

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO  
MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**



**"ESTABILIDAD OXIDATIVA DEL ACEITE DE SOYA EN  
ALMACENAMIENTO Y FRITURA CON ADICIÓN DE  
EXTRACTOS ANTIOXIDANTES DE MASHUA (*Tropaeolum  
Tuberosum*)"**

**Presentada por:**

**MARIENELA CALSIN CUTIMBO**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE  
MAGISTER SCIENTIAE EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**Lima - Perú**

**2016**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO  
MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**"ESTABILIDAD OXIDATIVA DEL ACEITE DE SOYA EN  
ALMACENAMIENTO Y FRITURA CON ADICIÓN DE  
EXTRACTOS ANTIOXIDANTES DE MASHUA (*Tropaeolum  
Tuberosum*)"**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE  
MAGISTER SCIENTIAE**

**Presentada por:**

**MARIENELA CALSIN CUTIMBO**

**Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:**

Dra. Rosana Chirinos Gallardo  
**PRESIDENTE**

Dr. David Campos Gutiérrez  
**PATROCINADOR**

Mg.Sc. Gladys Tarazona Reyes  
**MIEMBRO**

Mg.Sc. Francisco Salas Valerio  
**MIEMBRO**

## **DEDICATORIA**

Gracias a Dios por cuidar mi camino y haberme puesto en mi camino personas que han sido mi soporte y compañía.

A mis padres GERMAN y SOLEDAD por darme la vida y apoyarme siempre en todo momento, por estar conmigo siempre cuando los necesite, por permitirme cumplir todas mis metas trazadas en mi vida. A mi hermano MARCO ANTONIO por el apoyo moral en los momentos que lo necesite. Los amo mucho.

A mi esposo RAMIRO y a mi hija NOELIA por estar en los buenos y malos momentos y por darme su apoyo incondicional, sin ustedes este merito no hubiese sido merecido. A mis otros padres ALBERTO y MARIA VICTORIA con todo cariño. Los amo mucho.

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento:

A la Escuela de Postgrado de la UNALM, por mi formación académica y profesional en estos años.

Al Instituto de Biotecnología-IBT, por el apoyo con datos y demás información para la realización de la presente tesis de maestría.

Al Dr. David Campos Gutiérrez asesor de la presente tesis de maestría, por sus orientaciones, consejos y amistad.

A la Dra. Rosana S. Chirinos Gallardo por sus sugerencias y apoyo incondicional desde el inicio hasta el final de la tesis.

Mg.Sc. Gladys M. Tarazona de Rodriguez y Mg.Sc. Walter F. Salas Valerio por sus explicaciones en la etapa de redacción y mejora de mi tesis.

A cada uno de los docentes de la maestría quienes me brindaron su tiempo para llevar a cabo esta presente trabajo de investigación.

A la Dra. Ana Aguilar, Dra. Indira Betalleluz, Mg. Sc. Marianela Inga, Zulli Tipacti, Nataly Costa, Adelayda, que acompañaron y apoyaron durante la ejecución de la tesis. A todos mis amigos y amigas que me han acompañado en la realización de esta investigación gracias por sus consejos y amistad en esta etapa de mi vida.

## RESUMEN

Se evaluó el efecto de extractos antioxidantes provenientes de tres genotipos de mashua (ARB 5241, DP 0224 y ARV 5366). Los extractos metanólicos (EM) y de acetato de etilo (EaE) fueron obtenidos mediante purificación en columnas SEP PAK-C18 denominado extracto-metanólico (EM) y lixiviación del extracto obtenido utilizando acetato de etilo, respectivamente. El contenido promedio de compuestos fenólicos totales fue de 8.23 y 4.08 mg de ácido gálico equivalente/ml de extracto, respectivamente, así mismo la capacidad antioxidantes promedio fue de 107.36 y 29.03  $\mu\text{mol}$  equivalente de trolox /ml de extracto, respectivamente. Los extractos antioxidantes (100 ppm-EM, 300 ppm-EM, 600 ppm-EM, 100 ppm-EaE, 300 ppm-EaE , 600 ppm-EaE ) de los tres genotipos de mashua y 200 ppm-BHT fueron añadidos por separado a distintas muestras de aceite de soya y almacenados durante 15 días. El índice de peróxido, capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales fueron evaluados a los 0, 7 y 15 días de almacenamiento. Los resultados indicaron que los extractos de 300 ppm-EaE para los tres genotipos de mashua presentaron menor índice de peróxidos, mayor cantidad de compuestos fenólicos totales y mayor capacidad antioxidante comparados con los demás tratamientos, indicando un mayor efecto en la estabilidad oxidativa del aceite de soya. Seguidamente se analizó los extractos antioxidantes (200 ppm-EM y 200 ppm-EaE) del genotipo de mashua ARB 5241 y el extracto a 200 ppm-TBHQ (butilhidroquinona terciaria) añadidos en aceite de soya durante un proceso de fritura  $180\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$  de papa por 5 min, fueron analizadas con intervalos de 30 minutos, evaluándose compuestos polares totales, dienos conjugados y trienos conjugados a las 0, 1.5, 2.5 y 3.5 horas. Los resultados mostraron que el extracto-acetato de etilo (EaE) del genotipo de mashua ARB 5241 presentó menor porcentaje de compuestos polares, menor formación de dienos y trienos comparados con el extracto-metanólico (EM) de mashua y TBHQ, indicando mayor efecto protector en la estabilidad oxidativa del aceite de soya.

**Palabras claves:** Estabilidad oxidativa, Antioxidantes, Mashua.

## ABSTRACT

The effect of antioxidant extracts obtained from three genotypes of mashua (ARB 5241, DP 0224 and ARV 5366) were evaluated. The methanolic (EM) and ethyl acetate (EaE) extracts were obtained using a SEP PAK-C18 purification column and lixiviation of the product with ethyl acetate, respectively. The extracts showed a total content of phenolic compounds of 8.23 and 4.08 mg of gallic acid equivalents/mL respectively; and an average antioxidant capacity of 107.36 and 29.03  $\mu\text{mol}$  of Trolox equivalent/mL respectively. Antioxidant extracts from the three genotypes of mashua (100 ppm-EM, 300 ppm-EM, 600 ppm-EM, 100 ppm-EaE, 300 ppm-EaE and 600 ppm-EaE) and 200 ppm-BHT were added separately to soy oil samples and stored for 15 days. The peroxide index, antioxidant capacity and total phenolic compounds were evaluated at 0, 7 and 15 days of storage. Results showed that the 300 ppm-EaE extracts of the three mashua genotypes had lower peroxide index, higher amounts of total phenolic compounds and higher antioxidant capacity than other treatments, indicating a better effect on soy oil in its oxidative stability. Additionally, the antioxidant extracts from the genotype ARB 5241, 200 ppm-EM and 200 ppm-EaE, and the tertiary butylhydroquinone extract, 200 ppm-TBHQ, were analyzed by their separate addition to soy oil during a potato frying process at  $180 \pm 5^\circ\text{C}$  for 5 minutes with 30 minutes intervals in between frying, evaluating total polar compounds and conjugated di-enes and tri-enes at 0, 1.5, 2.5 and 3.5 hours. The results showed that the ethyl acetate extract from the mashua ARB 5241 genotype had a lower percentage of total polar compounds and less formation of di-enes and tri-enes compared to the methanolic and TBHQ extracts, indicating a protective effect on the oxidative stability of soy oil.

**Key words:** Oxidative stability, antioxidants, mashua.

# ÍNDICE GENERAL

	<b>Pág.</b>
<b>RESUMEN</b>	
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b>	<b>3</b>
2.1 Estabilidad oxidativa del aceite	3
2.1.1 Oxidación del aceite	4
2.1.2 Mecanismos de autooxidación del aceite	5
2.1.3 Factores que influyen en la estabilidad oxidativa	8
2.1.4 Parámetros de estabilidad oxidativa	12
2.2 Antioxidantes	14
2.2.1 Antioxidantes sintéticos	14
2.2.2 Antioxidantes naturales	15
2.2.3 Mecanismo de acción de los antioxidantes	15
2.2.4 Compuestos fenólicos	16
2.2.5 Estructura química y clasificación de los compuestos fenólicos	17
2.2.6 Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos	21
2.2.7 Factores que determinan la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos	23
2.2.8 Medida de la actividad antioxidante	24
2.3 Mashua	24
2.3.1 Generalidades	24
2.3.2 Clasificación taxonómica	26
2.3.3 Características agronómicas y morfológica	26
2.3.4 Composición química y valor nutricional	27
2.3.5 Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de la mashua	28
2.3.6 Usos tradicionales	29
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>31</b>
3.1 Lugar	31
3.2 Materiales	31
3.2.1 Materia prima	31
3.2.2 Materiales de laboratorio	31
3.2.3 Equipos de laboratorio	32
3.2.4 Reactivos	32

3.3	Métodos de análisis	33
3.3.1	Determinación de humedad y materia seca	33
3.3.2	Determinación de compuestos fenólicos	33
3.3.3	Determinación de la capacidad antioxidante	33
3.3.4	Determinación de índice de peróxido	34
3.3.5	Determinación de compuestos polares totales	34
3.3.6	Determinación de dienos conjugados y trienos conjugados	35
3.4	Metodología experimental	36
3.4.1	Obtención de extractos antioxidantes de mashua	36
3.4.2	Efecto de los extractos antioxidantes de mashua en la oxidación del aceite de soya durante almacenamiento acelerado	38
3.4.3	Efecto de los extractos antioxidantes de mashua en la estabilidad oxidativa del aceite de soya durante la fritura	39
3.5	Evaluación estadística	40
3.5.1	Extractos antioxidantes de mashua	40
3.5.2	Efecto de los extractos antioxidantes de mashua en la estabilidad oxidativa del aceite de soya durante almacenamiento acelerado	40
3.5.3	Efecto de los extractos antioxidantes de mashua en la estabilidad oxidativa del aceite de soya durante la fritura	41
<b>IV</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>42</b>
4.1	Características de la materia prima	42
4.2	Extractos antioxidantes de mashua	42
4.2.1	Compuestos fenólicos totales de los extractos antioxidantes de Mashua	43
4.2.2	Capacidad antioxidante de los extractos antioxidantes de mashua	44
4.2.3	Capacidad antioxidante específica en los extractos antioxidantes de mashua	45
4.3	Evaluación de los extractos antioxidantes de mashua en la oxidación del aceite de soya durante almacenamiento acelerado	46



4.3.1	Índice de peróxido	46
4.3.2	Estabilidad de los compuestos fenólicos durante el almacenamiento del aceite de soya	50
4.3.3	Estabilidad de la capacidad antioxidante durante el almacenamiento del aceite de soya	54
4.4	Evaluación de los extractos antioxidantes de mashua en la estabilidad oxidativa del aceite de soya durante la fritura	58
4.4.1	Compuestos polares totales	58
4.4.2	Dienos conjugados	61
4.4.3	Trienos conjugados	62
<b>V</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	64
<b>VI</b>	<b>RECOMENDACIONES</b>	65
<b>VII</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b>	66
<b>VIII</b>	<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
<b>Cuadro 1:</b> Composición química de la mashua expresado en base seca	28
<b>Cuadro 2:</b> Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de la mashua	29
<b>Cuadro 3:</b> Esquema experimental para evaluar el efecto de extractos antioxidantes de mashua en la oxidación del aceite de soya durante almacenamiento	38
<b>Cuadro 4:</b> Esquema experimental para evaluar el efecto de extractos antioxidantes de mashua en la estabilidad oxidativa del aceite de soya durante la fritura	39
<b>Cuadro 5.</b> Contenido de humedad y materia seca de tres genotipos de mashua	42

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1:</b> Estructura química del flavonoide	18
<b>Figura 2:</b> Estructura de las principales clases de antoxantinas	19
<b>Figura 3:</b> Estructuras de antocianidina	19
<b>Figura 4:</b> Clasificación de estructuras de ácidos hidroxibenzoico	20
<b>Figura 5:</b> Clasificación de estructuras de ácidos hidroxicinámicos	20
<b>Figura 6:</b> Variedades de mashua (lamina CIP)	25
<b>Figura 7:</b> Esquema del proceso de obtención de extractos antioxidantes de mashua	36
<b>Figura 8:</b> Contenido de compuestos fenólicos totales en los extractos antioxidantes (EB, EM y EaE) de tres genotipos de mashua	43
<b>Figura 9:</b> Capacidad antioxidante en los extractos antioxidantes (EB, EM y EaE) de tres genotipos de mashua	45
<b>Figura 10:</b> Índice de peróxido en el aceite de soya con extractos antioxidantes (EM, EaE) del genotipo de mashua ARB 5241, BHT durante el almacenamiento	47
<b>Figura 11:</b> Índice de peróxido de aceites de soya con extractos antioxidantes (EM, EaE) del genotipo de mashua DP 0224, BHT durante el almacenamiento	48
<b>Figura 12:</b> Índice de peróxido de aceites de soya con extractos antioxidantes (EM, EaE) del genotipo de mashua ARV 5366, BHT durante el almacenamiento	49
<b>Figura 13:</b> Compuestos fenólicos totales en los aceites de soya con extractos antioxidantes (EM, EaE) del genotipo de mashua ARB 5241 durante almacenamiento	51
<b>Figura 14:</b> Compuestos fenólicos totales en los aceites de soya con extractos antioxidantes (EM, EaE) del genotipo de mashua DP 0224 durante almacenamiento	52
<b>Figura 15:</b> Compuestos fenólicos totales en los aceites de soya con extractos antioxidantes (EM, EaE) del genotipo de mashua ARV 5366 durante almacenamiento	53

<b>Figura 16:</b>	Capacidad antioxidante en los aceites de soya con extractos antioxidantes (EM, EaE) del genotipo de mashua ARB 5241, BHT durante almacenamiento	55
<b>Figura 17:</b>	Capacidad antioxidante en los aceites de soya con extractos antioxidantes (EM, EaE) del genotipo de mashua DP 0224, BHT durante almacenamiento	56
<b>Figura 18:</b>	Capacidad antioxidante en los aceites de soya con extractos antioxidantes (EM, EaE) del genotipo de mashua ARV 5366, BHT durante almacenamiento	57
<b>Figura 19:</b>	Compuestos polares totales en aceite de soya con extractos antioxidantes (EM, EaE) del genotipo ARB 5241 y TBHQ durante el proceso de fritura de papas	59
<b>Figura 20:</b>	Dienos conjugados en aceite de soya con extractos antioxidantes (EM, EaE) del genotipo ARB 5241 de mashua, TBHQ y Blanco durante el proceso de fritura de papas	61
<b>Figura 21:</b>	Trienos conjugados en aceite de soya con extractos antioxidantes (EM, EaE) del genotipo ARB 5241 de mashua, TBHQ y Blanco durante el proceso de fritura de papas	62

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
<b>Anexo 1:</b> Obtención de extractos antioxidantes	75
<b>Anexo 2:</b> Resultados de evaluación del efecto de extractos antioxidantes de mashua en la oxidación del aceite de soya durante almacenamiento acelerado	80
<b>Anexo 3:</b> Resultados de evaluación del efecto de extractos antioxidantes de mashua en la estabilidad oxidativa del aceite de soya durante la fritura	98
<b>Anexo 4:</b> Análisis de regresión lineal del efecto de extractos antioxidantes de mashua en la estabilidad oxidativa del aceite de soya durante la fritura	104

## I. INTRODUCCIÓN

Desde hace mucho tiempo se ha tenido que afrontar los problemas derivados de las reacciones de oxidación, es así que los aceites vegetales con mayor contenido de ácidos grasos poliinsaturados son más susceptibles a la oxidación estas reacciones son las principales razones del deterioro de los aceites y grasas comestibles durante el almacenamiento o tratamiento térmico como la fritura, produciendo olores a rancio, sabores desagradables y decoloración, disminuyendo la calidad e inocuidad nutricional debido a sus productos de degradación. La autooxidación es el fenómeno de oxidación más común por la reacción del oxígeno y los ácidos grasos insaturados a través de un mecanismo autocatalítico que consiste en una cadena de radicales libres que se forman durante la iniciación, propagación y terminación que podría ser repetida una vez iniciada el conjunto de reacciones (Languerre et al. 2007)

A fin de superar los problemas de oxidación de los aceites y grasas se vienen utilizando antioxidantes sintéticos como el hidroxitolueno butilado (BHT), hidroxianisol butilado (BHA) y butilhidroquinona terciaria (TBHQ) se añaden a los aceites para estabilizar la degradación oxidativa durante el almacenamiento y la fritura (Sikwese y Duodu 2007). Sin embargo desde el punto de vista de la seguridad nutricional, los antioxidantes sintéticos están sujetos a constantes cuestionamientos y restricciones dado a que se ha reportado que serían carcinogénicos (Ito et al. 1996). Por lo que se considera que los antioxidantes naturales son más seguros que los sintéticos (Farhoosh y Tavassoli 2010).

