	0.0915
D: Temperatura de Secado	0.001071	1	0.0010707	1.71	0.2091
INTERACCIONES					
AB	0.0010591	1	0.0010591	1.69	0.2115
AC	0.0000523	1	0.0000522	0.08	0.7762
AD	0.0026336	1	0.0026336	4.21	0.0569
BC	0.0081632	1	0.0081632	13.06	0.0023
BD	0.003459	1	0.003459	5.53	0.0318
CD	0.0007325	1	0.0007325	1.17	0.2951
ABC	0.0008275	1	0.0008272	1.32	0.2669
ABD	0.0030361	1	0.0030361	4.86	0.0425
ACD	0.0019703	1	0.0019703	3.15	0.0949
BCD	0.0008477	1	0.0008477	1.36	0.2613
ABCD	0.0005486	1	0.0005486	0.88	0.3628
RESIDUOS	0.0100024	16	0.0006251		
TOTAL (CORREGIDO)	0.0651933	31			

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

*Número de casos: 40

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

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento Previo	0.002679	1	0.0026718	35.61	0.0000
B: Tratamiento de Blanqueado	0.065305	1	0.065305	870.29	0.0000
C: Estado del Tubérculo	0.001627	1	0.0016274	21.69	0.0003
D: Temperatura de Secado	1.013E-07	1	1.013E-07	0.00	0.9712
INTERACCIONES					
AB	0.0003277	1	0.0003277	4.37	0.053
AC	0.000103	1	0.000103	1.37	0.2586
AD	0.009807	1	0.009807	130.69	0.0000
BC	0.004758	1	0.004758	63.41	0.0000
BD	0.0000505	1	0.0000505	0.67	0.4241
CD	0.0011376	1	0.0011376	15.16	0.0013
ABC	0.0026682	1	0.0026682	35.56	0.0000
ABD	0.0000621	1	0.0000622	0.83	0.3762
ACD	0.002312	1	0.002312	30.81	0.0000
BCD	0.0001531	1	0.0001531	2.04	0.1724
ABCD	0.000229	1	0.000229	3.05	0.0998
RESIDUOS	0.0012006	16	0.000075		
TOTAL (CORREGIDO)	0.0924131	31			

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

*Número de casos: 40

Tabla E. ANOVA multifactorial para el contenido de glucoaubrietin en mashua, variedad morada.

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

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

*Número de casos: 40

Anexo 6. Gráficos de dispersión y gráficos de medias para mashua, variedad morada

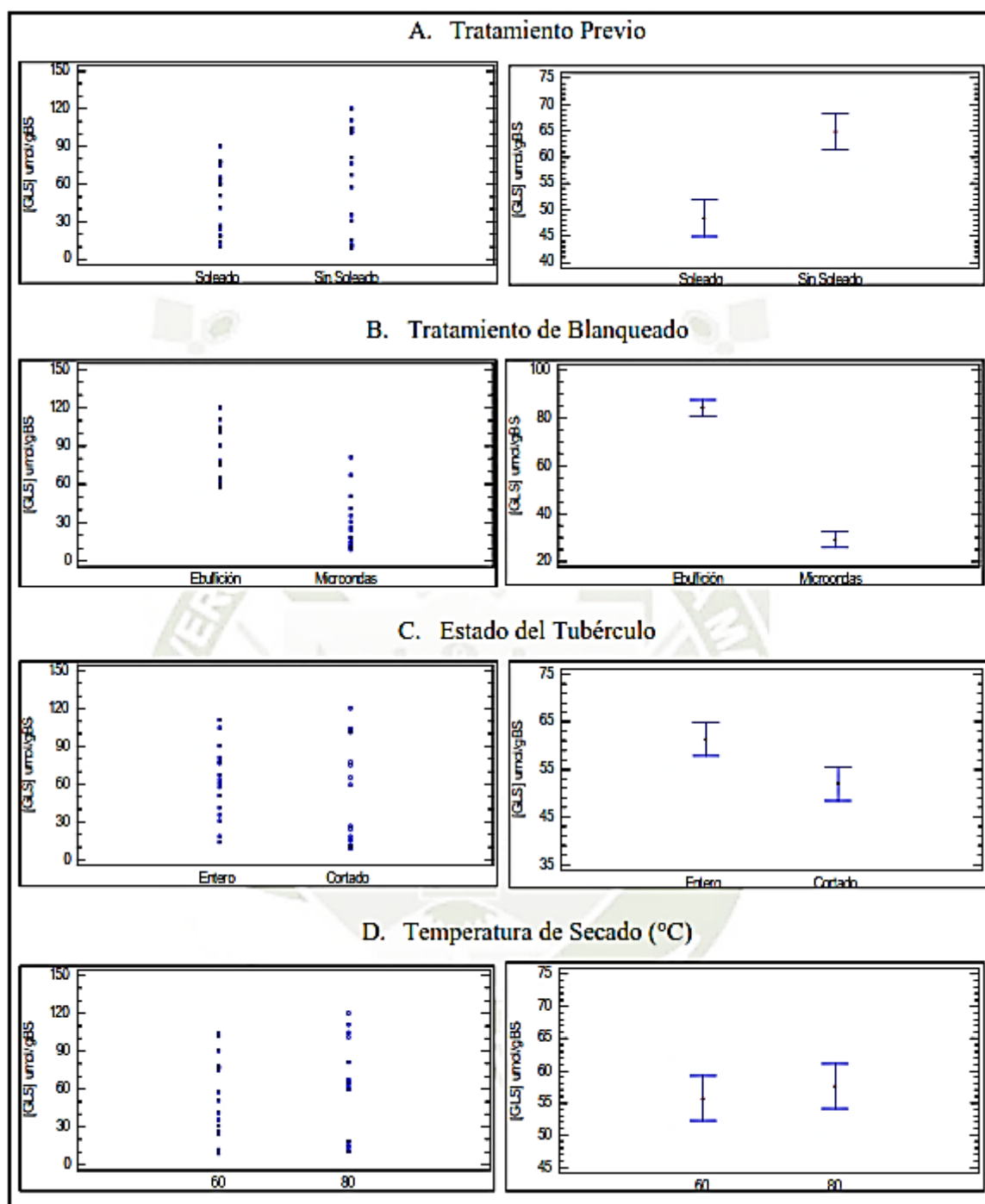


Figura 1. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de GSL totales en mashua morada. **Fuente:** Statgraphics Centurion XV

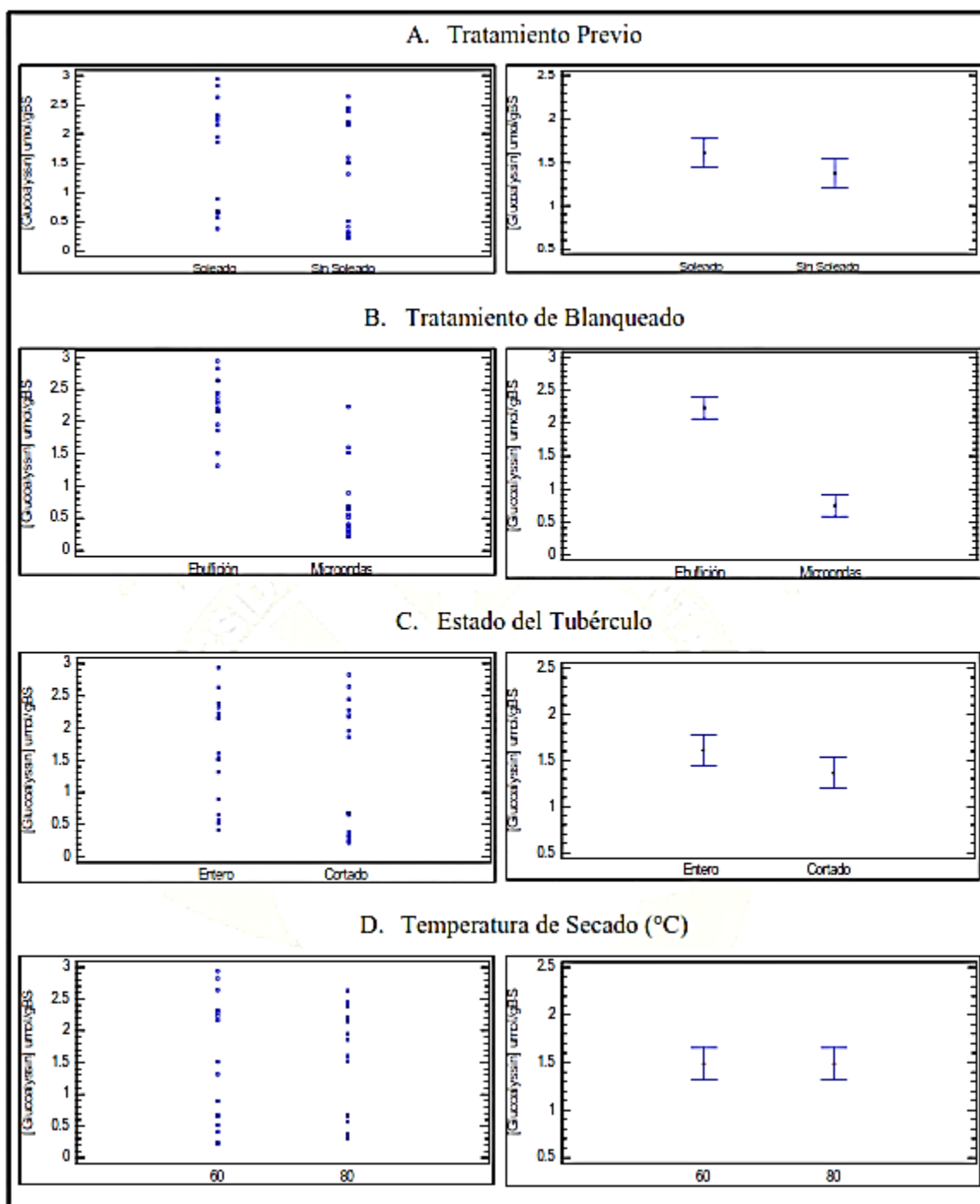


Figura 2. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de glucoalyssin en mashua morada. Fuente: Statgraphics Centurion XV