Los antioxidantes naturales son aquellas sustancias que se presentan o pueden ser extraídas de los tejidos de las plantas (Pokorny et al. 2005). Estos antioxidantes provienen principalmente de plantas, donde se hallan como compuestos fenólicos, y que han sido identificado como eliminadores de oxígeno o radicales libres activos (Zheng y Wang 2001). Los antioxidantes naturales tienen la capacidad de mejorar la calidad de los alimentos, la estabilidad y también pueden actuar como terminadores de las reacciones en cadena de radicales libres en sistemas biológicos proporcionando beneficios adicionales

para la salud de los consumidores. Se conoce que los compuestos fenólicos tienen el carácter de eliminar los radicales libres derivados del oxígeno mediante la donación de un átomo de hidrógeno o un electrón al radical libre (Kumaran y Karunakaran 2007).

Campos et al. (2006) reportaron que la mashua (*Tropaeolum tuberosum Ruiz & Pavón*) es una buena fuente de compuestos fenólicos responsables de la capacidad antioxidante, además que los tubérculos de coloración morada presentan valores más altos de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, pero más bajos en carotenoides. Chirinos et al. (2006) demostraron que la capacidad antioxidante se atribuye principalmente a cantidades altas de compuestos fenólicos que a los carotenoides. La mashua es un tubérculo andino, probablemente el cuarto cultivo de mayor importancia de la región después de la papa, olluco y oca. Su consumo se debe principalmente a la provisión de carbohidratos como fuente de energía. Grau et al. (2003) mencionan que el tubérculo contiene isotiocianatos, presentes como glucosinolatos, los cuales le confieren un sabor picante. Es por esto que en la presente investigación planteamos evaluar el uso de los compuestos fenólicos de la mashua como antioxidantes y ser aplicados en aceites vegetales, lo que representaría una alternativa frente al uso actual de los antioxidantes sintéticos.

Los objetivos de la siguiente investigación fueron:

- Obtener extractos antioxidantes de tres genotipos de mashua
- Evaluar el efecto de extractos antioxidantes de mashua en la oxidación del aceite de soya durante almacenamiento acelerado
- Evaluar el efecto de extractos antioxidantes de mashua en la estabilidad oxidativa del aceite de soya durante la fritura

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Estabilidad oxidativa del aceite

Debido a la composición de los aceites vegetales estos sufren deterioro oxidativo a temperaturas ambiente de almacenamiento y temperaturas altas durante la cocción y fritura de alimentos dando como resultado la generación de radicales libres, ocasionado finalmente el deterioro de la calidad. Sin embargo cada aceite vegetal se caracteriza por la estabilidad contra la oxidación, que dependen de la composición de ácidos grasos, en particular el grado de insaturación, y el contenido y composición de compuestos menores tales como polifenoles, tocoferoles, esteroides, hidrocarburos, carotenoides y trazas de metales (Casal et al. 2010).

La estabilidad oxidativa es un parámetro importante para la industria alimentaria. Esencialmente este parámetro se refiere a la resistencia de un aceite comestible hacia la oxidación y por lo general se determina midiendo periódicamente una propiedad de la muestra en relación con la oxidación, tales como el valor de peróxido o el valor de anisidina (Vieira y Pasquini 2013). La estabilidad oxidativa de los aceites a menudo se hacen más aparentes cuando los aceites se destinan a fritura, siguiendo rutas y mecanismos diferentes a los producidos a temperatura ambiente (Ziller 1996), ya que en los aceites para fritura la concentración de radicales libres aumenta más rápidamente que en los alimentos almacenados (Pokorny et al. 2004). Sin embargo freír en aceite es uno de los procedimientos más utilizados para la preparación y producción de alimentos. Sin embargo, la fritura en aceite produce compuestos de sabor tanto deseables como indeseables, y puede cambiar la estabilidad del sabor, color, textura y calidad nutricional de los alimentos fritos (Urbančič et al. 2014).

A fin de superar los problemas de estabilidad oxidativa de los aceites se vienen utilizando como aditivos alimentarios antioxidantes sintéticos, pero por problemas de seguridad existe una tendencia creciente de reemplazarlos por antioxidantes naturales que en general son más seguros para la salud (Iqbal y Bhanger 2007).



### **2.1.1 Oxidación del aceite**

La oxidación de los aceites es una serie compleja de reacciones que se producen durante el procesamiento, almacenamiento, transporte y la preparación de productos alimenticios. (Mohammadi et al. 2015). El proceso de oxidación más frecuente es la reacción espontánea del oxígeno atmosférico con los lípidos, conocida como “autooxidación”, formando en su fase inicial compuestos primarios (hidroperóxidos) que son relativamente inestables y se descomponen espontáneamente para formar compuestos secundarios (sustancias aromáticas) que son percibidas como sabores inadecuados, además provoca la pérdida de color debido a la reacción de los pigmentos con los radicales libres que se forman durante la oxidación de los aceites. La naturaleza de sabores inadecuado depende principalmente de la composición de ácidos grasos y el grado de oxidación producida (Pokorny et al. 2004).

#### **a. Compuestos primarios de oxidación**

La oxidación se inicia por la formación de hidroperóxidos, por lo cual estos son considerados compuestos primarios de oxidación (Graciani 2006), esta se debe fundamentalmente a la reacción espontánea del oxígeno atmosférico con los ácidos grasos insaturados vía un mecanismo autocatalítico, caracterizándose por la disminución del contenido de insaturación del aceite, debido a la sustracción de un átomo de hidrógeno por una especie reactiva de un doble enlace y la formación de radicales libres (Naz et al. 2005).

Una vía alternativa a la producción de radicales libres que también produce a la formación de hidroperóxidos es la ruta fotooxidativa, en este caso la oxidación de los lípidos o excitación del oxígeno se produce en presencia de la luz y un agente sensibilizante. La oxidación de los lípidos se caracteriza por la transferencia de un átomo de hidrógeno de la sustancia sensibilizante y un sustrato como un ácido graso poliinsaturado, produciendo radicales libres o iones radicales libres. Son estos compuestos los que desencadenan la autooxidación. La excitación del oxígeno que se encuentra en su estado de más baja energía es decir como triplete  $^3\text{O}_2$  y puede ser excitado por la luz al estado singulete en presencia de un agente sensibilizante. El oxígeno singulete reacciona con los lípidos mucho más rápido que el triplete, por lo que producen hidroperóxidos con pérdida de un doble enlace (Pokorny et al. 2005).

## **b. Compuestos secundarios de oxidación**

La iniciación secundaria se da por rotura homolítica de hidroperóxidos es una reacción de relativamente baja de energía y representa normalmente la principal reacción de iniciación de la oxidación de los aceites. La reacción esta catalizada frecuentemente por iones metálicos (Pokorny et al. 2005). Los compuestos secundarios formados por descomposición de hidroperóxidos son compuestos volátiles, monómeros oxidados, dímeros y polímeros. Los compuestos volátiles como los aldehídos, hidrocarburos, alcoholes y esterres son contribuyentes fundamentales a la modificación de las características organolépticas de los aceites debido a su detección olfativa. Los monómeros oxidados como el epoxi, hidroxilo y ceto derivados, son compuestos no volátiles, originados como consecuencias de las reacciones de terminación, procedentes de los radicales alcoxilo, peroxilo, constituyendo junto con los hidroperóxidos el grupo mayoritario de la degradación oxidativa a temperatura ambiente y moderada. Los dímeros son originados en la primera etapa de la polimerización a partir de los radicales acilo, peroxilo y alcoxilo con formación de dímeros no polares y a temperatura elevadas superiores a 150°C se forman dímeros oxidados de polaridad más elevada. La formación de polímeros se da por una excesiva oxidación dando lugar a una mezcla compleja de compuestos de muy diferente peso molecular y polaridad (Graciani 2006).

### **2.1.2 Mecanismos de autooxidación del aceite**

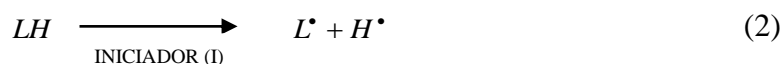
Una de la principales preocupaciones es la auto oxidación de los lípidos que ocurre en forma autocatalítica a través de radicales libres intermediarios que se inicia habitualmente por trazas de metales y peróxidos que se encuentran en los aceites. Los radicales libres son átomos, moléculas o iones con electrones desapareados que son altamente inestables y reactivos con otras moléculas. Dentro de ella el oxígeno crea especies reactivas de oxígeno (ROS), que incluyen radicales libres como el anión superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), radical peroxilo ( $HO_2$ ), radical hidroxilo (OH), radical lipídico (L) y otras especies como el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), oxígeno singulete ( $^1O_2$ ), hipoclorito (HOCl) entre otros (Carocho y Ferreira 2013).

El mecanismo en cadena de la autooxidación provocada por los radicales libres se desarrollan por tres etapas distintas: Iniciación, propagación y terminación (Sikwese y Duodu 2007).

- **Iniciación.** Esta etapa de la autooxidación es difícil de definir debido a la baja concentración de radicales y la probabilidad de que exista más de un mecanismo. La reacción de iniciación (1) implica la rotura hemolítica del hidrógeno del doble enlace de una cadena de ácido graso ( $LH$ ) por acción del oxígeno triplete  $^3O_2$  para la formación de hidroperóxidos ( $LOOH$ ). Es poco probable que la reacción se produce de forma espontánea con  $^3O_2$  debido a la muy alta energía de activación con los lípidos (Laguerre et al. 2007).



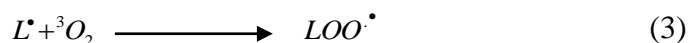
Un mecanismo de iniciación es la sustracción del átomo de hidrógeno ( $H^\bullet$ ) del ácido graso ( $LH$ ) por iniciadores ( $I$ ) físicos (calor, luz) o químicos (iones metálicos, radicales libres) produciendo radicales alquilo ( $L^\bullet$ ), especies químicas reactivas con un electrón no apareado, son productos intermedios altamente inestables de corta vida. El proceso de oxidación sigue siendo lento durante esta fase (Laguerre et al. 2007).



La producción de los primeros radicales libres necesarios para iniciar la reacción de propagación tiene que ser catalizadas. Se ha propuesto que la etapa de iniciación puede producirse por descomposición de hidroperóxidos mediante catálisis por metales o por exposición de la luz. Recientemente han propuesto que el oxígeno singulete actúan como sensibilizadores de los pigmentos tisulares como la clorofila y la mioglobina (Fenema 2000). Laguerre et al. (2007) señalaron que la oxidación de lípidos también se inicia por radicales hidroxilo ( $HO^\bullet$ ) y peroxilo ( $HOO^\bullet$ ), así como radicales lipídico alcoxilo ( $LO^\bullet$ ) y lipídico

peroxilo ( $LOO^\bullet$ ). Siendo los radicales hidroxilo ( $HO^\bullet$ ) los que tienen mayor velocidad de reacción con los lípidos.

- **Propagación.** Laguerre et al. (2007) mencionaron que el radical alquilo ( $L^\bullet$ ) formado durante la etapa de iniciación reacciona muy rápidamente con el oxígeno triplete  $^3O_2$  para generar diferentes especies de radicales incluyendo al radical lipídico peroxilo ( $LOO^\bullet$ ). La reacción (3) tiene muy baja energía de activación y una alta tasa de propagación de radical lipídico peroxilo ( $LOO^\bullet$ ) que llega a ser mucho más alta que el radical lipídico ( $L^\bullet$ ) contenido en todos los sistemas que contienen oxígeno (Pokorny et al. 2004).



En la reacción (4) se muestra que el radical lipídico peroxilo ( $LOO^\bullet$ ) extrae un átomo de hidrógeno de un ácido graso insaturado ( $L_2H$ ) para formar hidroperóxido ( $LOOH$ ) y otro radical lipídico ( $L_2^\bullet$ ) (Laguerre et al. 2007).



El consumo de oxígeno en esta etapa es muy alto, la concentración de hidroperóxidos ( $LOOH$ ) aumenta significativamente, las reacciones de descomposición ocurren a velocidades cada vez mayores, estas reacciones generan más radicales libres que los necesarios para la propagación de la reacción en cadena a velocidad constante y en consecuencia la reacción se torna autocatalítica (Braverman 1990). La formación de hidroperóxidos a partir de ácidos grasos insaturados generalmente va acompañada de la estabilización del estado del radical a través de reordenación del doble enlace (deslocalización electrónica) lo que da lugar a dienos y trienos conjugados (Laguerre et al. 2007).

- **Terminación.** El proceso de oxidación continúa con la transformación de hidroperóxidos en compuestos de oxidación secundaria no radicales. En esta reacción los radicales libres como los radical alquilo ( $L^\bullet$ ) y el radical lipídico

peroxilo ( $LOO^\bullet$ ) se combinan para formar moléculas con electrones apareados como se muestra en las reacciones (5), (6) y (7) (Pokorny et al. 2005).



Las reacciones de terminación son reacciones de baja energía, pero están limitadas por la baja concentración de radicales. El mecanismo de la descomposición de hidroperóxido implica la formación de compuestos volátiles como los hidrocarburos, aldehídos, alcoholes y cetonas volátiles y la formación de compuestos secundarios no volátiles como los aldehídos no volátiles, triacilglicerol oxidados y sus polímeros. El tipo de subproductos obtenidos después de la oxidación de ácidos grasos se determina por la composición del hidroperóxido. La reacción también puede terminar después de la formación de polímeros. Por otra parte, muchos antioxidantes pueden facilitar la terminación de la oxidación de la cadena radical (Laguerre et al. 2007).

### 2.1.3 Factores que influyen en la estabilidad oxidativa

La estabilidad oxidativa depende de diferentes factores que determinan la velocidad de las reacciones entre radicales y la posterior oxidación de los compuestos formados de baja estabilidad. Los factores se pueden dividir en dos grupos, como variables externas e internas del sustrato oxidable (Graciani 2006).

*Las variables externas del sustrato oxidable*, son los factores que hacen referencia a las condiciones externas del sustrato oxidable como la disponibilidad de oxígeno (Graciani 2006), el calentamiento, la irradiación (Pokorny et al. 2005) y contacto con materiales que son considerados como prooxidantes (Lawson 1999), provocando una aceleración de la cadena de iniciación y propagación de los procesos de oxidación y por tanto una disminución en la estabilidad de los aceites (Pokorny et al. 2005).

- **Disponibilidad de oxígeno.** La ausencia del oxígeno estabiliza la oxidación de los aceites, ya que el oxígeno es el reactivo imprescindible para propagar la reacción de oxidación. La acción del oxígeno está directamente relacionado con su concentración en el medio (Graciani 2006). Sin embargo el efecto de la concentración de oxígeno sobre la velocidad de oxidación se ve influenciado también por otros factores como la temperatura y el área superficial (Fenema 2000).

No obstante a partir de la cinética de absorción del oxígeno, se ha establecido la existencia de dos periodos, el primero denominado *Periodo de inducción (PI)*, en el que el consumo de oxígeno es muy lento, durante el cual tiene lugar la formación de los hidroperóxidos a través de las reacciones de propagación y el segundo periodo por un consumo brusco de oxígeno, en el que tiene lugar la formación de nuevos compuestos de terminación que conduce a la disminución de concentración de hidroperóxidos (Graciani 2006). Es importante señalar que el periodo de inducción es muy sensible a pequeñas concentraciones de componentes capaces de acortarlos como los prooxidantes, o alargarlos como los antioxidantes (Pokorny et al. 2005).

- **Calentamiento.** La temperatura es un factor que influye en la estabilidad oxidativa, ya que es el mecanismo implicado sobre la descomposición de hidroperóxido (Laguerre et al. 2007). Un aumento de temperatura origina un incremento en la velocidad de oxidación. La temperatura influye también en la relación entre la velocidad y presión parcial del oxígeno. A medida que aumenta la temperatura, disminuye la influencia de la presión parcial del oxígeno sobre la velocidad de reacción, por que disminuye la solubilidad parcial del oxígeno en los lípidos y el agua (Fenema 2000). La temperatura en presencia de oxígeno atmosférico determina no solo la velocidad de formación si no también su distribución (Graciani 2006). A temperatura ambiente es característico la conservación de los aceites, las reacciones de oxidación transcurren lentamente, la concentración de compuestos de degradación es baja y los compuestos mayoritarios son los hidroperóxidos y a partir de 130-140°C la formación de hidroperóxidos transcurre a velocidad elevada, originando compuestos volátiles y no volátiles (Graciani 2006).

Los aceites de fritura usados continuamente a altas temperaturas en presencia de oxígeno y agua de los alimentos sufren reacciones de oxidación térmica, polimerización e hidrólisis (Farhoosh y Pazhouhanmehr 2009), formando compuestos volátiles que se pierden durante la fritura, mientras que los compuestos no volátiles aumentan su concentración de manera constante. Los compuestos no volátiles como los compuestos monoméricos y poliméricos son a menudo de alto peso molecular y polaridad y provocan un aumento en la viscosidad, el oscurecimiento del aceite y un aumento de la formación de espuma y humo. Desde el punto de vista nutricional, los productos de degradación no volátiles son de particular importancia, ya que éstos pueden permanecer en el aceite (Urbančič et al. 2014). Por otro lado Lawson (1999) menciona otros factores que afectan la estabilidad oxidativa durante la fritura como la velocidad a la cual la grasa es absorbida por el alimento desde el sistema y reemplazada por grasa nueva, la cantidad de área superficial del aceite que se encuentra expuesta al oxígeno, la presencia de metales como el cobre y el latón que acelera la oxidación (pro oxidante), la presencia de antioxidantes a altas temperaturas que retardan la oxidación y la calidad de aceite de fritura.

- **La irradiación.** La irradiación incrementa la velocidad de iniciación de oxidación, dada la elevada energía de los cuantos de luz de las radiaciones (Pokorny et al. 2005). La acción de las radiaciones luminosas favorece la formación de radicales durante la etapa de iniciación que da lugar a la formación de radical alquilo ( $L^*$ ), como en la descomposición de los hidroperóxidos para originar el radical alcóxido ( $LO^*$ ). Es decir la presencia de radiaciones entre las cuales la exposición de la luz es la de mayor importancia en los aceites, ya que acelera el proceso de autooxidación (Graciani 2006).
- **Área superficial.** La velocidad de oxidación aumenta en proporción directa del área superficial del lípido expuesta al aire. Además a medida que aumenta el coeficiente de superficie-volumen, va disminuyendo al presión parcial del oxígeno en la velocidad de la reacción. En las emulsiones aceite en agua la velocidad de oxidación viene gobernada por al de difusión del oxígeno en la fase oleosa (Fenema 2000).

**Factores internos del sustrato oxidable**, son las características intrínsecas al propio sustrato, como el grado de insaturación, la presencia de componentes menores de actividad antioxidante o prooxidante capaces de modificar la velocidad de reacción oxidativa y otros componentes (Graciani 2006).

- **Grado de insaturación.** El grado de insaturación de los ácidos grasos influye en la estabilidad de la oxidación del aceite (Graciani 2006). Debido a la presencia de dobles enlaces, los ácidos grasos insaturados son químicamente más reactivos que los ácidos grasos saturados. Esta reactividad crece a medida que lo hace el número de dobles enlaces (Lawson 1999), por ello durante la oxidación de los aceites es más fácil de eliminar los átomos de hidrógeno de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) que los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) y saturados (AGS) (Carocho y Ferreira 2013).
- **Componentes antioxidantes y prooxidantes.** La acción de componentes como los antioxidantes y prooxidantes es capaces de modificar la estabilidad oxidativa. Los antioxidantes son compuestos capaces de interferir en el mecanismo de las reacciones en cadena de la autooxidación, evitando la entrada de nuevas moléculas lipídicas en el ciclo oxidativo y los prooxidantes potencian el desarrollo de la oxidación, la atención principal se centra en metales pesados que a concentraciones tan bajas pueden acortar el periodo de inducción (Graciani 2006).

Los aceites contienen antioxidantes naturales principalmente tocoferoles y polifenoles cuya eliminación provoca un rápido desarrollo de la oxidación. (Graciani 2006). Los metales de transición como el cobre, hierro y en menor grado manganeso y cobalto poseen dos o más estados de valencia y capacidad de oxidación - reducción, que afectan a la velocidad de autooxidación, como al tipo de compuestos volátiles formadas durante la rotura de los hidroperóxidos (Pokorny et al. 2004), estos se pueden encontrar en los aceites vegetales, en los que se incorporan de manera natural a través del suelo donde a crecido la planta oleaginosa, o bien debido a una contaminación por el equipo metálico que se usa en el procesamiento o almacenamiento (Graciani 2006).



- **Otros componentes.** La estabilidad a la oxidación depende también de la presencia de otros componentes menores presentes en los aceites como los ácidos grasos, pigmentos y fosfolípidos que se encuentran en cantidades significativas en los aceites crudos y vírgenes y son eliminados durante el proceso de refinación, durante las etapas de neutralización, decoloración y desgomado respectivamente. Debido al distinto comportamiento de estos compuestos respecto a la aceleración e inhibición del proceso oxidativo, es difícil predecir el cambio de estabilidad en los aceites crudos a los refinados que dependen fundamentalmente de la cantidad y tipo de compuestos eliminados en las distintas fases de la refinación y de su carácter antioxidante y prooxidante (Graciani 2006).

#### 2.1.4 Parámetros de estabilidad oxidativa

Se han venido realizando estudios sobre la estabilidad oxidativa de los aceites vegetales para medir el contenido de los productos de oxidación primarios y secundarios en el tiempo. La estabilidad oxidativa de aceites vegetales está en función de muchos parámetros entre ellos el índice de peróxidos, índice de acidez, compuestos polares, dienos y trienos conjugados que determinan con mayor frecuencia la calidad del aceite. Señalan también que la determinación de compuestos polares totales es uno de los métodos más confiables para evaluar las variaciones de calidad de los aceites durante el proceso de fritura (Farhoosh y Pazhouhanmehr 2009).

- **El índice de peróxidos.** Este muestra el grado de oxidación en un sustrato y mide la cantidad de hidroperóxidos totales como producto primario de la oxidación del aceite. Farhoosh y Pazhouhanmehr (2009) señalan que una disminución significativa del índice de peróxidos después de alcanzar valores máximos confirma que los peróxidos que se forman durante las primeras etapas de la oxidación son inestables y altamente susceptible a cambios que se producen en la formación de productos secundarios de oxidación. Vieira y Regitano (2001) señala que aunque el valor de índice de peróxido es una medida común de la oxidación de lípidos pero su uso se limita a las etapas iniciales de la oxidación.
- **El contenido de ácidos grasos libres.** Este podría ser causado por el aumento de la velocidad de hidrólisis cuando el agua se introduce en el sistema debido a la

fritura de papas (Che y Jaswir 2000). Los ácidos grasos que se liberan de las cadenas de triglicéridos se oxidan rápidamente, catalizan la oxidación de las grasas poliinsaturadas y activan sales de metales catalíticos. También a través de su actividad con la superficie pueden aumentar el contacto con los componentes oxidables de la comida promoviendo las interacciones lípido-proteína. Los niveles de ácidos grasos libres producidos durante la fritura son generalmente demasiado pequeñas para ser usadas para la supervisión de la calidad de los alimentos (Urbancic et al. 2014).

- **El contenido de compuestos polares.** Se considera que es el método más fiable para la evaluación de la estabilidad y la calidad de las grasas y aceites durante la fritura de los alimentos. Los compuestos polares se forman por acción del oxígeno atmosférico, contenido de agua del producto alimenticio y la alta temperatura a la que tiene lugar la fritura. Se componen de dímeros y polímeros formados a través de la polimerización térmica de los triglicéridos, productos monoméricos oxidados como mono- y diglicéridos y ácidos grasos libres formados a través de la escisión hidrolítica de los triglicéridos (Farhoosh y Tavassoli 2010).
- **Dienos y trienos conjugados.** Estos compuestos surgen tras el reordenamiento de los dobles enlaces del radical lipídico formado por acción de un radical libre iniciador; estos presentan una longitud de onda de máxima absorción. Los ácidos grasos con insaturación conjugada absorben en una región de 230 a 375 nm, con una absorción de 220-230 nm de dienos y 265-270 nm de trienos. (Vieira y Regitano 2001). Besbes et al. (2005) mencionaron que los dienos conjugados dependen principalmente de la etapa de oxidación primaria, mientras que trienos conjugados están relacionados con la presencia de algunos compuestos de oxidación secundaria, particularmente los que contienen un grupo funcional carbonilo, tales como aldehídos y cetonas.

Laguerre et al. (2007) señalaron que más del 90% de los hidroperóxidos formados durante la autooxidación tiene un sistema diénico conjugado resultante de la estabilización del estado radical. Todas las sustancias que contienen ácidos grasos poliinsaturados pueden ser utilizados como sustratos oxidables para este método ya que los dienos conjugados sólo se pueden formar a partir de ácidos grasos con al

menos dos dobles enlaces, por ejemplo de ácido linoleico. Vieira y Regitano (2001) mencionaron que la degradación de hidroperóxidos durante el calentamiento a 170°C puede promover la formación de productos secundarios de oxidación, que absorben 265-280 nm (aldehído cetónico), 280 nm ( $\alpha$ -dicetona), 282 nm ( $\alpha$ -cetoaldehído) y en 274 nm ( $\beta$ -dicetona).

## **2.2 Antioxidantes**

Watson y Preedy (2013) señalaron que el diccionario Westener define un antioxidante como una sustancia que inhibe la oxidación o reacciones iniciadas por el oxígeno, peróxidos o los radicales libres. En la industria alimentaria los antioxidantes se definen como compuestos naturales o sintéticos que impiden o retrasan los efectos deteriorantes de oxígeno en productos como grasas, aceites y alimentos. Una definición amplia de antioxidantes que incluye a todos los posibles mecanismos de acción es el siguiente: “Los antioxidantes son sustancias que a pequeñas concentración en comparación con la del sustrato oxidable protegen, previene o retardan el proceso oxidativo“

### **2.2.1 Antioxidantes sintéticos**

Los antioxidantes sintéticos se adicionan a los aceites y grasa para mantener su calidad durante el almacenamiento y fritura. Sin embargo, el uso de aditivos químicos ha planteado cuestiones relativas a la seguridad alimentaria y la toxicidad (Farhoosh y Tavassoli 2010).

Los antioxidantes sintéticos como el hidroxitolueno butilado (BHT), hidroxianisol butilado (BHA) y butilhidroquinona terciaria (TBHQ) se añaden a los aceites para estabilizar la degradación oxidativa durante el almacenamiento y la fritura (Sikwese y Duodu 2007). Sin embargo el BHT y BHA son muy eficaces durante el almacenamiento de aceites y grasas, pero son menos eficaces a temperaturas de fritura debido a su volatilidad (Urbančić et al. 2014). Reportan que el TBHQ es más eficaz en el control de las reacciones de oxidación durante la fritura (Crosa et al. 2014). Estos antioxidantes sólo tienen un modo de acción, que es a través de eliminación de radicales libres y no son capaces de quelar iones de metal (Tsao y Deng 2004). De acuerdo a las normas el uso de estos antioxidantes sintéticos están limitadas al 0.02% del contenido de aceite para suprimir el desarrollo de peróxidos durante el almacenamiento (Pokorny et al. 2005).

## 2.2.2 Antioxidantes naturales

Es difícil poder definir a los antioxidantes naturales pero en general son aquellas sustancias que se presentan o pueden ser extraídas de los tejidos de las plantas, microorganismos, hongos e incluso en los tejidos animales (Pokorny et al. 2005). Muchos compuestos antioxidantes de origen natural de fuentes vegetales se han identificado como eliminadores de oxígeno o radicales libres activos (Zheng y Wang, 2001) y se encuentran en forma de compuestos fenólicos (flavonoides, ácidos fenólicos, alcoholes, estilbenos, tocoferoles, tocotrienoles), ácido ascórbico y carotenoides (Laguerre et al. 2007).

Los antioxidantes naturales pueden tener funcionalidad en los aceites y agua tales como la solubilidad que son de interés para emulsiones en los sistemas alimentarios y beneficios en la salud, como antibacteriano, antiviral, antimutagénica, antialérgica, efectos anticancerígenos, actividad antiulcerosa entre otros (Moure et al. 2001).

## 2.2.3 Mecanismo de acción de los antioxidantes

Los antioxidantes pueden retardar o estabilizar la oxidación por dos mecanismo de acción, mediante la protección de los lípidos con antioxidantes preventivos estabilizando a los iniciadores de oxidación o por la estabilización de la fase de propagación con antioxidantes (Laguerre et al. 2007).

- **Mecanismo de acción de los antioxidantes preventivos.** Hay muchos mecanismos de los antioxidantes preventivos en estabilizar la formación de radicales libres debido a la diversidad de los iniciadores de la oxidación (Laguerre et al. 2007). Pueden estabilizarse mediante el uso de compuestos que descompongan los hidroperóxidos actuando como desactivadores del oxígeno singulete y quelantes de los metales (Fenema 2000). La desactivación del oxígeno singulete  $^1\text{O}_2$  puede darse por carotenoides, xantofilas, tocoferoles y tioles (Pokorni et al. 2005).

Los quelantes de metales consiguen ejercer un potente efecto estabilizante de la oxidación a través del bloqueo de iones metálicos prooxidantes, lo que limita la formación de iniciadores de la cadena al prevenir la homólisis de hidroperóxidos

inducida por metales. Existen muchos compuestos quelantes presentes en los alimentos, especialmente los vegetales (Pokorni et al. 2005). Estos quelantes de metales pueden ser proteínas, polifosfatos, ácido cítricos, además antioxidantes como ácidos fenólicos y flavonoides que también son conocidos por su capacidad de transición de quelación de metal (Laguerre et al. 2007).

- **Mecanismo de acción de los antioxidantes de la reacción en cadena (1) y (2).** Los antioxidantes  $AH$  atrapan los radicales libres ( $LOO^{\bullet}$ ,  $LO^{\bullet}$ ) estabilizando la propagación oxidativa, formando un radical antioxidante  $A^{\bullet}$  de reactividad tan baja que impide la reacción posterior con los lípidos (Pokorni et al. 2005).



Esto antioxidantes implica principalmente a los compuestos fenoles mono- o poli-hidroxiados (tocoferoles, tocotrienoles, flavonoides, ácidos fenólicos y alcoholes, estilbenos, etc) con sustituciones diferentes en uno o varios de sus anillos aromáticos. Desde un punto de vista cinético los antioxidantes inducen una fase de latencia durante el cual el sustrato no se oxida sustancialmente, esta fase continúa hasta que el antioxidante se consume completamente una vez que el antioxidante ha desaparecido, la tasa de peroxidación aumenta bruscamente hasta llegar a la tasa de oxidación sin inhibiciones. Por el contrario los antioxidantes estabilizantes reducen la tasa de peroxidación sin inducir una fase de latencia. Los antioxidantes naturales que estabilizan la oxidación de lípidos son los tocoferoles, también parecen ser capaces de estabilizar la formación de peroxiradicales la vitamina C y polifenoles, pero su naturaleza hidrófila y escasa naturaleza lipófila parecen obstaculizar todas las reacciones de estabilización de la oxidación lipídica (Laguerre et al. 2007).