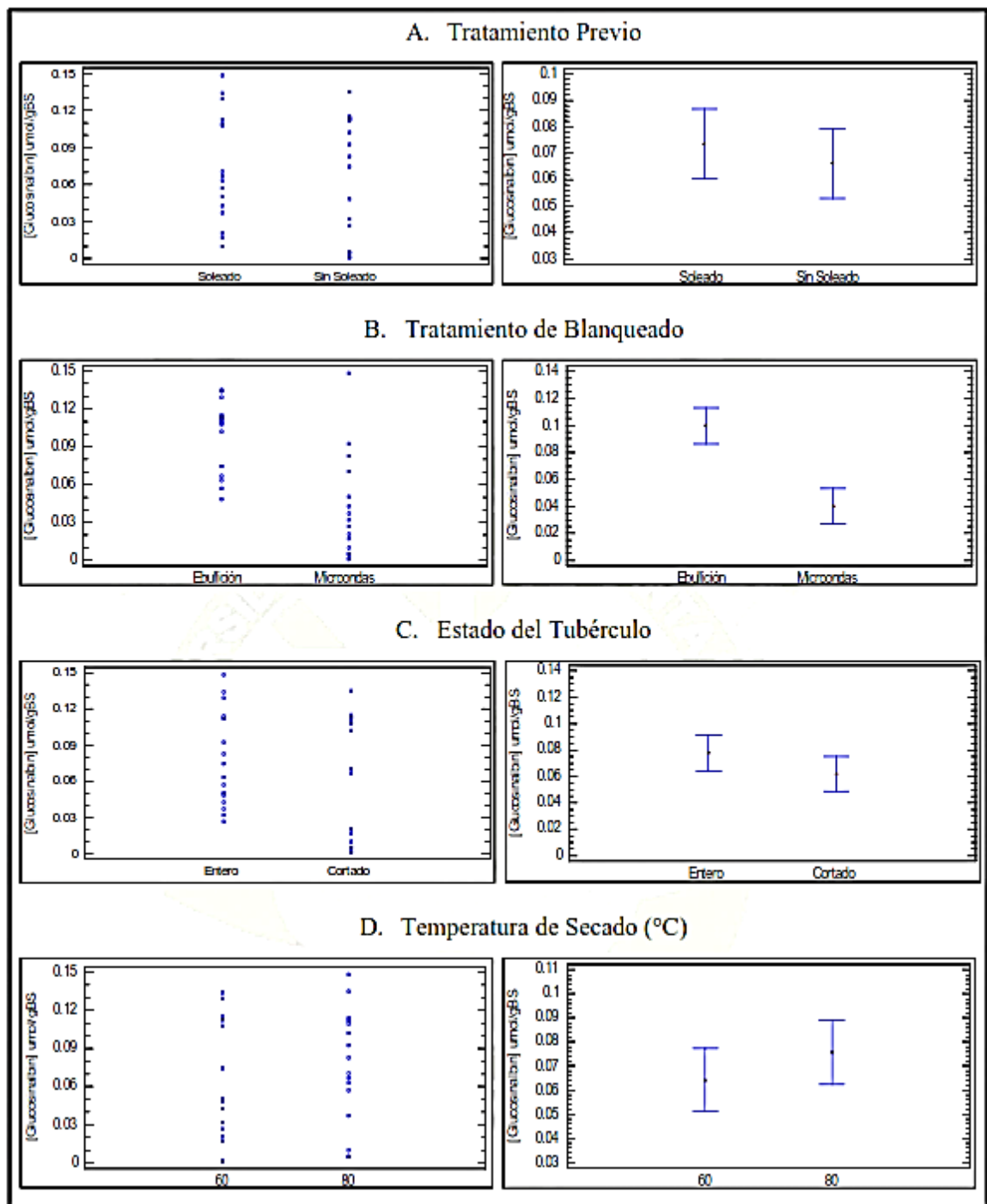


Figura 3. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de glucosinabin en mashua morada.
Fuente: Statgraphics Centurion XV

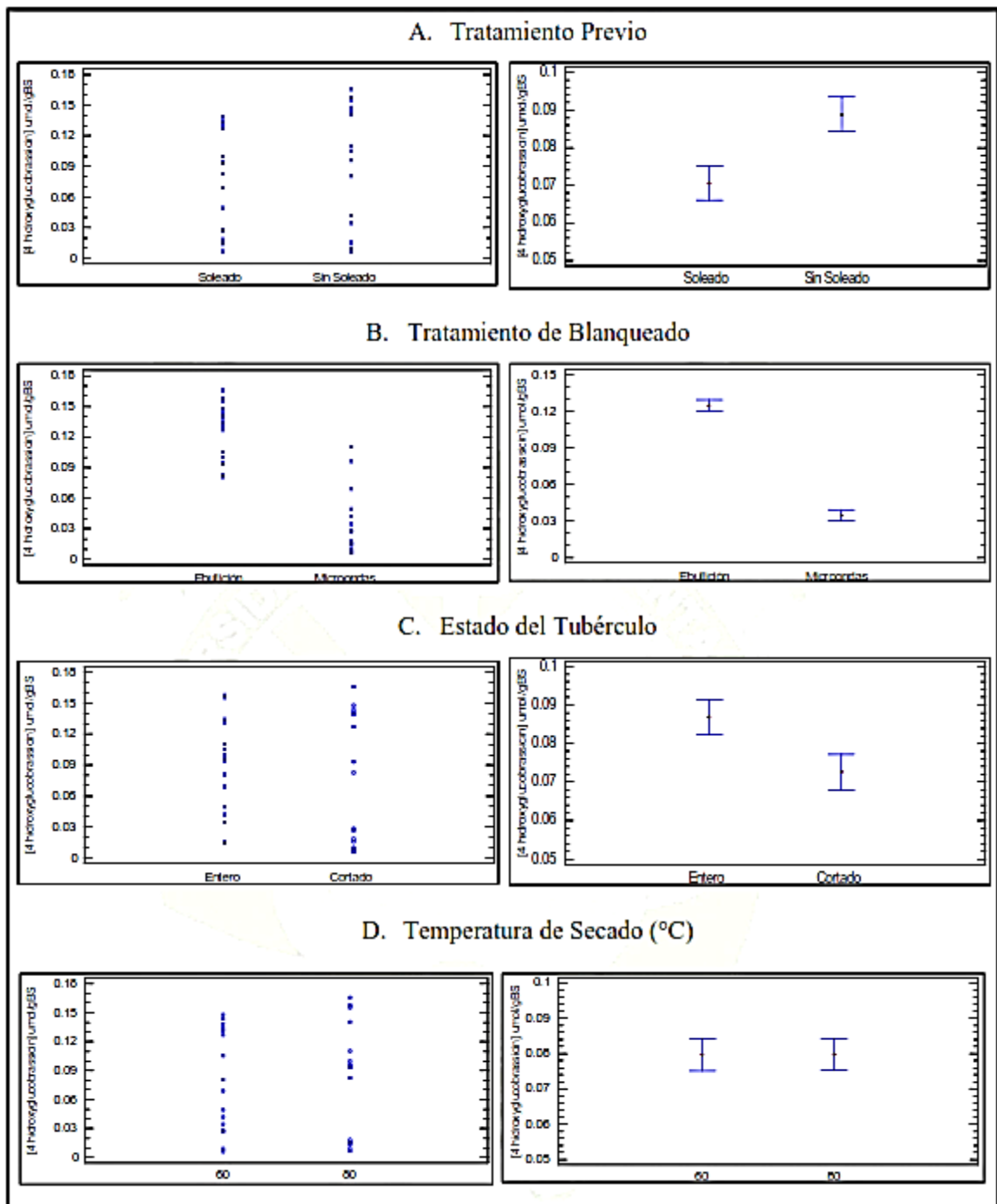


Figura 4. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de 4-Hydroxyglucobrassicin en mashua morada.