#### 2.2.4 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son una clase de compuestos naturales presentes en todas las plantas y se caracteriza por la presencia de uno o varios anillos bencénicos con una o más funcionalidades hidroxilo (Watson et al. 2013), constituyen un amplio grupo de sustancias

químicas, considerados metabolitos secundarios de las plantas con diferentes estructuras químicas y actividad (Martínez et al. 2000). Se han reportado más de 8.000 estructuras fenólicas dispersos por todas la plantas (Oroian y Escriche 2015).

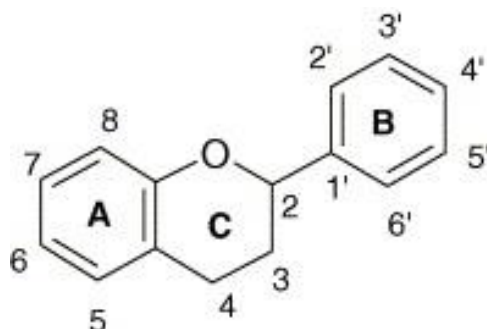
Los compuestos fenólicos vegetales constituyen uno de los principales grupos de compuestos que actúan como antioxidantes preventivos o terminadores de radicales libres (Kumaran y Karunakaran 2007), debido a la capacidad de sus grupos hidroxilos de captar radicales libres tienen la capacidad de retardar la degradación oxidativa de los lípidos y mejorando la calidad y el valor nutricional de los alimentos (Amarowicz et al. 2004). Además los compuestos fenólicos desempeñan un papel importante en el crecimiento y reproducción, proporcionando protección contra los patógenos y depredadores, además contribuyen en el color y las características sensoriales de las frutas y hortalizas (Balasundram et al. 2006).

### **2.2.5 Estructura química y clasificación de los compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos en su estructura química poseen un anillo aromático (benceno) que lleva uno o más grupos hidroxilo y sus estructuras pueden variar desde una molécula fenólica sencilla como los ácidos fenólicos a un polímero complejo de alto peso molecular como los taninos (Balasundram et al. 2006). Estos compuestos presentes en la naturaleza se conjugan con azúcares, ácidos orgánicos entre otros (Watson et al. 2013). Los azúcares asociados a los polifenoles pueden ser monosacáridos, disacáridos o incluso polisacáridos, entre ellos con más frecuencia la glucosa, galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa, y ácidos glucurónico y galacturónico. También pueden encontrarse unidos a ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas, lípidos (Martínez et al. 2000). Por la diversidad estructural de los compuestos fenólicos que se producen en la naturaleza se puede dividir en dos grupos principales como flavonoides y no flavonoides (Watson et al. 2013).

- **Los flavonoides.** Es el mayor grupo de los compuestos fenólicos vegetales, encontrándose más de 4000 compuestos fenólicos naturales, son compuestos de bajo peso molecular que suelen presentarse unida a las moléculas de azúcar (King y Young 1999). La figura (1) muestra la estructura química del flavonoides, consta de quince átomos de carbono con una configuración C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Su estructura básica (flaván) consta de dos anillos aromáticos (benceno) A y B unidas un puente

de tres carbonos (Balasundram et al. 2006) que forman un anillo heterocíclico oxigenado (anillos C) (Watson et al. 2013).



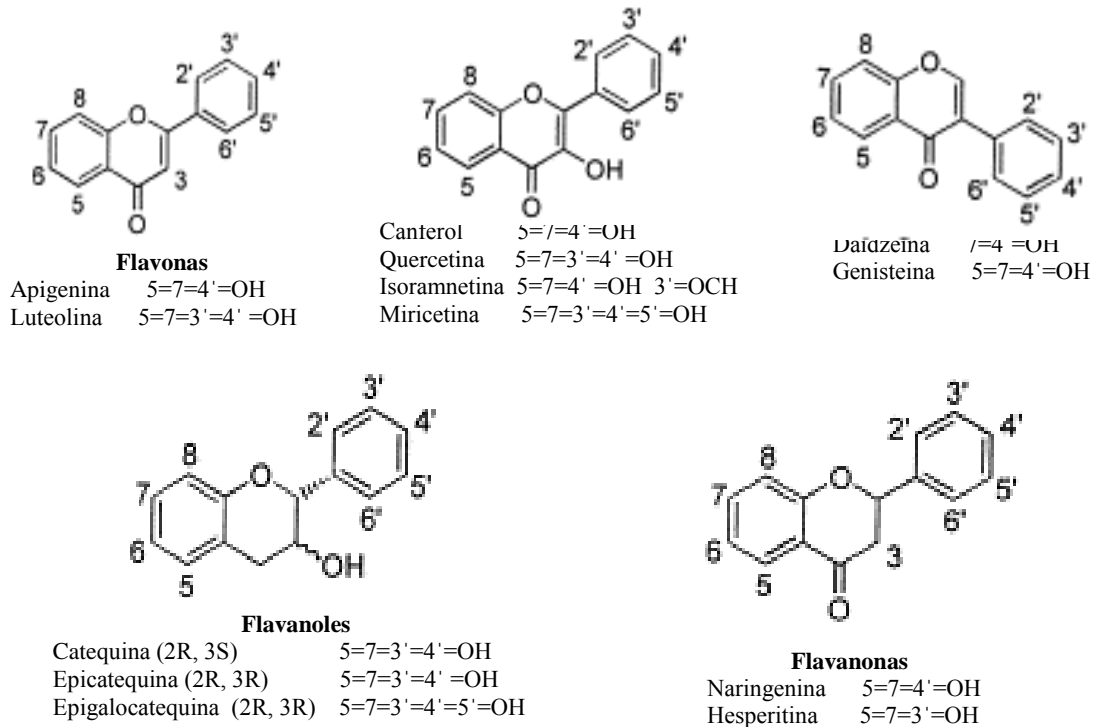
**Figura 1: Estructura química de un flavonoide**

Se produce principalmente en las hojas y plantas como agliconas y glucósidos, en los que uno o más grupos de azúcar se une a grupos fenólicos por un enlace glicosídico. La glucosa es el azúcar más común, también la galactosa y ramnosa y se encuentran frecuentemente unidas a los flavonoides (Oroian y Escriche 2015).

En función a las variaciones en las formas de sustitución al anillo heterocíclico C, se puede diferenciar varias clases de flavonoides, como los flavonoles, flavonas, flavanonas, flavanoles (flavan 3-oles), flavanonoles, isoflavonas y antocianidinas (Balasundram et al. 2006). King y Young (1999) agrupa a los flavonoides por el color en antoxantinas y antocianinas.

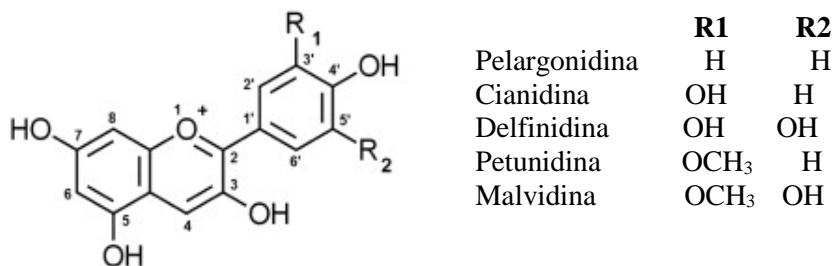
**Las antoxantinas**, Agrupa a los flavonoles, flavonas, flavanonas, flavanoles (catequinas) y las isoflavonas, estas son incoloros o moléculas de color blanco a amarillo (King y Young 1999) de los cuales los principales son las flavonas y los flavonoles y tienen una diversidad estructural, como se muestra en la figura (2) (Balasundram et al. 2006).

**Los flavonoles** se identifican por la ubicación del grupo de alcohol en el anillo C, siendo los principales la quercetina, miricetina, isoramnetina y camferol (Oroian y Escriche 2015).



**Figura 2: Estructura de las principales clases de antoxantinas**

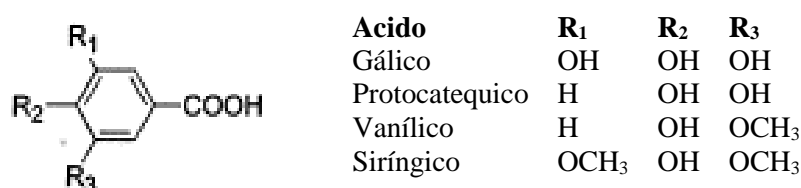
**Las antocianinas**, son compuestos naturales responsables de la pigmentación rojo, azul, púrpura y negro de los vegetales. Su estructura está formada por una aglicona denominada antocianidina y restos de azúcar como glucosa, ramnosa, galactosa, xilosa o arabinosa, estas son solubles en agua y susceptibles a la oxidación debido a que son deficientes en electrones. Las antocianinas (Figura 3) se diferencian de acuerdo con el número y posición de los grupos hidroxilo y el número de azúcares unidos a la molécula. Se han identificado más de 600 antocianinas, sin embargo solo seis estructuras de antocianidinas son comunes en las plantas superiores, clasificadas como cianidina, pelargonidina, delphinidina, petunidina y malvidina (Guo y Xia, 2013).



**Figura 3: Estructuras de antocianidinas**

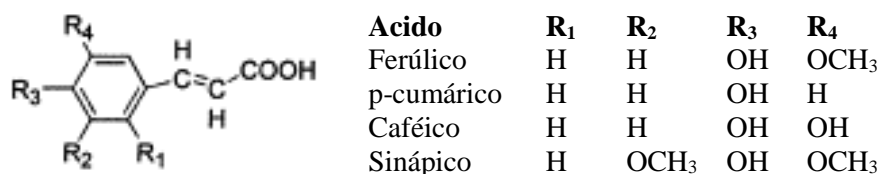


- **No flavonoides.** Entre los compuestos no flavonoides se tiene a los ácidos fenólicos y taninos (King y Young 1999). Los ácidos fenólicos distinguen dos subgrupos, los ácidos hidroxibenzoico e hidroxicinámicos. Dentro de la estructura de los ácidos hidroxibenzoico (Figura 4) se agrupan el p-hidroxibenzoico, protocatequico, gálico, vanílico y sirínico que en común tienen una estructura C6 -C1 (Balasundram et al. 2006). Siendo uno de los principales es el ácido gálico (King y Young 1999).



**Figura 4: Clasificación de estructuras de ácidos hidroxibenzoico**

Los ácidos hidroxicinámicos (Figura 5) son compuestos aromáticos con una cadena lateral de tres carbonos (C6 -C3), dentro de su estructura encontramos al ácido cafeico, ferúlico, p-cumárico y sinápico (Balasundram et al. 2006), entre ellos los principales ácidos dietéticos son el cafeico y ferúlico y son sensibles al calor (King y Young, 1999).



**Figura 5: Clasificación de estructuras de ácidos hidroxicinámicos**

Los taninos son compuestos de alto peso molecular químicamente se dividen en dos grupos como condensados e hidrolizables. Los taninos condensados son polímeros de catequinas o epicatequinas y se encuentran principalmente en frutas, granos y legumbres (King y Young 1999). Los taninos hidrolizables son polímeros de ácido gálico o elágico y su estructura es más compleja (Watson et al. 2013).

## 2.2.6 Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos presentan actividad antioxidante que depende de su estructura química, el número y las posiciones de los grupos hidroxilo, la naturaleza de las sustituciones en los anillos aromáticos (Balasundram et al. 2006) y principalmente sus propiedades redox, que les permiten actuar como agentes reductores o donadores de hidrógeno (Amarowicz et al. 2004) y captadores del oxígeno singulete, por lo que existen grandes diferencias en la efectividad como antioxidantes entre los distintos grupos de compuestos. Los compuestos fenólicos pueden actuar como antioxidantes mediante dos mecanismos principales, como captadores de radicales libres y quelantes metálicos (Rice-Evans et al. 1997).

*Como captadores de radicales libres*, los compuestos fenólicos pueden actuar como agentes reductores donando un electrón o hidrógeno al electrón desapareado del radical libre deteniendo de esta manera la iniciación de las reacciones en cadena y rompiendo su propagación en las que están implicados los radicales libres, de ahí la altísima actividad de captación de radicales libres de algunas sustancias como los flavonoides y ácidos fenólicos (Pokorny et al. 2005). Rice – Evans et al. (1996) mencionaron que las características estructurales que determinan la capacidad de los compuestos fenólicos para captar radicales son:

- El grado de hidroxilación y la posición del grupo -OH en el anillo B, en particular en presencia de estructura orto (3', 4') en el anillo B, confiere una mayor actividad por lo tanto mayor estabilidad a la forma radical y participa en la deslocalización de los electrones.
- La presencia de dos grupos hidroxilo en posición meta 3- y 5-OH con función 4-oxo en los anillo A y C son necesarios para ejercer el máximo potencial antioxidante.
- Un doble enlace entre C2 y C3 en conjugación con la función 4-oxo del anillo C, mejora la capacidad de captación del radical libre y está relacionado a la deslocalización del electrón en el núcleo aromático y estabilización del radical fenoxilo.

- **En los flavonoides.** La relación estructura-actividad es más complicada que en los ácidos fenólicos como los hidroxibenzoico y hidroxicinámicos debido a la complejidad de las moléculas de flavonoides. Algunas de las características estructurales y la naturaleza de sustituciones en los anillos B y C determinan la actividad antioxidante de los flavonoides (Balasundram et al. 2006) en la captación de radicales libres incluyendo aniones superóxidos, radicales peróxido lipídico y radicales hidroxilo. Los flavonoides que poseen grupos hidroxilo actúan como captadores de radicales libres y un mayor número de radicales hidroxilo en el anillo B, aumenta la actividad antioxidante. Los grupos hidroxilo en el anillo B son los principales puntos activos en la interrupción de la cadena de oxidación (Pokorny et al. 2005).
- **En los ácidos fenólicos.** La actividad antioxidante depende de las posiciones de los grupos hidroxilo y el grado de hidroxilación en relación con el grupo funcional carboxilo. Los ácidos benzoicos monohidroxilo no muestran actividad antioxidante en posición *orto* en -OH o *para* en -COOH, aunque no sucede lo mismo en los ácidos *m*-hidroxibenzoico. Los ácidos hidroxicinámico muestran mayor actividad antioxidante en comparación con los ácidos hidroxibenzoico. La alta actividad de los ácidos hidroxicinámico podría deberse al grupo  $\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$ , garantizando mayor capacidad para la donación de H y estabilización del radical que el grupo -COOH en los ácidos hidroxibenzoico (Rice-Evans et al. 1996).

**Como quelantes de metales,** la propiedad de quelar metales, particularmente hierro (Fe) y cobre (Cu) demuestra el rol de los compuestos fenólicos como antioxidantes preventivos inhiben las reacciones químicas que catalizan estos metales, evitando de esta manera la formación de radicales libres (Cadenas 2001; citado por Ríos 2004). Los quelantes de metales no eliminan los metales, solo bloquean orbitales y reducen el potencial redox, evitando así la oxidación de los mismos. Además forman complejos con los metales, evitando su acción como promotores de la oxidación (Pokorny et al. 2005).

### **2.2.7 Factores que determinan la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos**

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos no solo depende de las características estructurales (Pokorny et al. 2005) sino también de muchos otros factores como la temperatura, concentración del antioxidante, polaridad del antioxidante, estado físico del sistema y de la presencia de numerosos microcompuestos que pueden actuar como prooxidantes o sinergistas (Laguerre 2007).

La eficacia o factor de estabilidad del antioxidante aumenta con su concentración de compuestos fenólicos (Pokorny *et al.* 2005), pero es posible que los efectos prooxidantes pueden aparecer a determinadas concentraciones (Cirico y Omaye 2006). La complejidad de la mezcla de compuestos fenólicos y el grado de pureza obtenida durante la extracción y fraccionamiento de los extractos crudos presentes en materiales vegetales pueden ocasionar efectos prooxidantes (Chirinos et al. 2008b).

En aceites los antioxidantes hidrofílicos están orientados a la interfase aceite-aire proporcionando una protección óptima contra el radical oxígeno, mientras que los antioxidantes hidrofóbicos se disuelven en la fase lipídica homogénea. Los antioxidantes hidrofóbicos se orientan a la interfase aceite-agua de las emulsiones en la cual estos antioxidantes son más efectivos (Pokorny et al. 2005). Así mismo Rice-Evans et al. (1996) menciona que la eficacia antioxidante varía en función a su solubilidad relativa en fase acuosa o lipofílica que afecta a la accesibilidad a los radicales peroxi y la volatilidad a su persistencia a lo largo del almacenamiento o tratamiento térmico. Así también la unión de azúcares hace a los compuestos fenólicos más hidrosolubles pero disminuye su actividad antioxidante. Crosa et al. (2014) mencionaron la baja volatilidad del antioxidante natural en el aceite a temperaturas entre 180 ° C y 220 ° C.

El comportamiento antioxidante en aceites ricos en lípidos es dependiente del sustrato, así los ácidos grasos libres disminuyen la estabilidad oxidativa. Otros microcomponentes lipídicos tales como los alcoholes grasos y los mono- y diacilgliceroles disminuyen la eficacia de los antioxidantes fenólicos (Pokorny et al. 2005).

En la estabilidad de los aceites para frituras es más importante la composición de ácidos grasos que la presencia de antioxidantes, en comparación con la oxidación a bajas temperaturas, donde el tipo de antioxidante puede ser en ocasiones más importante que la composición de los ácidos grasos. Así también la variación de la temperatura puede hacer cambiar la acción de algunos antioxidantes y en consecuencia su efectividad (Pokorny et al. 2005).

### **2.2.8 Medida de la actividad antioxidante**

Se ha desarrollado muchos métodos en los que se mide la actividad antioxidante a través de la captación de radicales libres sintéticos en solventes orgánicos polares a temperatura ambiente. Uno de los radicales usados son del tipo 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-ácido sulfónico) (ABTS) (Pokorny et al. 2005).

Este método consiste en la reacción entre el ABTS y persulfato potásico formando un radical catiónico  $ABTS^{•+}$ , presentando una coloración verde-azulada relativamente estable que se mide a 734 nm. La adición de un antioxidante estabiliza el radical catión coloreado  $ABTS^{•+}$  y es medida por la decoloración del catión radical  $ABTS^{•+}$  determinada en función de la concentración del antioxidante y el tiempo de reacción, calculado en relación a la reactividad de Trolox como estándar, en las mismas condiciones. El método es aplicable a estudio de antioxidantes tanto solubles en agua y solubles en lípidos (Re 1999).

## **2.3 Mashua**

### **2.3.1 Generalidades**

La mashua (*Tropaeolum tuberosum Ruiz & Pavón*) es un tubérculo andino cultivado durante siglos en Perú, Bolivia, Ecuador, Venezuela y Colombia entre los 2400 hasta los 4300 msnm (Grau et al. 2003) y desde hace algunas décadas se cultiva también en algunas regiones de Nueva Zelanda y Canadá. La mashua es conocida también como “añu”, “isaño” o “cubio”, es una planta herbácea perenne originaria de la región andina, donde también fue domesticada. Las evidencias arqueológicas sugieren que sus tubérculos ya eran consumidos desde hace más de 7500 años (Manrique et al. 2013).



**Figura 6: Variedades de mashua (lamina CIP)**

Las mayores áreas de siembra se encuentran en Perú y Bolivia. Aunque el área de siembra de la mashua es mucho menor al de las otras tuberosas andinas, su cultivo no deja de ser importante, pues forma parte de la seguridad alimentaria de miles de familias campesinas en los Andes a través del autoconsumo (Manrique et al. 2013). Además contribuye a la diversidad de tubérculos que se cultivan en los Andes, debido probablemente a su estabilidad de producción en ambientes heterogéneos de la región, aspecto que puede haber favorecido a la conservación de varios cultivares (Grau et al. 2003).

Grau et al. (2003), señalaron que el Perú es el país con mayor superficie de producción de mashua, que supera a las 7.000 ha. Las estadísticas nacionales del Perú indican que la mashua tiene un rendimiento promedio de 4-7 t/ha. Los departamentos donde se cultivan en el Perú son: Cajamarca, Cerro de Pazco, Ancash, Lima, Junín, Huancavelica, Ayacucho, Apurímac, Cuzco, Arequipa, Puno y Tacna; encontrándose con mayor frecuencia en el centro y sur del Perú (Estadísticas agropecuarias, 1992; citado por Ríos 2004). En el Centro Internacional de la Papa (CIP) se conservan 113 accesiones de mashua, colectadas en diferentes comunidades campesinas de Perú, Bolivia y Argentina (Manrique et al. 2013).

### 2.3.2 Clasificación taxonómica

Según la ubicación taxonómica de la mashua según Robles (1981) y Font (1982), es la siguiente:

Division	: Espermatofita
Subdivision	: Angiopermas
Clase	: Dicotiledoneas
Su Clase	: Archicalmideas
Orden	: Geraniales
Sub orden	: Geraniínea
Familia	: Tropaeolaceae
Género	: <i>Tropaeolum</i>
Especie	: <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavon

### 2.3.3 Características agronómicas y morfológica

La mashua es una especie rústica, que puede crecer bien a temperaturas bajas y en suelos pobres, sin necesidad de fertilizantes. Además, es resistente a nematodos, insectos y varias plagas, como el gorgojo de la papa. Por esta razón, en los Andes se siembra habitualmente como cerco perimétrico de protección de otros cultivos (Manrique et al. 2013).

El periodo vegetativo de la mashua varía según los ecotipos y pueden ser de 155 a 280 días (6 – 8 meses), lo que permite dos cosechas por año (Sperling et al. 1990). Para la siembra se utilizan entre 900 a 1 300 kg de semilla por hectárea; se debe esperar a que las lluvias se hayan establecido, lo que ocurre entre octubre y principios de noviembre. Las cosechas demuestran que se pueden obtener rendimientos entre 12 a 15 t/ha de tubérculos frescos, es decir más de 4 toneladas de materia seca (Tapia y Fries 2007).

La mashua es una planta herbácea perenne, tendida o trepadora, que ocasionalmente alcanza de 2 a más metros de altura (Grau et al. 2003). El tallo es largo, solitario, axial, de 3 a 5 mm de diámetro, pueden variar de color verde a púrpura grisáceo con diferentes grados de pigmentación, por lo general muy ramificados (Figura 7.). La forma de la hoja es ovalada, la cara superior es verde mate y la cara inferior de un verde claro. Puede ser de

tres, cuatro o cinco lóbulos (Tapia y Fries 2007), miden de 4-6 cm de longitud por 5-7 cm de ancho, las láminas son mayores en las plantas. Las flores son solitarias de diferentes colores que van de anaranjado a rojizo, el número de estambres es variable puede ser de 8 a 13 estambres. El tiempo de duración de la flor cubierta varía entre 9-15 días. El fruto es un esquizocarpo, el cual produce abundante semilla botánica (Zambrano 2004).

Los tubérculos de la mashua presentan una marcada diversidad en la morfología y color, que varía desde el crema y el violeta oscuro (Chirinos et al. 2008a), pasando por amarillo, naranja, purpura y café (Zambrano 2004). Las formas que presentan son de forma cónica o elipsoidal (Tapia & Fries, 2007), Poseen ojos que son yemas que le da apariencia de surcos, el tamaño varía de 5 a 15 cm de largo y 3 a 6 cm de ancho (Zambrano 2004).

Los tubérculos funcionan como un órgano de reserva y de almacenamiento de una gama de macromoléculas, principalmente proteínas y almidón. A raíz de algunas señales ambientales específicas que incluyen fotoperiodo corto (días menores a 13 horas luz) acompañadas de temperatura bajas que inducen y fomentan la tuberización. También señala que cuando los tubérculos son inmaduros el porcentaje de materia seca es aproximadamente el mismo sin importar el tamaño del tubérculo (Smitt 1997).

#### **2.3.4 Composición química y valor nutricional**

Los tubérculos de la mashua tienen un alto valor nutritivo. Los sólidos pueden componer proteínas, carbohidratos, fibra, ácido ascórbico (vitamina C), calorías (Manrique et al. 2013), calcio, fósforo, hierro y carotenos (Navas et al., 1993; citados por Pérez León 2005). La principal contribución nutricional que proporciona su elevado valor energético es el contenido de carbohidratos, particularmente almidón y también de azúcar, el cual supera en casi seis veces a la concentración de proteína (Grau et al. 2003). En la Cuadro 1 se muestra la composición química de la mashua. El contenido de materia seca es muy variable, encontrándose en un rango de 7,20 a 19,70%, siendo importante señalar que el grado de madurez es uno de los factores que determina el contenido de materia seca de los tubérculos, además se atribuye a los factores de variedad, clima, prácticas de cultivo, duración de la temporada de cultivo, condiciones del suelo, incidencia de plagas y enfermedades (Espín 2001). Estos factores están relacionados con la tuberización de las plantas, lo que condiciona el contenido de materia seca.



**Cuadro 1: Composición química de la mashua expresado en base seca**

<b>Componente</b>	<b>Rango</b>
Humedad (%)*	79,2-93,8
Proteína (%)	9,17
Carbohidratos (%)	75,40
Fibra (%)	5,86
Cenizas (%)	4,81
Extracto etereo (%)	4,61
Calcio (%)	0,006
Hierro (ppm)	42
Fósforo (%)	0,32
Magnesio (%)	0,11
Sodio (%)	0,044
Almidón g/100g mf (%)	46,92
Azúcar total (%)	42,81
Energía Kcal/100g	440,00
Vit C mg/100 g materia fresca	77,37

Fuente: \*Barrionuevo (1975); citado por Grau et al. (2003)

Espín (2001)

También señala que cuando los tubérculos son inmaduros el porcentaje de materia seca es aproximadamente el mismo sin importar el tamaño del tubérculo. No obstante en la maduración ocurre grandes cambios en los porcentajes de materia seca, relacionados con el tamaño del tubérculo (Smitt 1997), aquellos que son más grandes poseen mayor porcentaje de materia seca, mientras que los más pequeños tienen un menor porcentaje (mayor humedad), lo que explica a variabilidad del contenido de materia seca en los tubérculos de mashua (Ríos 2004)

### **2.3.5 Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de la mashua**

Los tubérculos de mashua son una fuente importante de fitoquímicos antioxidantes por el alto contenido de compuestos fenólicos (Campos et al. 2006), conteniendo restos de ácido gálico, galocatequina, epigalocatequina y procianidinas B2, epicatequina, ácido *p*-cumárico, ácido *o*-cumárico, ácido cinámico, ácido protocatéquico, rutina y quercetina (Chirinos et al. 2008a).

Los tubérculos de mashua contiene fenólicos totales en un rango de 56.3 a 323 mg de ácido gálico/100 g materia fresca con una capacidad antioxidante y 9.2 a 51.8  $\mu$ mol Trolox equivalente/g de materia fresca (Chirinos et al. 2006; Chirinos et al. 2007). Chirinos et al.

2006 mencionaron que la capacidad antioxidante se debe principalmente al contenido de antocianinas. Chirinos et al. (2007) optimizaron el procesos de extracción de antioxidantes fenólicos de tubérculos de mashua, obteniendo mayor cantidad de flavanoles con una mezclas de disolventes (metanol /acetona/agua: 45/45/10) acidificada con 0,1% de HCl. Chirinos et al. 2008b mostraron contenido de flavonoides totales, antocianinas totales, fenólicos totales y capacidad antioxidante (Cuadro 2), en extractos crudos de mashua(CME) y extractos purificados (PME) utilizando cartucho Sep-pak C-18. Aumentando considerablemente en los extractos purificado (PME), estos aumentos de estas pueden atribuirse en parte a la eliminación de componentes solubles en agua como los azúcares, ácido ascórbico, aminoácidos.

**Cuadro 2: Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de la mashua**

<b>Componente</b>	<b>Extracto crudo de mashua (CME)</b>	<b>Extracto purificado de mashua (PME)</b>
Flavonoides totales (mg CE/g MS)	1.8-7.8	22.3-112
Antocianinas totales (mg CGE/g MS)	11.4-13.6	165-187
Fenólicos totales (mg GAE/g MS)	10.9-57.4	209-728
Capacidad antioxidante ( $\mu$ mol TE/g MS)	165-601	4147-7801

FUENTE: Chirinos et al. (2008)

Chirinos et al. (2008a) señalaron que el fraccionamiento con acetato de etilo y agua a partir de extracto purificado de mashua (PME), muestran carácter hidrófobo y tienen afinidad con flavonoles, flavan 3-oles, ácidos fenólicos. Chirinos et al. (2008b) mencionaron que los extractos fenólicos de mashua por su propiedades fitoquímicos son capaces de eliminar los radicales peroxilo (ROO) y quelar iones metálicos *in vitro*, reduciendo el daño oxidativo en las estructuras biológicas ricos en ácidos grasos poliinsaturados, además podrían ser protectores de la oxidación de alimentos.

### 2.3.6 Usos tradicionales

Los tubérculos de mashua por sus características de sabor, no se consumen en estado fresco, más bien se consumen cocidos u horneados luego de haber sido soleados para que adquieran un sabor dulce. Los tubérculos se exponen directamente a la luz del sol para aumentar el dulzor y reducir niveles del cianuro antes de cocinar. Al cocinar hace que los

isotiocianatos se hidrolizan, eliminando el cianuro y mejorando el gusto (Grau et al. 2003). 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 folclórica de los Andes (Manrique et al. 2013).

La mashua en el altiplano generalmente es consumida en forma de “tayacha”, que son tubérculos de mashua cocidos y luego congelados por uno o dos días para luego ser consumidos con miel y las hojas suaves son consumidas hervidas como vegetales verdes al igual que las flores. Tradicionalmente la mashua es considerada anafrodisíaco y se le atribuyen propiedades medicinales especialmente sobre enfermedades en los riñones, vejiga, hígado, afecciones nerviosas (PROINPA 2003), alivian la próstata, los desórdenes urinarios, dolencias de la piel (Grau et al. 2003). En general la mashua es considerada un producto de importancia en las regiones de producción y se le atribuyen también propiedades bactericidas e insecticidas (PROINPA 2003).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Lugar**

El trabajo de investigación se realizó en las instalaciones del Instituto de Biotecnología (Área de Biotecnología Industrial) de la Universidad Nacional Agraria la Molina.

#### **3.2 Materiales**

##### **3.2.1 Materia prima**

Los genotipos de mashua (*tropaeolum tuberosum Ruiz & Pavon*) fueron proporcionados por el Centro Internacional de la papa (CIP), ARB 5241, DP 0224 y ARV 5366. Los tres genotipos fueron recepcionados, lavados, congelados y liofilizados. El congelado se realizó en un precongelador Labconco a  $-50^{\circ}\text{C}$  durante 2 h el liofilizado se realizó a una presión de  $133 \times 10^{-3}$  mBar y una temperatura en el condensador de  $-45^{\circ}\text{C}$ . La mashua liofilizada tuvo una humedad promedio entre 4-5%. Luego se colocó en bolsas de polietileno y se mantuvieron congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  para las pruebas correspondientes.