Fuente: Statgraphics Centurion XV

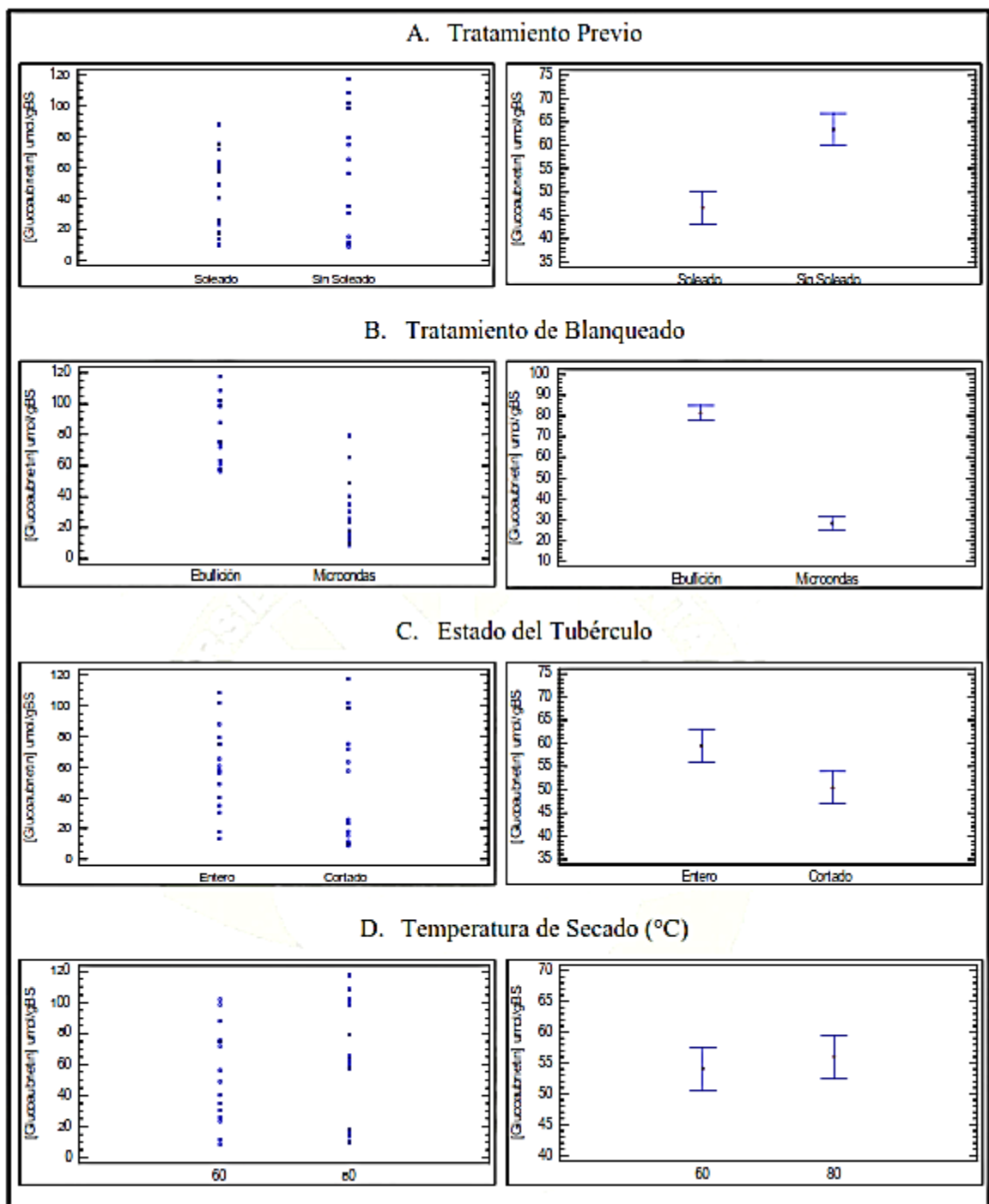


Figura 5. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para el contenido de glucoabrietin en mashua morada.
Fuente: Statgraphics Centurion XV

Anexo 7. Gráficos de interacciones e intervalos de confianza 95% para mashua, variedad morada.

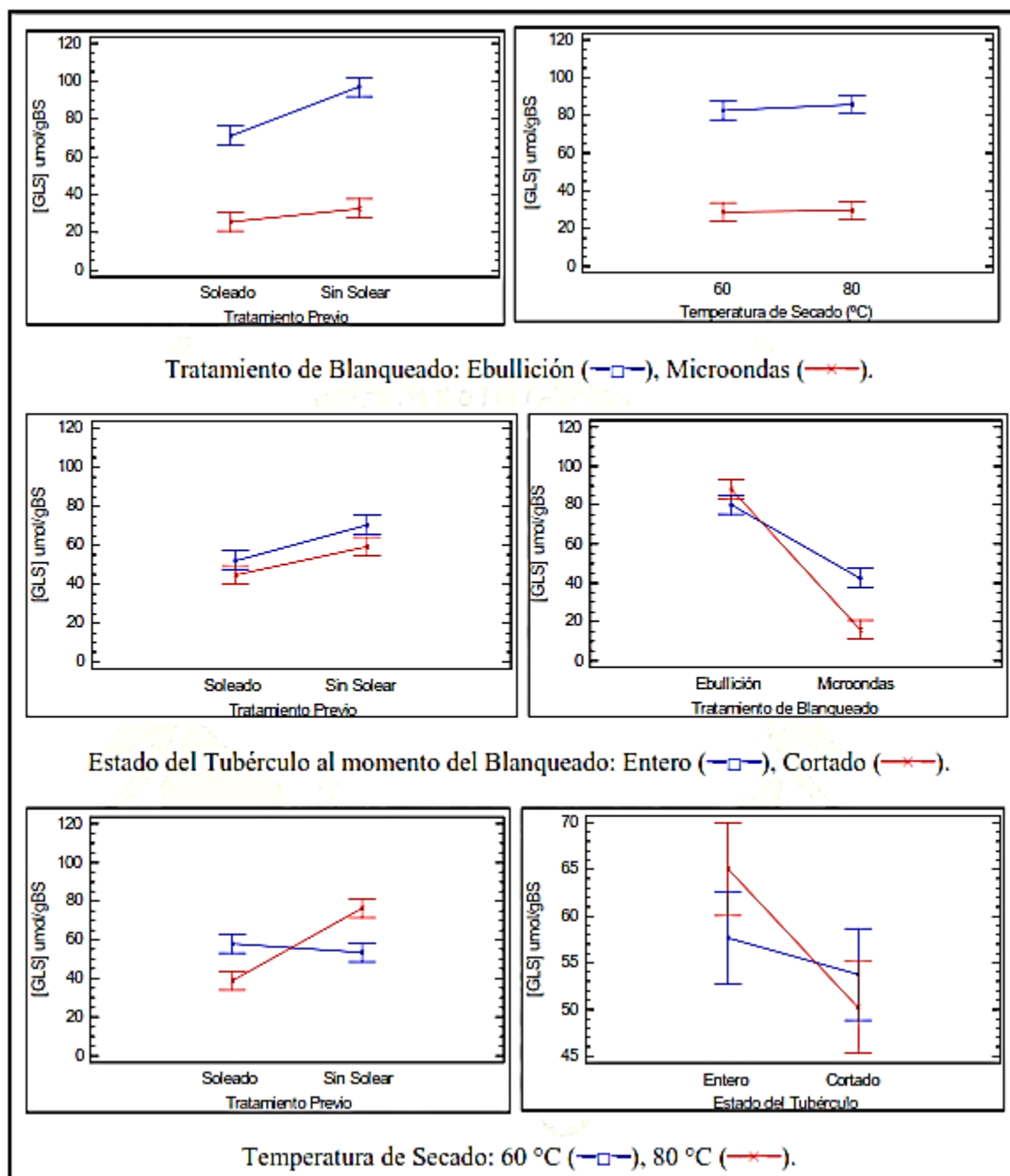


Figura 1. Gráficos de interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de GSL totales en mashua morada.

Fuente: Statgraphics Centurion XV

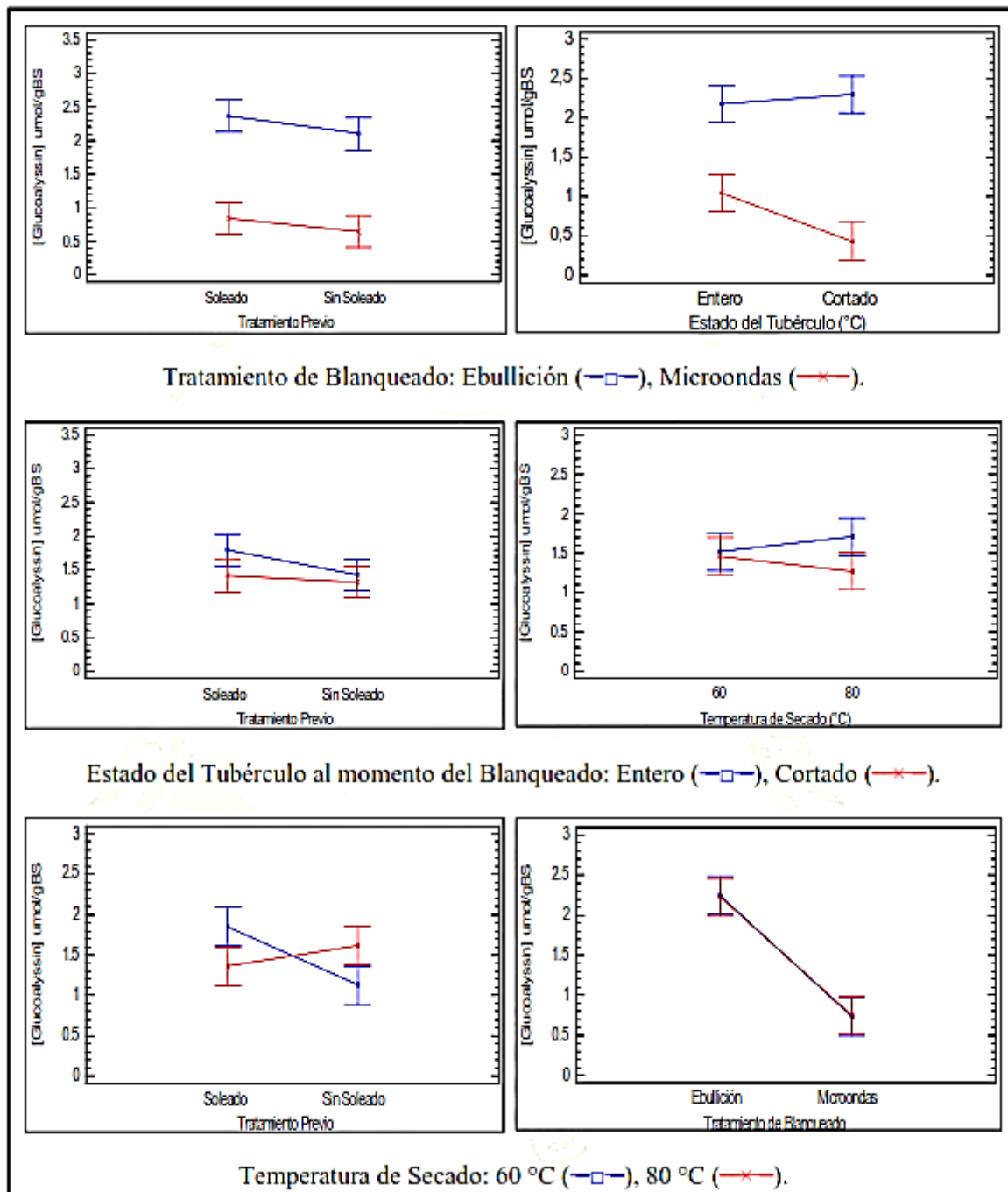


Figura 2. Gráficos de interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de glucoalyssin en mashua morada.

Fuente: Statgraphics Centurion XV

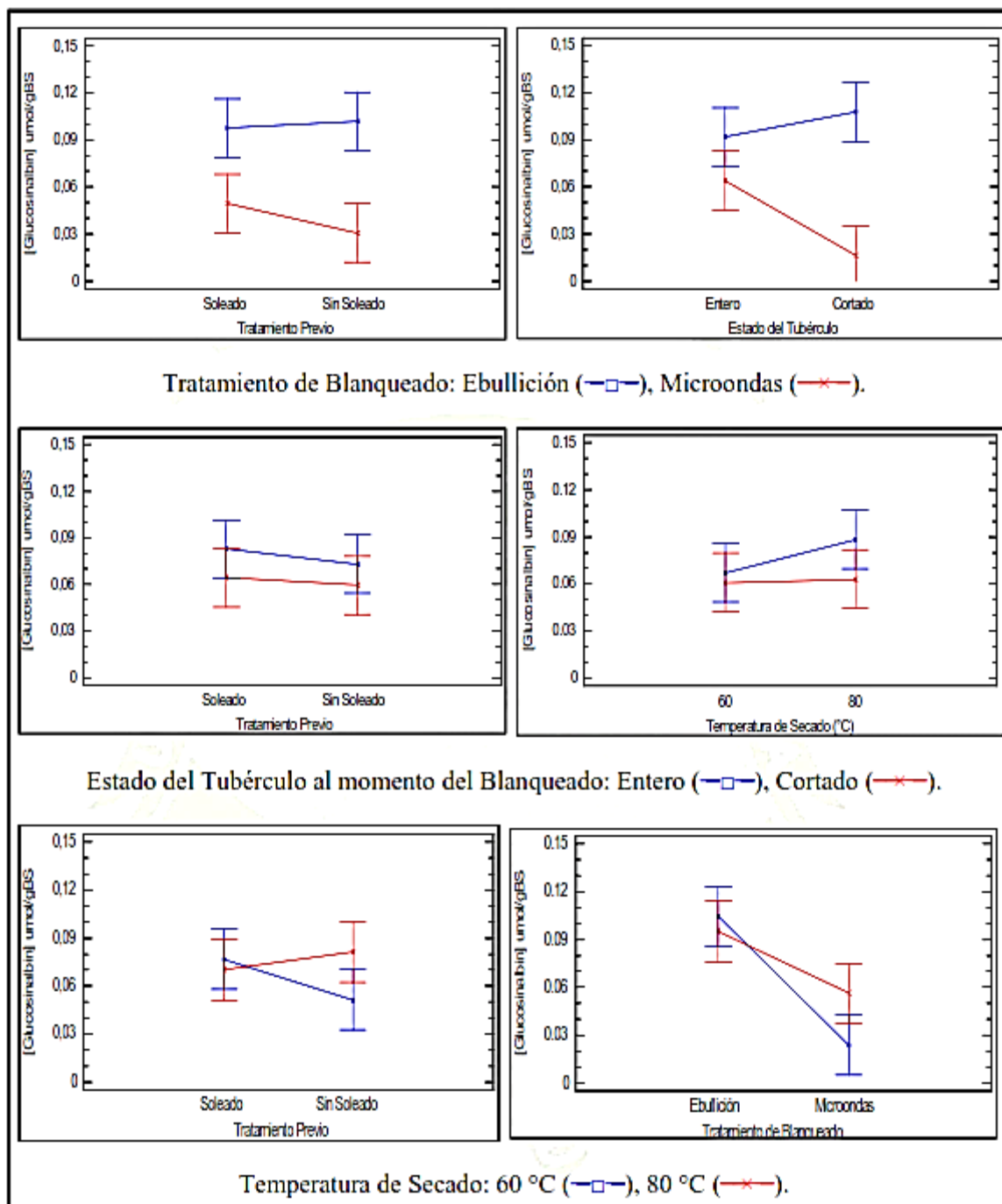


Figura 3. Gráficos de interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de glucosinabin en mashua morada.

Fuente: Statgraphics Centurion XV

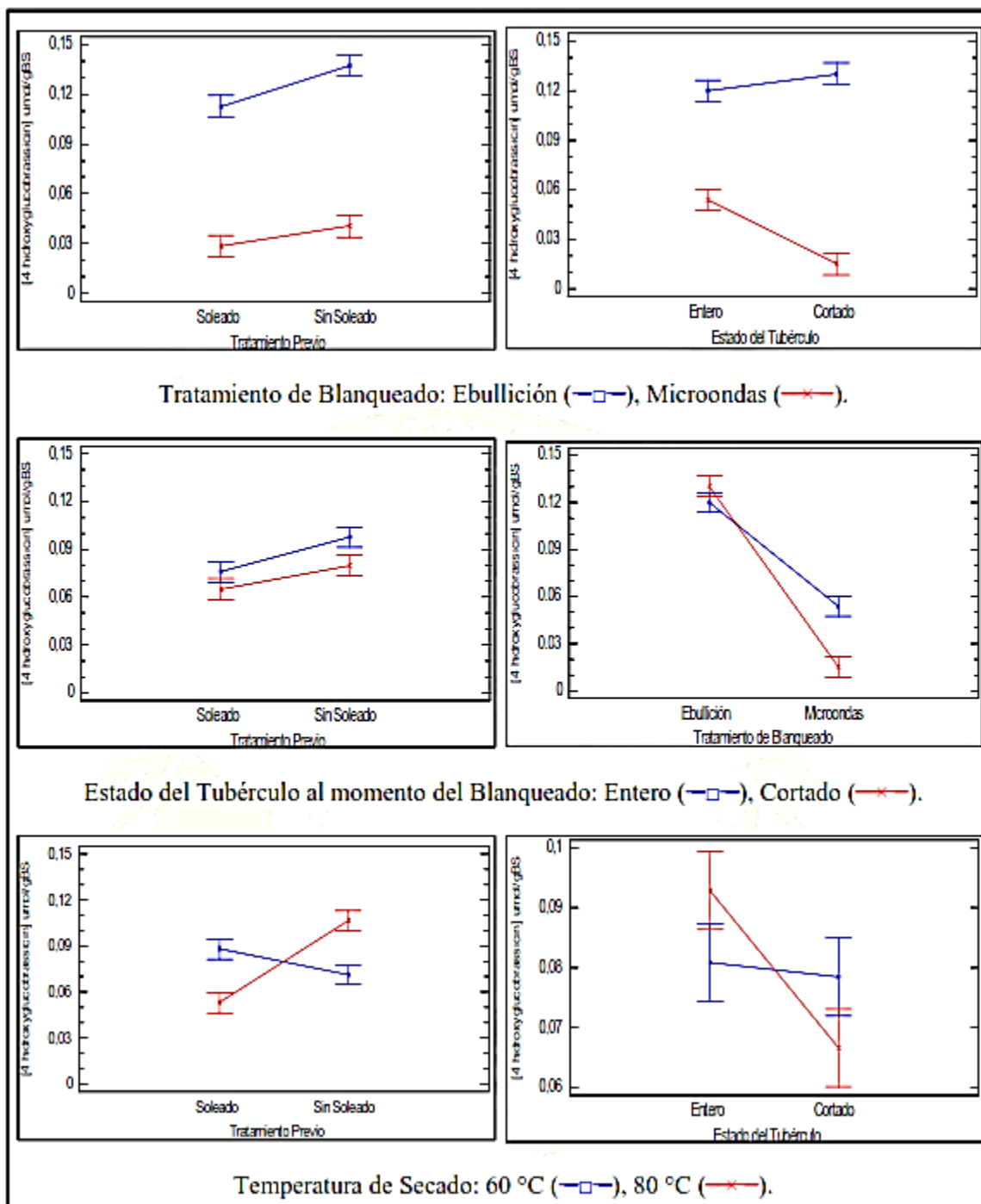


Figura 4. Gráficos de interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de 4-Hydroxyglucobrassicin en mashua morada.
Fuente: Statgraphics Centurion XV