##### **3.2.2 Materiales de laboratorio**

- Buretas 50 ml.
- Cartuchos Sep Pack-C<sub>18</sub>.
- Cronómetro.
- Fiolas de 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, y 1000 ml.
- Matraces de 250, 500 y 1000 ml.
- Matraz esmerilado 250 ml.
- Microbureta 5 ml.
- Micropipetas de 5-50, 20-200 y 100-1000  $\mu\text{l}$  con tips.
- Parafilm.

- Peras de decantación 120 ml.
- Pipetas volumétricas de 5, 10ml.
- Placas petri.
- Probetas de 10, 50 y 500 ml.
- Soportes.
- Tubos de ensayo de 5, 7 ml.
- Tubos falcón de 15 y 50 ml.
- Vasos de precipitado de 25, 50, 100, 250 y 500 ml.

### **3.2.3 Equipos de laboratorio**

- Agitador magnético Ceramic midi Polimax 2010 Ika.
- Balanza analítica Ohaus Adventurer.
- Balanza electrónica de precisión Ohaus Scout II.
- Bomba de vacío marca General Electric.
- Centrífuga Heltich Zentrifugen.
- Congeladora Friggidaire.
- Espectrofotómetro Génesis 5. Milton Roy.
- Estufa para la determinación del a humedad marca Memmert.
- Potenciómetro 410 Aplus Termoorion.
- Rotavapor Laborota 4000 Heidolph.
- Sistema de liofilización Freezone 4.5 Labconco.
- Ultrasonido Ultrasonic Cleaners 2510 Branson.
- Vortex Mixer Wizard & Classic Velp.

### **3.2.4 Reactivos**

- 2,2'azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate). ABTS (Sigma Aldrich).
- Acetato de etilo (Sigma Aldrich).
- Acetona (Fisher Scientific).
- Acido acético glacial (Fermont).
- Ácido clorhídrico fumante al 37% (Merck).
- Carbonato de sodio (Mallinckrodt).
- Éter de petróleo 96% (Mallnckrodt).

- Éter etílico.
- Ethyl alcohol 96% (Montana).
- Folin Ciocalteau 2N (Sigma Aldrich).
- Metanol 99.8% (Sigma Aldrich).
- Nitrógeno gaseoso.
- Nutriunthiosulfat-5-hydrat (Merck).
- Persulfato de potasio (Mallinckrodt).
- Potassium iodide (Himedia).
- Almidon soluble (JT Baker).

### **3.3 Métodos de análisis**

#### **3.3.1 Determinación de humedad y materia seca**

El método que se empleó para determinar el contenido de humedad y materia seca fue el de la AOAC (1995).

#### **3.3.2 Determinación de compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos de la mashua se determinaron utilizando el método espectrofotométrico reportado por Singleton y Rosi (1965), el cual se basa en la cuantificación espectrofotométrica del complejo coloreado formado por la reacción entre los compuestos fenólicos y el reactivo Folin – Ciocalteau. Se empleó una curva estándar de ácido gálico, expresando los resultados en mg de ácido gálico equivalente/ g de materia seca.

#### **3.3.3 Determinación de la capacidad antioxidante**

Se determinó la capacidad antioxidante de los extractos de mashua utilizando la metodología ABTS<sup>2+</sup> reportada por Arnao (2001). Se tomó 150 µl de extracto, se adicionó 2850 µl de solución de ABTS<sup>2+</sup> diluida, se agitó y luego se procedió a realizar las lecturas de absorbancia a 734 nm. Las lecturas deben estar comprendidas entre 0.1 y 1.05. Para preparar el blanco se procedió de la misma manera pero utilizando en lugar de la muestra etanol. La capacidad antioxidante se determinó usando una curva estándar teniendo como

patrón el Trolox. Los resultados se expresaron en  $\mu\text{mol}$  equivalente de trolox /ml o g de materia seca.

### 3.3.4 Determinación de índice de peróxido

En las muestras de aceite de soya se determinó el índice de peróxido de acuerdo al método reportado por la AOAC (1995). En un erlenmeyer de 250 ml se pesó 5 g de muestra luego se adicionó 30 ml de la mezcla de ácido acético y cloroformo (relación 3:2), se agitó en forma suave hasta conseguir la disolución de la muestra. Luego se agregó 0.5 ml de la solución de yoduro de potasio saturado, se esperó exactamente un minuto y se añadió 30 ml de agua. Seguidamente se tituló el yodo liberado con tiosulfato de sodio 0.01 N agitando vigorosamente, hasta la casi total desaparición del amarillo del yodo. Luego se añadió 0.5 ml de almidón soluble al 1% y se continuo titulando hasta que desaparezca el color azul. Los resultados se expresaron como *meq* de oxígeno activo / Kg de muestra. El índice de peróxido se calculó con la ecuación:

$$IP = \frac{(S - B) \times N \times 1000}{m}$$

Donde:

IP : Índice de peróxido (*meq* de oxígeno activo / Kg de muestra.)

S : ml de  $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2$  gastado en titular la muestra

B : ml de  $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2$  gastado en titular el blanco

N : Normalidad de la disolución de  $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2$  utilizada

m : Peso de muestra (g)

### 3.3.5 Determinación de compuestos polares

En las muestras de aceite de soya se determinó los compuestos polares de acuerdo al método reportado por la AOAC (1995). Se calentó las muestras ligeramente, se homogenizó y se eliminó las impurezas visibles por filtración. Se preparó el eluyente mezclando éter de petróleo y éter etílico (87/13, v/v). Se lleno la columna con 30 ml de eluyente, luego se introdujo una bola de algodón en la parte baja de la columna eliminándose el aire (empujando el algodón), seguidamente se vertió una mezcla de 25 g de silicagel en 80 ml de solución eluyente, se abrió la llave de la columna y se dejó correr

el eluyente a un vaso hasta que el nivel del mismo quede en 10 cm sobre el borde del silicagel, luego se cerró la llave de la columna (para nivelar el nivel del silicagel se realizó pequeños golpes). Seguidamente se agregó 4 g de arena de mar y se dejó salir el resto del eluyente hasta el nivel de la arena. Para determinar los compuestos polares se pesó 2.4 a 2.6 g de muestra en un matraz aforado de 50 ml y se disolvió en 20 ml de eluyente, luego se llenó hasta el aforo con el eluyente. Seguidamente se vertió 20 ml de solución preparada (eluyente + muestra) evitando alteraciones en la superficie, se abrió la llave de la columna para dejar correr la solución hasta el nivel de la capa de arena. Posteriormente se eluyó los compuestos no polares con 150 ml de eluyente recogiendo en un matraz de 250 mL previamente tarado, se reguló el flujo de modo que paso 150 ml en 60-70 minutos. Luego se eluyó los componentes polares con 150 ml de éter etílico recogiendo en un segundo matraz de 250 ml previamente tarado. Se evaporó los disolventes de los matraces a una temperatura no superior a 60°C y se secó en corriente de nitrógeno hasta peso constante. Los resultados se expresaron como % de compuestos polares. El porcentaje de compuestos polares se calculó con la ecuación:

$$\text{Compuestos polares (\%)} = \left[ \frac{E - A}{E} \right] \times 100$$

Donde:

E : Muestra contenida en 20 mL de la solución añadida a la columna (g)

A : Fracción no polar (g)

### 3.3.6 Determinación de dienos y trienos conjugados

La determinación de dienos y trienos conjugados en aceite de soya utilizado, fue realizada mediante el método reportado por la AOAC (1995). El método permite evaluar el desplazamiento de un doble enlace hacia el carbono del grupo metilénico anexo, formando una estructura de un dienos conjugado, siendo un buen índice de oxidación primaria. La degradación de peróxidos forma compuestos secundarios dando lugar a una estructura de trieno conjugado, siendo un buen índice de oxidación secundaria. Los dienos conjugados exhibieron una absorbancia intensa a 232 nm y los trienos a 268 nm. Estos valores fueron determinados usando 1% de la muestra de aceite en hexano (w/v). Los resultados se expresaron como absorbancias a 232 nm de dienos y absorbancias a 268 de trienos conjugados.



### 3.4 Metodología experimental

El presente trabajo de investigación se dividió en tres partes:

- La primera parte consistió en la obtención de extractos antioxidantes de tres genotipos de mashua.
- La segunda parte evaluó el efecto de extractos antioxidantes de mashua en la oxidación del aceite de soya durante ensayos de almacenamiento acelerado.
- La tercera parte evaluó el efecto de extractos antioxidantes de mashua en la estabilidad oxidativa del aceite de soya durante la fritura.

#### 3.4.1 Obtención de extractos antioxidantes de mashua

Para la obtención de los extractos de mashua se empleó el flujo de operaciones que se presenta en la Figura 7. El procedimiento empleado fue el reportado por Chirinos et al. (2007).

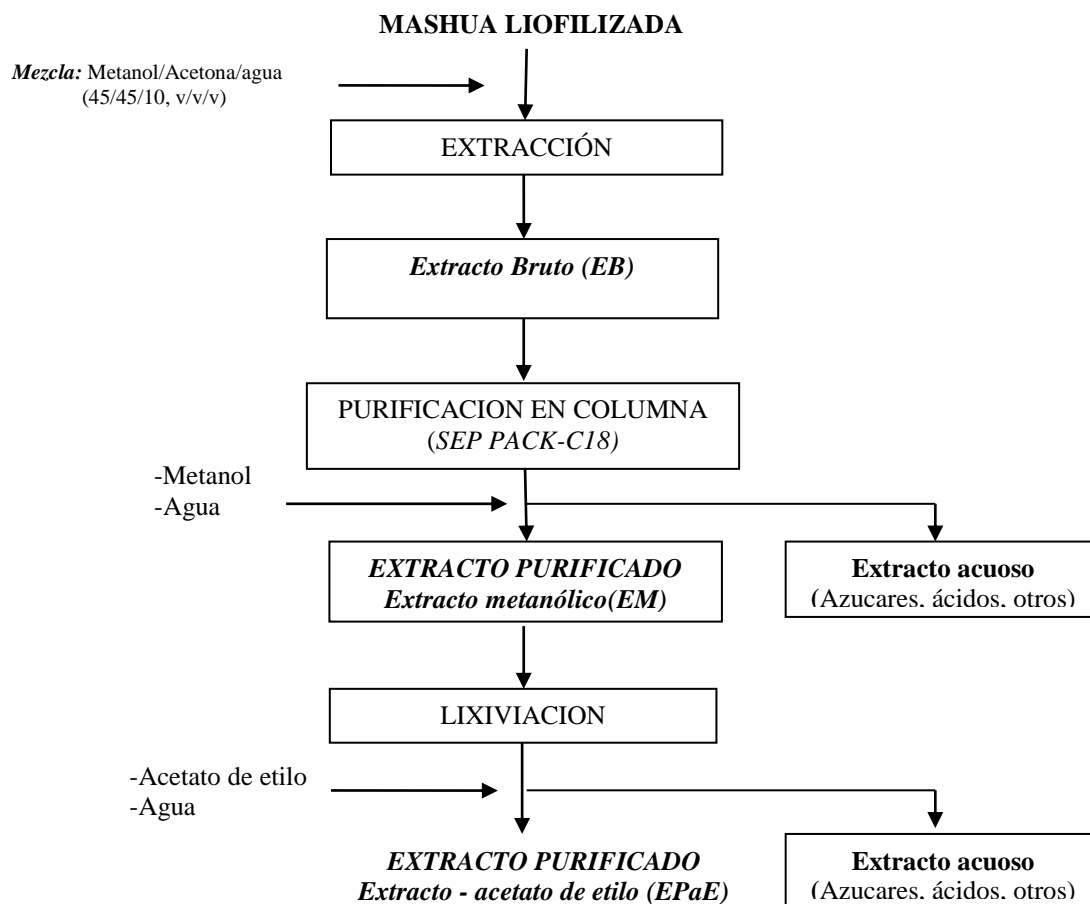


Figura 7: Esquema del proceso de obtención de extractos antioxidantes de mashua

- **Obtención del extracto bruto.** Para la obtención del extracto bruto, se pesó 50 g de muestra liofilizada y se colocó en un matraz de 5 L de capacidad, luego se añadió 3 L de una mezcla de solventes de metanol: acetona: agua (45: 45: 10, v/v/v). El conjunto se sometió a agitación constante durante 60 minutos a temperatura ambiente ( $\approx 25^{\circ}\text{C}$ ), luego se centrifugó a 4000 rpm x 10 minutos separando el sobrenadante (S1) de la torta. Seguidamente la torta se sometió a una segunda extracción, se colocó en un matraz de 5 L, se añadió 1,5 L de la mezcla de solventes de metanol: acetona: agua (45: 45: 10, v/v/v), el conjunto se dejó bajo agitación constantemente durante 15 minutos a temperatura ambiente ( $\approx 25^{\circ}\text{C}$ ), se centrifugó a 4000 rpm x 10 minutos, separando el sobrenadante (S2). Los sobrenadantes (S1) y (S2) se mezclaron y concentraron al vacío ( $\leq 40^{\circ}\text{C}$ ) hasta sequedad. Luego se resuspendió en agua destilada y se denominó extracto bruto (EB).
- **Obtención del extracto purificado.** Se realizó con el fin de eliminar las impurezas de características no fenólicas tales como azúcares, ácidos orgánicos entre otros compuestos y separar compuestos fenólicos de acuerdo a su polaridad. Se empleó cartuchos del tipo SEP PAK-C18 (10 g, 35 cc, Waters, Milford, MA). Estos cartuchos fueron previamente lavados con 60 ml de metanol puro y luego con 90 ml de agua acidulada (HCl 0.01%), posteriormente se inyectó 50 ml de extracto bruto (EB). Luego se eluyó 60 ml de agua acidulada, posteriormente con 80 ml de metanol acidulado (HCl 0.01%) y luego con 30 ml de metanol puro. Todas las fracciones fueron mezcladas en un matraz. Esta fracción rica en compuestos fenólicos fue concentrada al vacío hasta sequedad ( $\leq 40^{\circ}\text{C}$ ) y resuspendida en 30 ml de agua, se le denominó extracto-metanólico (EM).
- **Obtención del extracto purificado por lixiviación.** El EM fue colocado en una pera de decantación y se agregó 60 ml de acetato de etilo, luego se mezcló vigorosamente dejándolo en reposo hasta que se visualizaron dos fases bien definidas. Se separó la fase de acetato de etilo. Luego una segunda y tercera separación se realizó bajo las mismas condiciones. Todas las fases de acetato de etilo se mezclaron y evaporaron a sequedad y se resuspendieron en 10 ml de

etanol grado HPLC (99% de pureza) denominándola extracto acetato de etilo (EaE).

Se determinó la cantidad de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en el EB, EM y EaE. Luego se inyectó nitrógeno y se almacenan a -20 °C hasta su uso.

### 3.4.2 Efecto de los extractos antioxidantes de mashua en la oxidación del aceite de soya durante almacenamiento acelerado

Se evaluó la eficacia antioxidante en aceite de soya de los extractos EM y EaE provenientes de tres genotipos de mashua (ARB 5241, DP 0224 y ARV 5366). Se colocó 10 ml de aceite de soya en botellas ámbar de 30 ml, luego se adicionó los diferentes extractos, evaluándose diferentes concentraciones (100, 300 y 600 ppm), las botellas se colocaron en una estufa a 55°C con recirculación de aire. También se preparó una muestra con BHT (200 ppm) y una muestra control sin antioxidante. Se tomaron muestras una botella a los 0, 15 y 30 días. Se determinó índice de peróxido, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante. El esquema experimental se presenta en el cuadro 3.