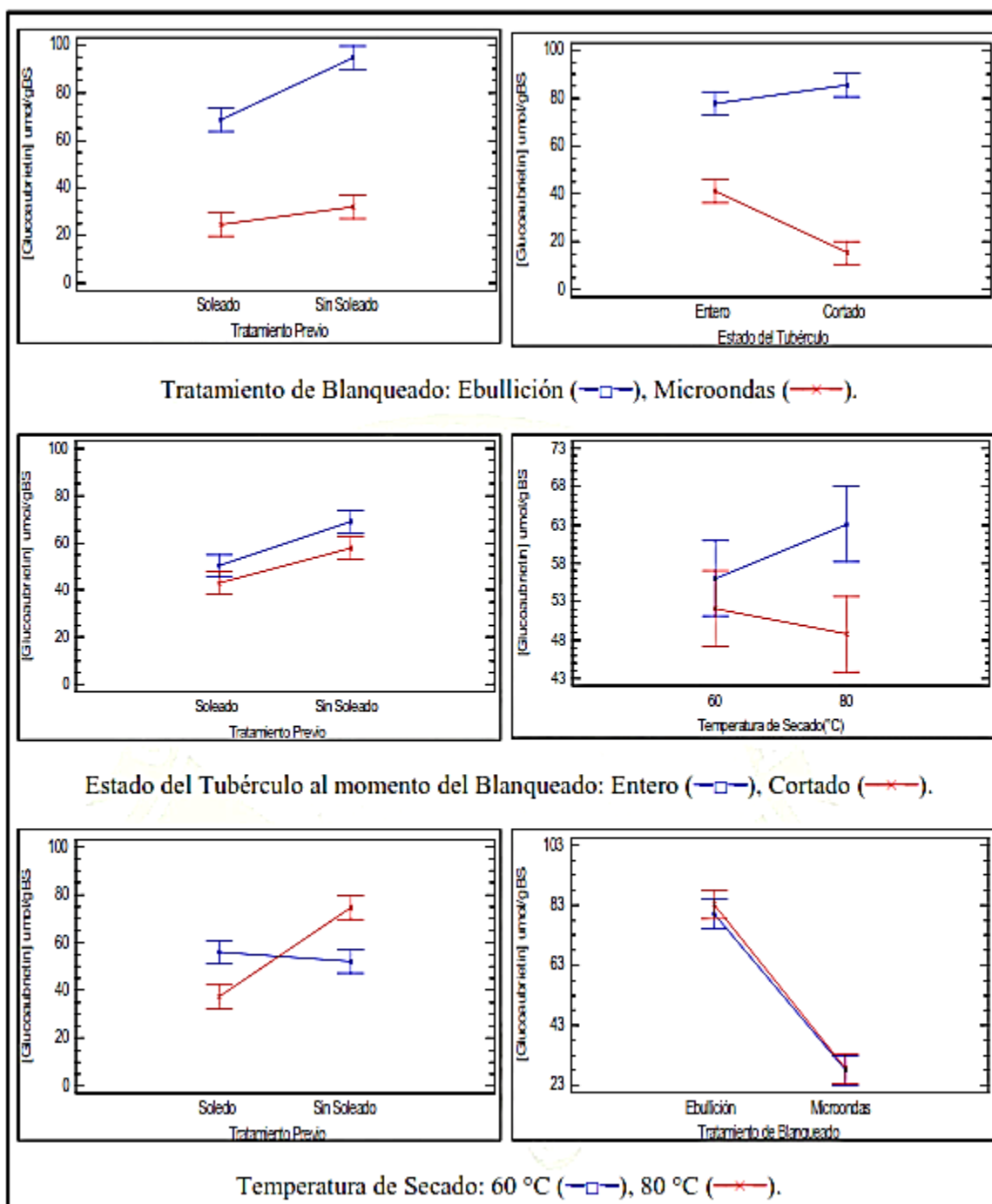


Figura 5. Gráficos de interacciones e intervalos de confianza al 95% para el contenido de glucoaubrietin en mashua morada.

Fuente: Statgraphics Centurion XV

Anexo 8. Análisis de varianza multifactorial para la actividad mirosinasa en mashua, variedad morada.

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

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-p
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Estado del Tubérculo	267230.00	1	267230	177.86	0.0000
B: Tratamiento de Blanqueado	2.81021 E6	1	2.81021 E6	1870.38	0.0000
C: Tratamiento Previo	1.020320 E6	1	1.02032 E6	679.09	0.0000
INTERACCIONES					
AB	267230	1	267230	177.86	0.0000
AC	22295.7	1	22295.7	14.84	0.0049
BC	1.02032 E6	1	1.02032 E6	679.09	0.0000
ABC	22295.7	1	22295.7	14.84	0.0049
RESIDUOS	12019.9	8	1502.48		
TOTAL (CORREGIDO)	5.44191 E6	15			

Fuente: Statgraphics Centurion XV.

*Número de casos: 16

Anexo 9. Gráficos de dispersión y gráficos de medias para actividad mirosinasa mashua, variedad morada

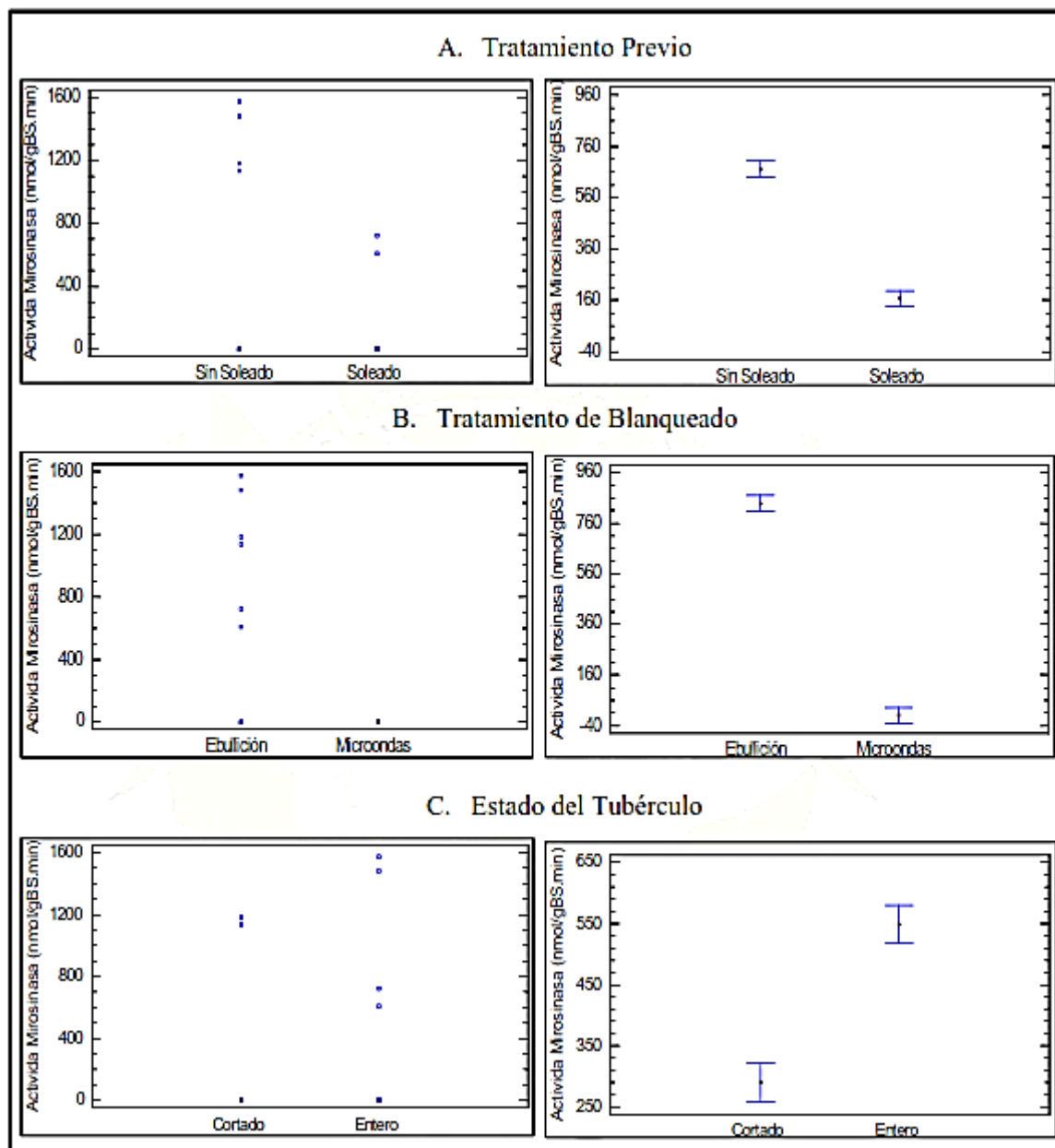


Figura 1. Gráficos de dispersión (izquierda) y gráficos de medias (derecha) con intervalos de confianza al 95% para la actividad mirosinasa en mashua morada.

Fuente: Statgraphics Centurion XV

Anexo 10. Gráficos de interacciones e intervalos de confianza 95% para actividad mirosinasa en mashua, variedad morada.

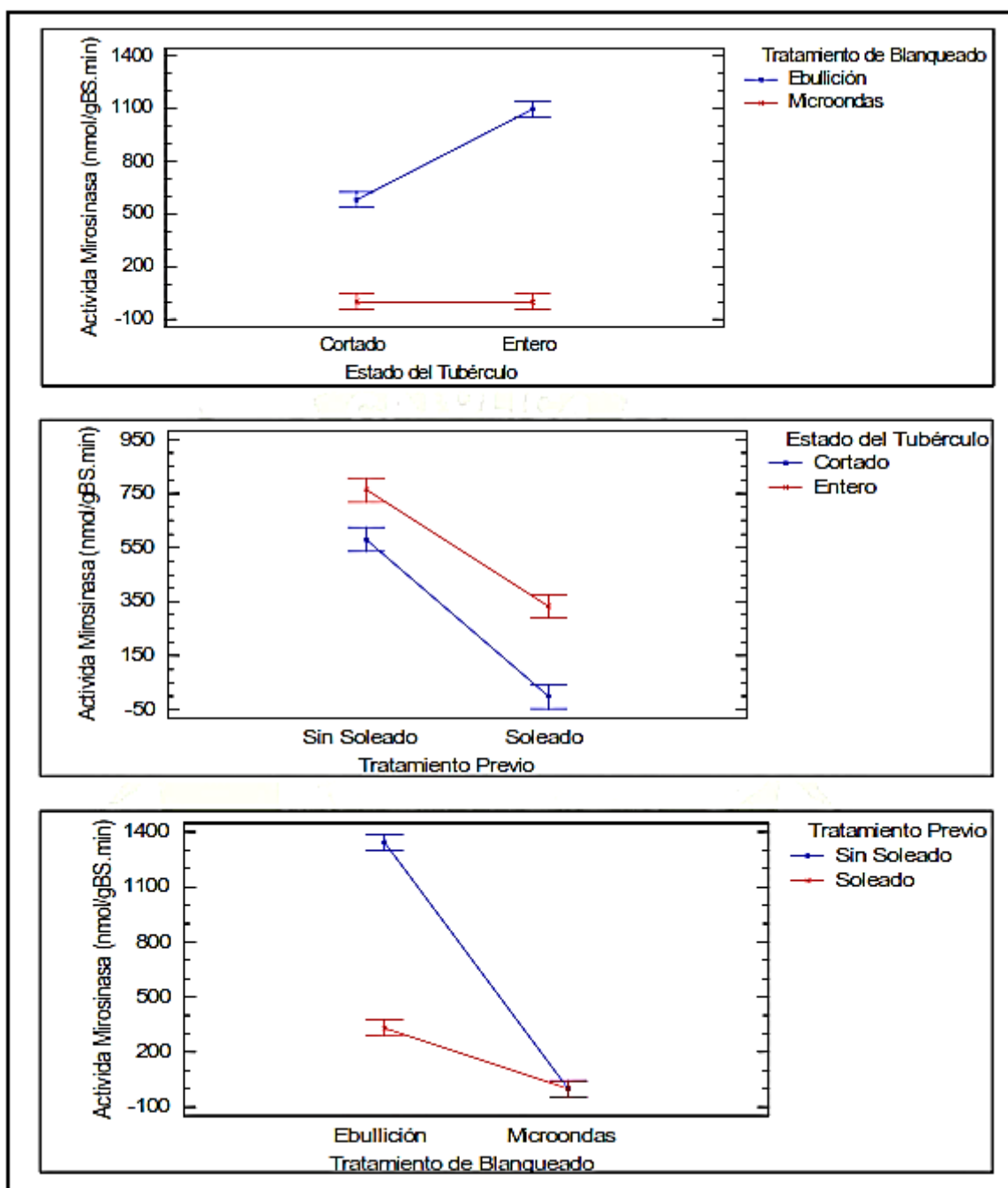


Figura 1. Gráficos de interacciones e intervalos de confianza al 95% para la actividad mirosinasa en mashua morada.

Fuente: Statgraphics Centurion XV

Anexo 11. Cromatogramas, espectros de absorción y curva de calibración del Sinigrin.

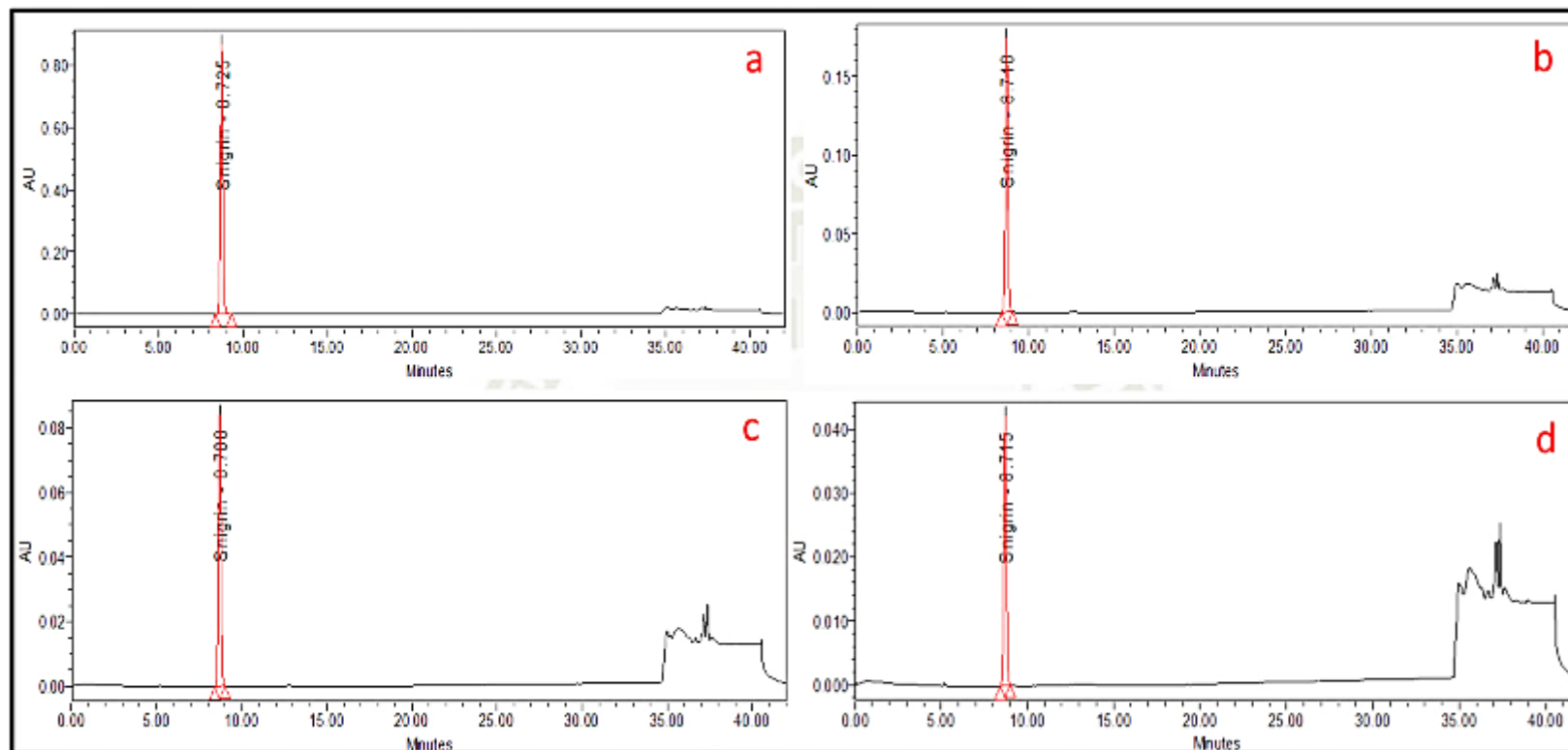


Figura 1. Perfiles cromatográficos de Sinigrin. (a) 0.476 mg/ml; (b) 0.0952 mg/ml; (c) 0.0476 mg/ml; (d) 0.0238 mg/ml.