**Cuadro 3: Esquema experimental para evaluar el efecto de extractos antioxidantes de mashua en la oxidación del aceite de soya durante almacenamiento**

Extractos antioxidantes		Tiempo (días)	Controles
Extractos fenólicos	Concentración (ppm)		
<b>EM</b> (Extracto-metanólico)	100	T1 = 0	Índice de peróxido
	300		
	600		
<b>EaE</b> (Extracto-acetato de etilo)	100	T2 = 5	Capacidad antioxidante
	300	T3 = 15	
	600		
<b>BHT</b> (butilhidroxitolueno)	200		Compuestos fenólicos totales

Para la evaluación de los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante remanentes en las muestras de aceite almacenado, se empleó el método descrito por Araujo (1999). Se pesó aproximadamente 2 g de aceite de soya y colocó en tubos de ensayo y se adiciono 3 ml de

éter de petróleo. La mezcla se vertió en una pera de decantación de 100 ml, se enjuago el tubo de ensayo con 2 ml de éter de petróleo y se vertió a la pera de decantación, luego se adicionó 5 ml de etanol al 80% y se agitó vigorosamente por 1 minuto. Se dejó en reposo hasta que se visualizaron dos fases bien definidas, se recogió la fase etanólica en un frasco de 25 ml. Luego una segunda y tercera participación se realizó bajo las mismas condiciones utilizando etanol al 80%. Los extractos etanólicos fueron almacenado a -18°C previa inyección de nitrógeno hasta el momento de realizar la determinación de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante

### 3.4.3 Efecto de los extractos antioxidantes de mashua en la estabilidad oxidativa del aceite de soya durante la fritura

Se evaluó la estabilidad del aceite de soya durante la fritura. Se seleccionó los extractos EM y EaE provenientes del genotipo ARB 5241. A 300 ml de aceite de soya se adicionó uno u otro extracto antioxidante en una concentración suficiente de 200 ppm, la mezcla se calentó a  $180 \pm 5^\circ\text{C}$  y se inició la fritura de papas cortadas en cubos (3x3x1.5 cm), cada bach de fritura duró 5 min, un bach se realizó cada 30 min durante 3.5 h. También se realizó un ensayo control en presencia de TBHQ (200 ppm) y uno sin antioxidante. A los 0, 1.5, 2.5 y 3.5 h se realizaron controles de porcentaje de compuestos polares, dienos y trienos conjugados. El esquema experimental se presenta en el Cuadro 4.

**Cuadro 4: Esquema experimental para evaluar el efecto de extractos antioxidantes de mashua en la estabilidad oxidativa del aceite de soya durante la fritura**

<b>Extractos fenólicos</b>	<b>Tiempo (horas)</b>	<b>Controles</b>
<b>200 ppm-EM (ARB 5241)</b> Extracto- metanólico	T1 = 0	% de compuestos polares
<b>200 ppm- EaE (ARB 5241)</b> Extracto-acetato de etilo	T2 = 1.5	Dienos conjugados
<b>200 ppm- TBHQ</b> butilhidroquinona terciaria	T3 = 2.5	Trienos conjugados
<b>Blanco (Sin antioxidante)</b>	T4 = 3.5	

### **3.5 Evaluación estadística**

#### **3.5.1 Extractos antioxidantes de mashua**

Se obtuvieron tres extractos antioxidantes por cada genotipo de mashua denominados extracto bruto (EB), extracto-metanólico (EM) y extracto-acetato de etilo (EaE) en cada uno de ellos se realizaron análisis cuantitativos por triplicado. Para esta primera parte de la investigación los resultados se analizaron con el programa IBM SPSS Statistics 19, con el cual se determinó un promedio total para cada extracto antioxidante, los resultados se expresaron como medias  $\pm$  desviación estándar (SD). De los resultados se analizaron pruebas de significación estadística mediante ANOVA y pruebas de comparación de medias de grupos homogéneos. Las diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ( $p < 0,05$ ) fueron evaluados mediante una prueba de Duncan.

#### **3.5.2 Efecto de los extractos antioxidantes de mashua en la estabilidad oxidativa del aceite de soya durante almacenamiento acelerado**

Se evaluó el efecto de los extractos antioxidante (100 ppm-EM, 300 ppm-EM, 600 ppm-EM, 100 ppm-EaE, 300 ppm-EaE, 600 ppm-EaE y 200 ppm-BHT) de los tres genotipos de mashua en aceite de soya, durante 15 días de almacenamiento acelerado. Con el programa IBM SPSS Statistics 19, se calcularon el promedio total de cada extracto en el tiempo y su variabilidad mediante la desviación estándar (SD). En los resultados se analizaron pruebas de significación estadística mediante ANOVA de la varianza múltiple de 2 factores, utilizando como factores: los extractos antioxidantes (100 ppm-EM, 300 ppm-EM, 600 ppm-EM, 100 ppm-EaE, 300 ppm-EaE, 600 ppm-EaE, 200 ppm-BHT y Blanco) obtenidos de los tres genotipos de mashua (ARB 5241, DP 0224 y ARV 5366) y el tiempo (0, 7, 15 días), con la finalidad de determinar si existe diferencias significativas entre los extractos antioxidantes, el tiempo y la interacciones entre extractos antioxidante y tiempo en la oxidación del aceite de soya. Las diferencias estadísticas significativas entre los extractos antioxidantes y entre el tiempo ( $p < 0,05$ ) fueron evaluados mediante una prueba de Duncan. Todos los tratamientos se realizaron por triplicado.

### **3.5.3 Efecto de los extractos antioxidantes de mashua en la estabilidad oxidativa del aceite de soya durante la fritura**

Se evaluó el efecto de los extractos antioxidantes EM y EaE del genotipo de mashua ARB 5241 a una concentración de 200 ppm y de butilhidroquinona terciaria (TBHQ) a una concentración de 200 ppm, en la estabilidad oxidativa del aceite de soya durante 3.5 horas de fritura. Los resultados se analizaron con el programa IBM SPSS Statistics 19 con el cual se determinó un promedio total de cada extracto y en cada tiempo y su variabilidad mediante la desviación estándar (SD). En los resultados se analizaron pruebas de significación estadística mediante ANOVA de la varianza múltiple de 2 factores, utilizando como factores: los extractos antioxidantes (200 ppm EM-ARB 5241, 200 ppm EaE-ARB 5241, 200 ppm TBHQ y blanco) y el tiempo (0, 1.5, 2.5 y 3.5 horas) con la finalidad de determinar si existieron diferencias significativas entre los extractos antioxidantes y el tiempo. Las diferencias estadísticas significativas entre los extractos antioxidantes y entre el tiempo ( $p < 0,05$ ) fueron evaluados mediante una prueba de Duncan. También se analizó la relación existente entre los extractos antioxidantes de mashua y el tiempo de fritura con el objetivo de evaluar el efecto de los extractos antioxidantes de mashua en la estabilidad oxidativa del aceite de soya, mediante los índices de correlación, coeficiente de linealidad y los coeficientes de la recta de regresión para cada caso. Todos los tratamientos se realizaron por triplicado.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Características de la materia prima

En el Cuadro 5: se presenta el contenido de humedad y materia seca promedio de tres repeticiones evaluadas en tres genotipos de mashua fresca. Los resultados obtenidos durante la investigación del contenido de humedad y materia seca se encuentran representada en el Anexo II (Cuadro 1).

**Cuadro 5: Contenido de humedad y materia seca de tres genotipos de mashua**

<b>Genotipo</b>	<b>Materia seca (%)</b>	<b>Humedad (%)</b>
<b>ARB 5241</b>	4.8±0.0	95.2±0.4
<b>DP 0224</b>	5.5±0.0	94.5±0.3
<b>ARV 5366</b>	4.5±0.0	95.5±0.8

Los tres genotipos de mashua fresca presentaron un rango de 4,5 a 5,5 % de materia seca y 94.5 a 95.5 % de humedad, coincidiendo con lo reportado por Rios (2004). Espín (2001) atribuye las variaciones en materia seca a los factores de variedad, clima, prácticas de cultivo, duración del cultivo, condiciones del suelo, incidencia de plagas y enfermedades. Estos factores están relacionados con la tuberización de las plantas, lo que condiciona el contenido de materia seca. Smitt (1997) señala que algunos factores ambientales como el fotoperiodo corto (días menores a 13 horas luz) acompañadas de temperatura bajas inducen y fomentan la tuberización y de ella depende el porcentaje de materia seca.

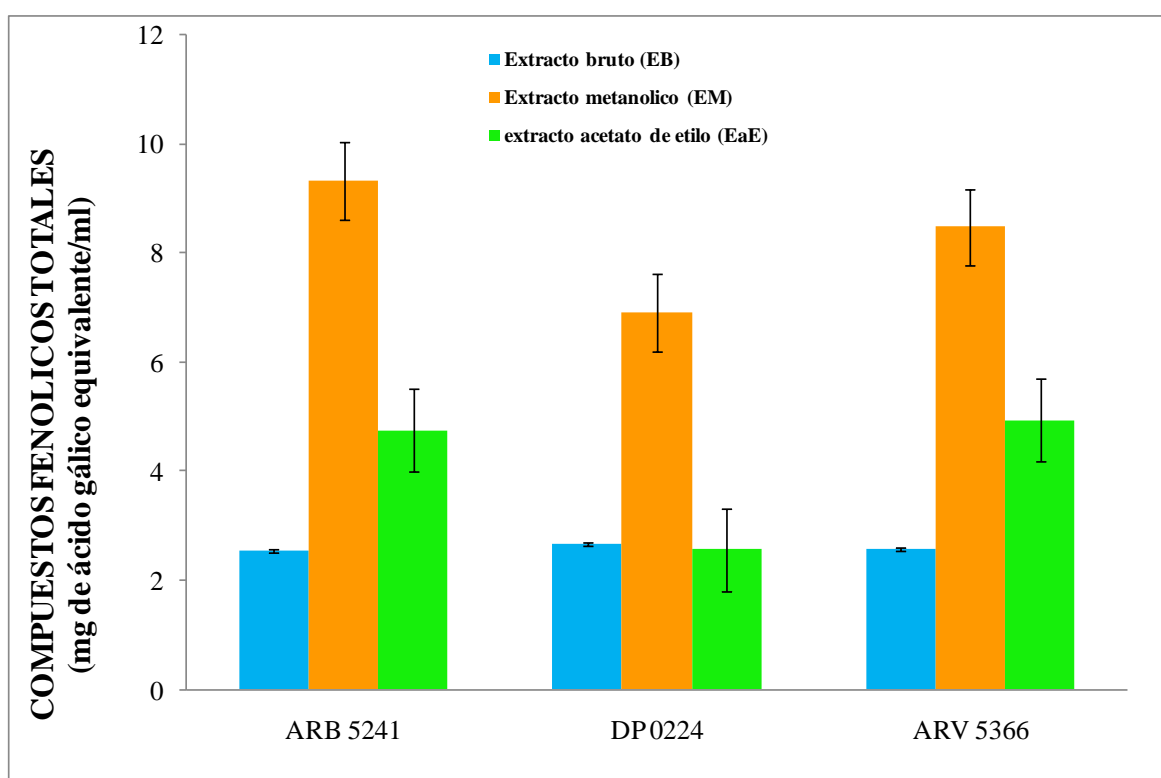
### 4.2 Extractos antioxidantes de mashua

Con el objetivo de evaluar el efecto de extractos antioxidantes de mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) en la estabilidad oxidativa del aceite de soya durante el almacenamiento y fritura se procedió a la obtención de tres extractos antioxidantes por

cada genotipo de mashua (ARB 5241, DP 0224 y ARV 5366), denominados extracto bruto (EB), extracto-metanólico (EM) y extracto-acetato de etilo (EaE). De cada extracto antioxidante se evaluó la cantidad de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante.

#### 4.2.1 Compuestos fenólicos totales de los extractos antioxidantes de mashua

La cantidad de compuestos fenólicos totales de los extractos antioxidantes de mashua mostraron diferencia significativas ( $p < 0.05$ ), presentando mayor cantidad el EM seguido EaE y EB. Dentro de los genotipos el que presentó mayor contenido de compuestos fenólicos fue el ARB 5241, seguido del ARV 5366 y DP 0224 como se muestra en la Figura 8. Los valores obtenidos con su respectiva desviación estándar se representan en el Anexo 1 (Cuadro 2).



**Figura 8: Contenido de compuestos fenólicos totales en los extractos antioxidantes (EB, EM y EaE) de tres genotipos de mashua**

El EB presentó un rango de 2.54 a 2.66 mg de ácido gálico equivalente/ml de extracto con un valor promedio de 2.59 mg de ácido gálico equivalente/ml de extracto. También se



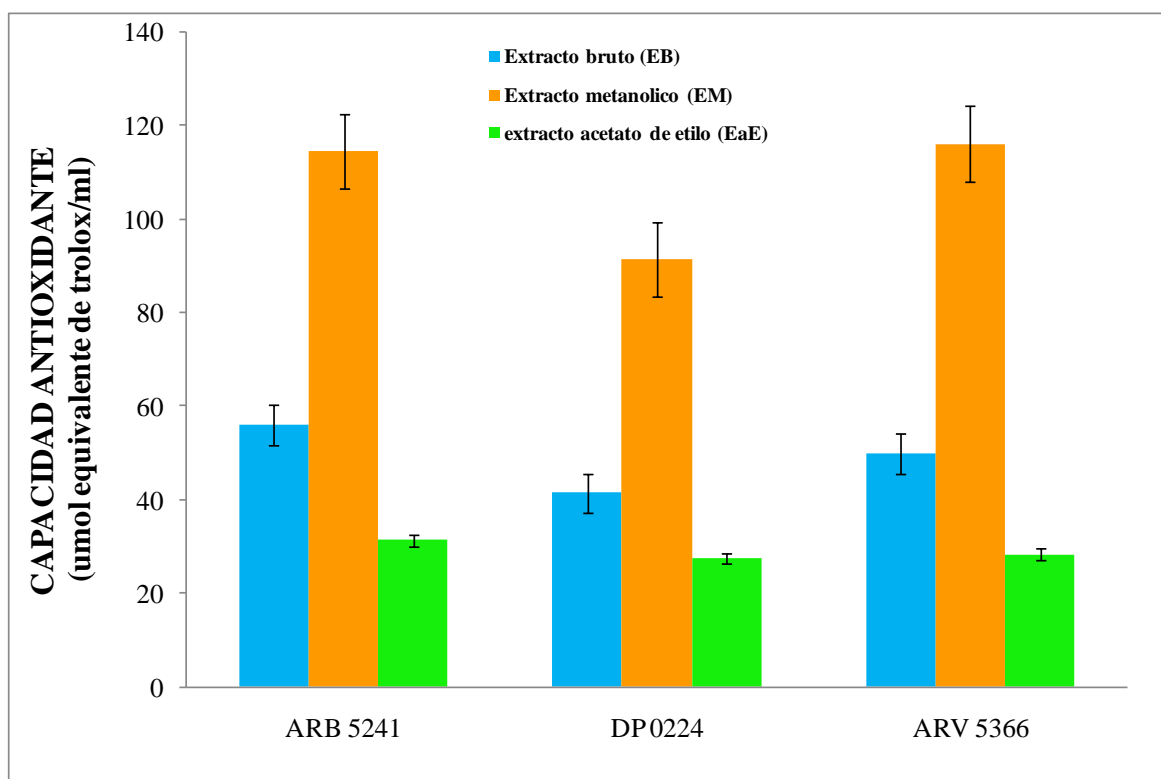
muestras los valores promedios del EM y EaE de los genotipos de mashua, mostrando un rango de 6.91 a 9.32 y 2.56 a 4.93 mg de ácido gálico equivalente/ml de extracto respectivamente, con un valor promedio de 8.23 y 4.08 mg de ácido gálico equivalente/ml de extracto respectivamente. Chirinos et al. (2008a) señala que la separación mediante el uso de cartuchos tipo SEP-PAK C18 con carácter hidrofóbico con metanol obtiene un extracto purificado con valores altos en contenido de fenólicos totales, antocianinas totales, flavonoides totales y capacidad antioxidante y la separación con acetato de etilo a partir de extracto purificado muestra un carácter hidrófobo y tienen afinidad con flavonoles, flavan 3-oles, ácidos fenólicos siendo una fuente importante de fitoquímicos antioxidantes por el alto contenido de compuestos fenólicos. Sagdic et al. (2011) señalaron que el contenido de compuestos fenólico de los extractos depende en gran medida de las condiciones de extracción

#### **4.2.2 Capacidad antioxidante de los extractos antioxidantes de mashua**

Para determinar la capacidad antioxidante se utilizó el radical libre ABTS<sup>+2</sup> estimando el potencial de actividad de captación de radicales libres de los compuestos fenólicos. La capacidad antioxidante de los extractos antioxidantes de mashua mostraron diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), presentando mayor capacidad antioxidante el EM seguido del EB y EaE y dentro de los genotipos, el que presentó mayor contenido de capacidad antioxidante fue el ARB 5241 seguido del ARV 5366 y DP 0224. Los valores obtenidos con sus respectiva desviación estándar (+/- D.E.) se encuentran representados en el Anexo 1 (Cuadro 3).