Fuente: Software Empower - HPLC

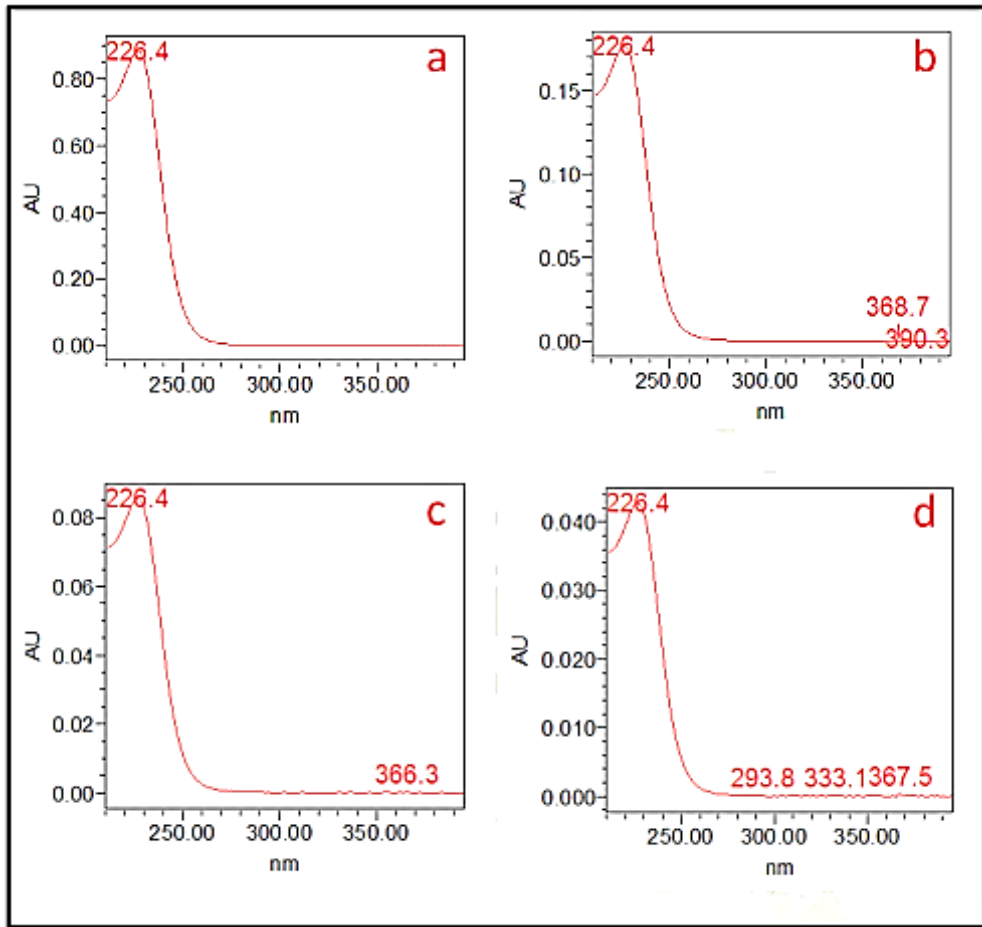


Figura 2. Espectros de absorción - Sinigrin. (a) 0.476 mg/ml; (b) 0.0952 mg/ml; (c) 0.0476 mg/ml; (d) 0.0238 mg/ml.

Fuente: Software Empower - HPLC

Anexo 12. Tabla A. Áreas de los picos cromatográficos en función de concentraciones conocidas ensayadas.

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

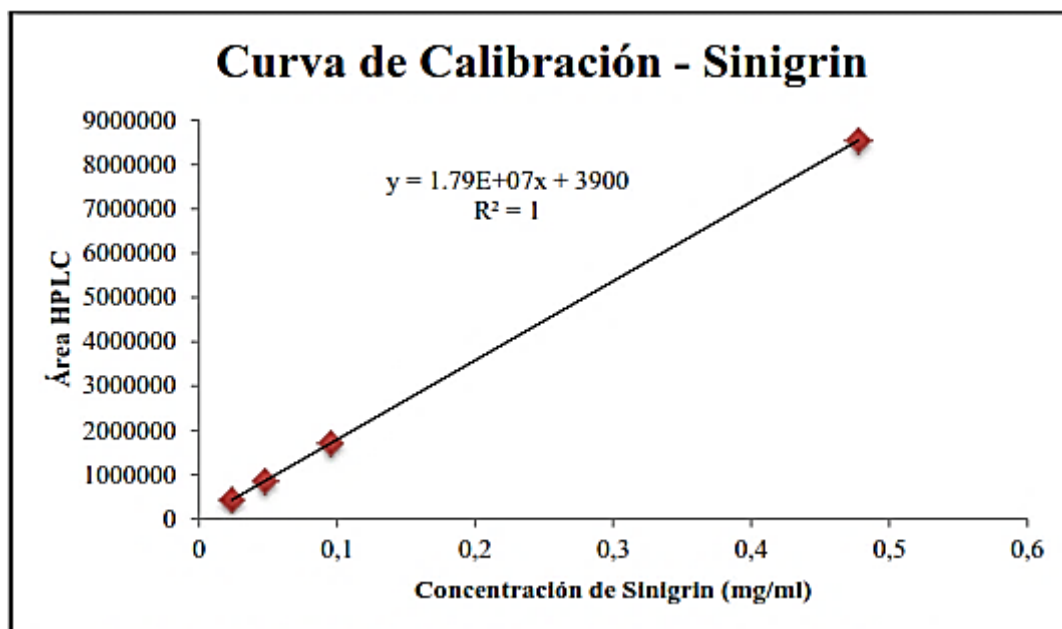


Figura 1. Curva de calibración del Sinigrin para el método HPLC de estándar interno.

Fuente: Microsoft Office Excel 2019

Anexo 13. Mediciones de HPLC de muestras extraídas

Tiempo [min]	Flujo [mL / min]	% Un agua	% B ACN
1	0.750	98	2
35	0.750	sesenta y cinco	35
40	0.750	98	2

Temperatura de la columna 40 ° C.

Tabla 1: Gradiente de acetonitrilo-agua para la separación y análisis de glucosinolato en HPLC de fase inversa.

Tiempo [min]	Flujo [mL / min]	% Un agua	% B ACN
1	0.750	98	2
10	0.750	89.3	10.7
11	0.750	98	2

Temperatura de la columna 40 ° C.

Tabla 2: Acortado gradiente de acetonitrilo-agua para la cuantificación de las cinco referencias de sinigrina utilizadas para la cuantificación de glucosinolatos.

Anexo 14. Espectros UV de las clases de glucosinolatos más comunes

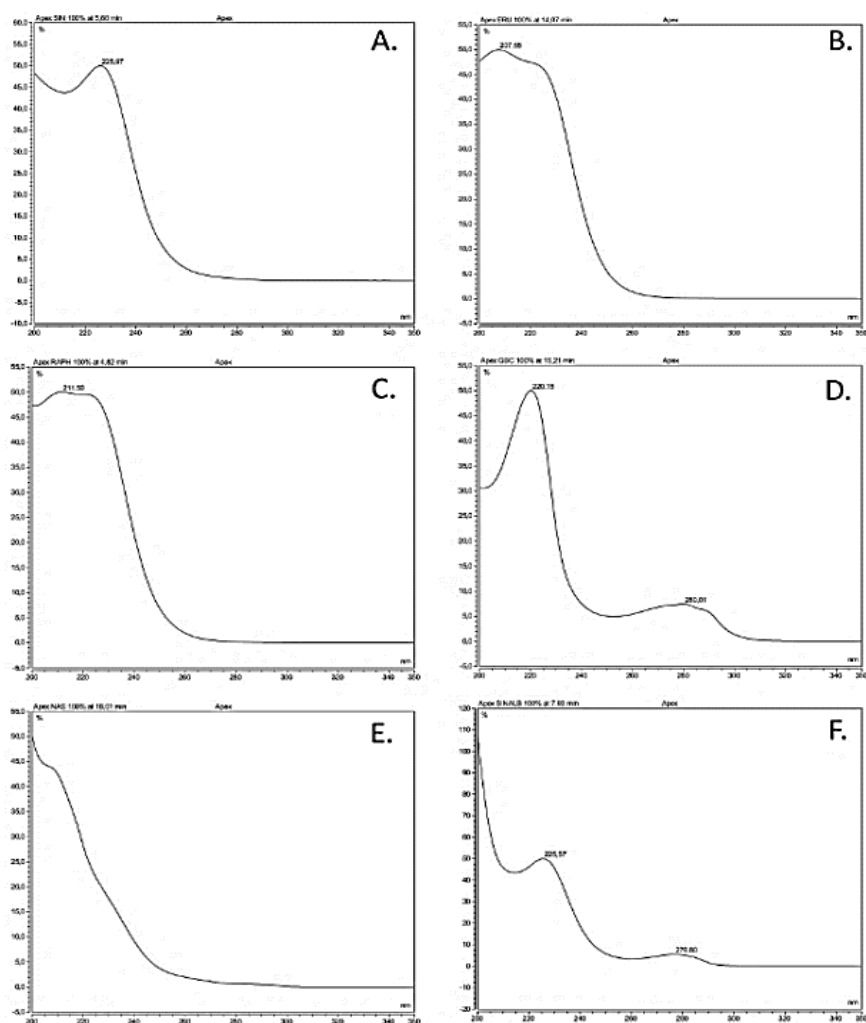


Figura 2. Espectros UV de las clases de glucosinolatos más comunes. Los espectros de absorción UV (200-350 nm) de seis desulfoglucosinolatos (GSL), basados en soluciones hechas de compuestos de referencia disponibles en el mercado extraídos como se describe aquí, representan las clases estructurales más comunes. Se dan el nombre común, el nombre estructural (entre paréntesis) y la clase estructural. (**A**) Sinigrin (2-propenyl GSL), alqueno; (**B**) glucoerucina (4-metiltiobutilo GSL), tioalqueno; (**C**) glucorafanina (4-metilsulfinitilbutil GSL), sulfinito; (**D**) glucobrassicina (indol-3-ilmetil GSL), indol; (**E**) gluconasturtiin (2-feniletil GSL), aromático; (**F**) sinalbin (4-hydroxybenzyl GSL), aromático.

Anexo 15. Ejemplo de cálculo para la preparación de la curva estándar de sinigrin

1. Cálculo de la molaridad de la solución de stock

Solución en stock: 8.769 mg de sinigrin monohidrato disuelto en 10, 0 ml de agua HPLC

Concentración en masa: 0,8769 mg/ml

Masa molar de sinigrin monohidrato: $M=415 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

-> $1\text{mM} = 415 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ o $0,415 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$

Molaridad - Concentración de masa / Masa molar á $0,8769 / 0,415$ á $2,11 \text{ mM}$

2. Dilución de la solución de stock monohidrato de sinigrin para obtener una curva de referencia:

Código	Acción	Vol of stock	Añadir agua	Concentración final en HPLC
Sí 5	2,11 mM	300 μl	700 μl	0.633 mM a 633 μM
Sí 4	2,11 mM	250 μl	750 μl	0,5275 mM a 527,5 μM
Sí 3	2,11 mM	125 μl	875 μl	0,26375 mM a 263,75 μM
Sí 2	2,11 mM	75 μl	925 μl	0,15825 mM a 158,25 μM
Sí 1	2,11 mM	25 μl	975 μl	0.05275 mM a 52.75 μM

Anexo 16. Factores de respuesta de los desulfo-glucosinolatos más comúnmente encontrados en extractos de plantas.

Time [min]	Flow [mL/min]	% A Water	% B ACN
1	0.750	98	2
35	0.750	65	35
40	0.750	98	2
Column Temperature 40 °C.			

Tabla 1: Gradiente de agua acetonitrilo para separación y análisis de glucosinato en HPLC de fase inversa.

Time [min]	Flow [mL/min]	% A Water	% B ACN
1	0.750	98	2
10	0.750	89.3	10.7
11	0.750	98	2
Column Temperature 40 °C.			

Tabla 2: Gradiente de agua de acetonitrilo acortado para la cuantificación de las cinco referencias de sinigrin utilizadas para la cuantificación de glucosinolatos.

Common name	Side chain structure	Rt (min)*	229 nm	reference#
<i>aliphatic glucosinolates</i>				
Glucocapparin	methyl	3.5	1	Brown
Sinigrin	2-propenyl	5.5	1	Brown, EC
Gluconapin	3-butenyl	9.5	1.11	EC
Glucobrassicinapin	4-pentenyl	13.5	1.15	EC
Glucoiberberin	3-methylthiopropyl	10.9	0.8	Brown
Glucoerucin	4-methylthiobutyl	14.0	0.9	Brown
Glucoiberin	3-methylsulfinylpropyl	3.7	1.2	Brown
Glucoraphanin	4-methylsulfinylbutyl	4.9	0.9	Brown
Glucoalyssin	5-methylsulfinylpentyl	7.6	0.9	Brown
Glucohesperin	6-methylsulfinylhexyl	10.5	1	Brown
Glucosiberin	7-methylsulfinylheptyl	13.5	1	Brown
Glucohirsutin	8-methylsulfinyloctyl	16.8	1.1	Brown
Glucoarabin	9-methylsulfinylnonyl	20.5	1	
Glucocheirolin	3-methylsulfonylpropyl	4.2	0.9	Brown
Progoitrin	2(R)-OH-3-butenyl	4.5	1.09	Buchner, EC
Gluconapoleiferin	2-OH-5-pentenyl	8.3	1	EC
<i>indole glucosinolates</i>				
4-hydroxyglucobrassicin	4-hydroxyindol-3-ylmethyl	11.2	0.28	Buchner, EC
Glucobrassicin	indol-3-ylmethyl	15.3	0.29	Buchner, EC
4-Methoxyglucobrassicin	4-methoxyindol-3-ylmethyl	18.2	0.25	Buchner, EC
Neoglucobrassicin	1-methoxyindol-3-ylmethyl	22.5	0.2	Buchner, EC
<i>aromatic glucosinolates</i>				
Sinalbin	4-hydroxybenzyl	8.1	0.5	Buchner
Glucosibarin	2(R)-OH-2-phenylethyl	12.1	0.95	see next
Glucobarbarin	2(S)-OH-2-phenylethyl	12.7	0.95	Buchner
Gluotropaeolin	benzyl	13.8	0.95	Buchner, EC
Gluconasturtiin	2-phenylethyl	18.0	0.95	Buchner, EC
<i>unknown - aliphatic/ aromatic like UV spectrum</i>			1	EC
<i>unknown - indole like spectrum</i>			0.25	EC
* approximate retention time (Rt) rounded to nearest 0.1 min (\pm 0.3 min depending on the column, eluent quality). Retention times are determined on ThermoFisher/Dionex Ultimate HPLC platforms equipped with an C ₁₈ column (150 x 4.6 mm, 3 micrometer particle size) plus C ₁₈ precolumn (10 x 4.6 mm, 5 micrometer particle size) with a gradient program as in Table 1.				
# References for response factors: Buchner, R. in Glucosinolates in rapeseed (ed J.P. Wathelet) 50-58 (Martinus Nijhoff Publishers, 1987); Brown, P. D., Tokuhisa, J. G., Reichelt, M. & Gershenzon, J. Variation of glucosinolate accumulation among different organs and developmental stages of Arabidopsis thaliana. Phytochemistry. 62 (3), 471-481, doi:10.1016/S0031-9422(02)00549-6, (2003); EC. Oil seeds - determination of glucosinolates High Performance Liquid Chromatography. Official Journal of the European Communities. L 170/28. Annex VIII 03.07.27-34 (1990).				

Tabla 3: Factores de respuesta de los desulfo-glucosinolatos más comúnmente encontrados en extractos de plantas y sus tiempos de retención aproximados en columnas C18. Eluyentes, gradiente, temperatura de columna y caudal como en la Tabla 1.

Anexo 17. *Contenido de humedad en mashua fresca morada de acuerdo con los días de conservación*

Muestra	Humedad (%)	Materia seca (%)
Control	2,31	97,69
Refrigeración 3d	8,68	91,32
Refrigeración 6d	3,72	96,28
Refrigeración 9d	2,67	97,23
Refrigeración 12d	5,19	94,81
Refrigeración 15d	3,12	96,88
Sombra 3d	5,34	94,66
Sombra 6d	3,57	96,43
Sombra 9d	1,74	98,26
Sombra 12d	7,29	92,71
Sombra 15d	2,37	97,63
Expuestos al sol 3d	2,39	97,61
Expuestos al sol 6d	3,32	96,68
Expuestos al sol 9d	2,85	97,15
Expuestos al sol 12d	2,29	97,71
Expuestos al sol 15d	2,99	97,01

Fuente: elaboración propia

Anexo 18. Fotografías



Fotografía 1. Recepción y lavado de accesiones de mashua.



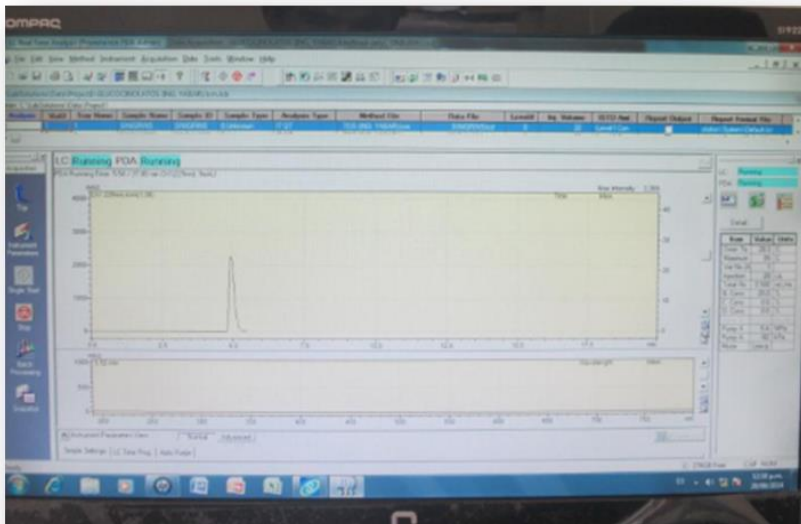
Fotografía 6. Centrifugación de extractos de glucosinolatos



Fotografía 7. Limpieza de los extractos y desulfatación, empleando DEAE (intercambiador iónico) y enzima sulfatasa.



Fotografía 8. Elución de desulfoglucosinatos y filtrado por acrodiscos (0,22 μ m) para su lectura por HPLC



Fotografía 9: Lectura de glucosinatos en el equipo de HPLC