En la Figura 9, se muestra los valores promedios del EB en un rango de 41.39 a 56.12 umol equivalente de Trolox/ml de extracto, con un valor promedio de 49.15 umol equivalente de Trolox. El EM y EaE de los genotipos de mashua presentaron un rango de 91.42 a 116.15 y 27.46 a 31.35 umol equivalente de Trolox, respectivamente, con valor promedio de 107.36 y 29.03 umol equivalente de Trolox, respectivamente. Balasundram *et al.* (2006) señalaron que la capacidad antioxidante de los extractos de plantas se le atribuye principalmente a los compuestos fenólicos presentes, Además se utiliza como un parámetro de importancia para describir los componentes bioactivos. Rice-Evans *et al.* (1997) mencionaron que dependiendo de su estructura química y actividad permiten actuar

como agentes donadores de hidrogeno y captadores de oxigeno singulete por lo que existe grandes diferencias en la efectividad como antioxidante.



**Figura 9: Capacidad antioxidante en los extractos antioxidantes (EB, EM y EaE) de tres genotipos de mashua**

#### 4.2.3 Capacidad antioxidante específica en los extractos antioxidantes de mashua

Los extractos antioxidantes de mashua como el EM y EaE presentaron un promedio de 107.36 y 29.03 umol equivalente de Trolox/ml de extracto, respectivamente y de 8.23 y 4.08 mg de ácido gálico equivalente/ml de extracto, respectivamente, mostrando una capacidad antioxidante específica expresada en umol equivalente de Trolox /mg de ácido gálico equivalente de 13.04 y 7.12 respectivamente, de acuerdo a estos resultados el EM contiene compuestos fenólicos con capacidades antioxidantes más importantes respecto EaE. Naz et al. (2004) señala que la diferencia de la capacidad antioxidante puede explicarse sobre la base de las estructuras químicas de los antioxidantes. Chirinos et al. (2008a) señala que la separación por lixiviación con acetato de etilo y agua a partir de extractos metanólico de mashua muestran que la fracción acetato de etilo por su carácter hidrófobo tienen afinidad con flavonoles, flavan 3-oles, ácidos fenólicos. Pérez et al.

(2008) menciona que el uso de disolventes polares tales como metanol se utiliza para extraer antioxidantes hidrofílicos.

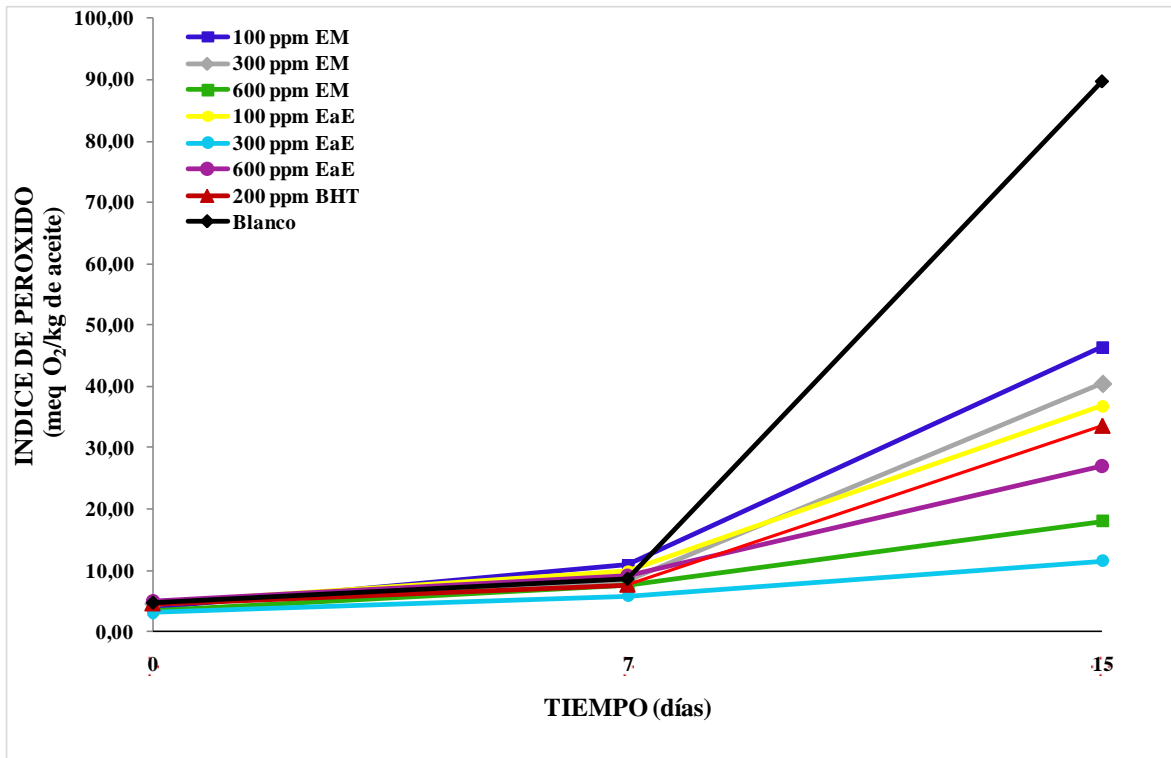
### **4.3 Evaluación de los extractos antioxidantes de mashua en la oxidación del aceite de soya durante almacenamiento acelerado**

Se evaluó el efecto de los extractos antioxidante (EM y EaE) obtenidos de tres genotipos de mashua (ARB 5241, DP 0224 y ARV 5366) en la oxidación del aceite de soya, en concentraciones de 100, 300 y 600 ppm de compuestos fenólicos totales. También se evaluó el Butilhidroxitolueno (BHT) a 200 ppm y una muestra sin antioxidante. Los ensayos se llevaron a cabo a 55°C, se tomaron muestras a los 0, 7 y 15 días y se determinó el índice de peróxido, capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales.

#### **4.3.1 Índice de peróxido**

En la Figura 10, se muestra un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) de los valores promedios de índice de peróxido de las muestras de aceite de soya mezcladas con extractos antioxidantes EM y EaE del genotipo de mashua ARB 524, durante los 15 días de almacenamiento. Todos los valores promedios y su desviación estándar (+/- D.E.) se encuentran en el Anexo 2 (Cuadro 1).

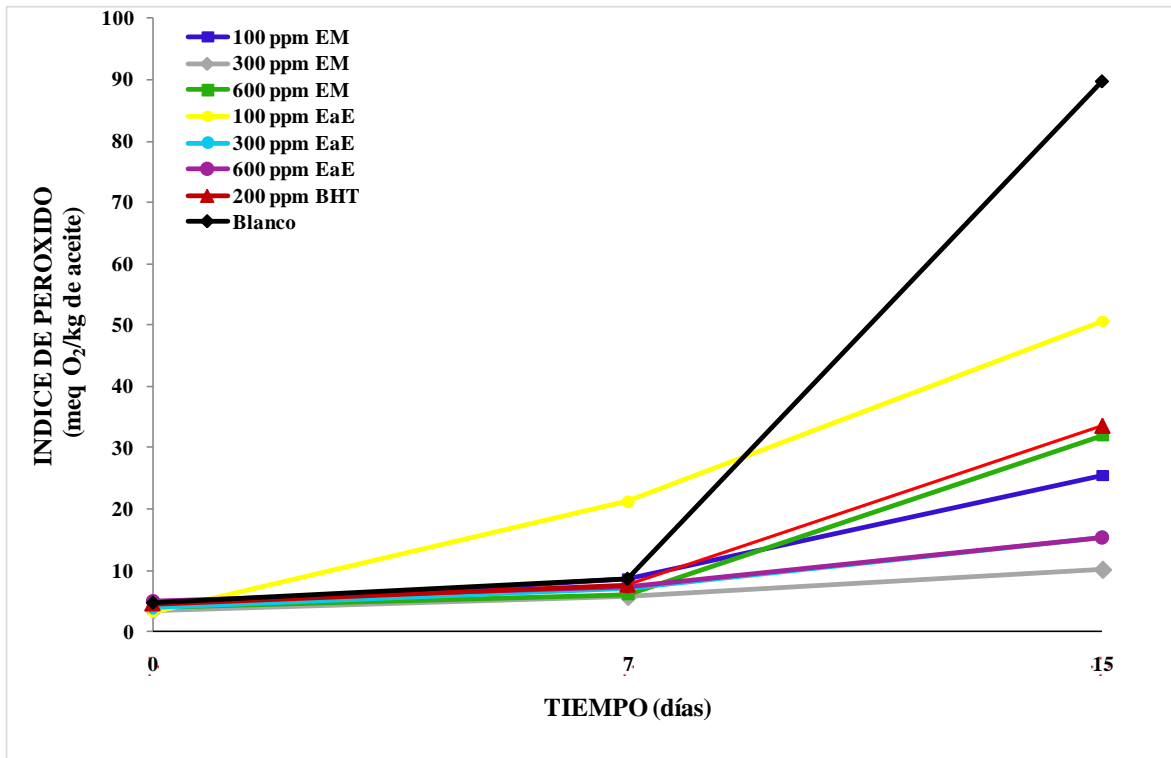
Comparando el efecto de los extractos antioxidantes en la oxidación del aceite de soya durante almacenamiento, se muestran en un orden ascendente: 300 ppm-EaE, 600 ppm-EM, 600 ppm-EaE, 200 ppm-BHT, 100 ppm-EaE, 300 ppm-EM, 100 ppm-EM, Blanco (Sin antioxidante), con valores de índice de peróxido después de 15 días de almacenamiento de 11.52, 17.99, 26.92, 33.64, 36.74, 40.40, 46.33, 89.79 meq O<sub>2</sub>/kg de aceite. Con porcentajes a la inhibición de formación de peróxidos en el aceite de 87, 80, 70, 63, 59, 55, 48 %, respectivamente en comparación con la muestra sin antioxidante. Los resultados indican que 300 ppm de EaE y 600 ppm de EM del genotipo ARB 5241, presentan mayor efecto en la estabilidad oxidativa del aceite de soya durante almacenamiento.



**Figura 10: Índice de peróxido en el aceite de soja con extractos antioxidantes (EM, EaE) del genotipo de mashua ARB 5241, BHT durante el almacenamiento**

En la Figura 1, se muestra un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) de los valores promedios de índice de peróxido de las muestras de aceite de soja mezcladas con extractos antioxidantes EM y EaE del genotipo de mashua DP 0224. Todos los valores promedios y su desviación estándar ( $\pm$  D.E.) se encuentran en el Anexo 2 (Cuadro 2).

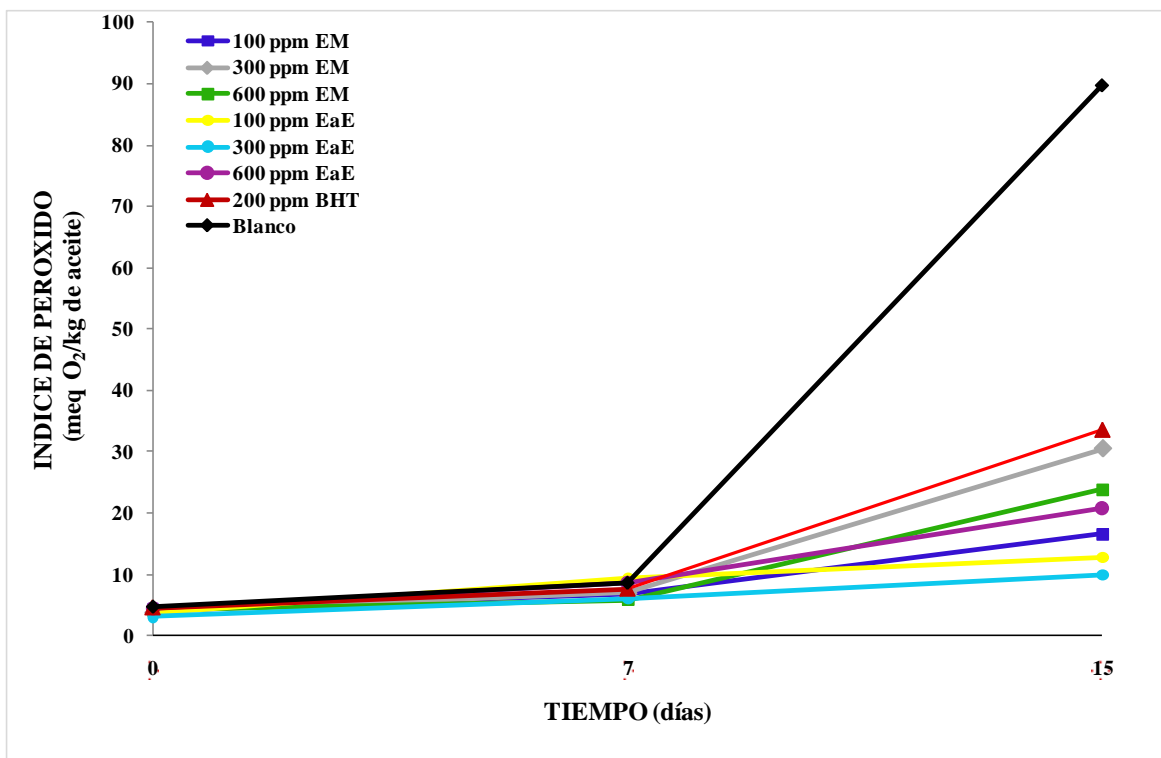
Comparando el efecto de los extractos antioxidantes en la oxidación del aceite de soja durante almacenamiento, se muestran en un orden ascendente: 300 ppm-EM, 300 ppm-EaE, 600 ppm-EaE, 100 ppm-EM, 600 ppm-EM, 200 ppm-BHT, 100 ppm-EaE, Blanco, con valores de índice de peróxido después de 15 días de almacenamiento de 10.02, 15.44, 15.29, 25.47, 31.94, 33.64, 50.61 y 89.79 meq  $O_2$ /kg de aceite. Con porcentajes a la inhibición de formación de hidroperóxidos en el aceite de 89, 83, 83, 72, 64, 63, 44% respectivamente en comparación con la muestra sin antioxidante. Los resultados indican que 300 ppm de EM y 300 ppm de EaE del genotipo DP 0224 presentan mayor efecto en la estabilidad oxidativa del aceite de soja durante almacenamiento.



**Figura 11: Índice de peróxido de aceites de soja con extractos antioxidantes (EM, EaE) del genotipo de mashua DP 0224, BHT durante el almacenamiento**

En la Figura 12, se muestra un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) de los valores promedios de índice de peróxido de las muestras de aceite de soja mezcladas con extractos antioxidantes EM y EaE del genotipo de mashua ARV 5366. Todos los valores promedios y su desviación estándar (+/- D.E.) se encuentran en el Anexo 2 (Cuadro 3).

Comparando el efecto de los extractos antioxidantes en la oxidación del aceite de soja durante almacenamiento, se muestran en un orden ascendente: 300 ppm-EaE, 100 ppm-EaE, 100 ppm-EM, 600 ppm-EM, 600 ppm-EaE, 300 ppm-EM, 200 ppm-BHT, Blanco, con valores de índice de peróxido después de 15 días de almacenamiento de 9.86, 12.77, 16.56, 23.82, 20.75, 30.49, 33.64 y 89.79 meq  $O_2$ /kg de aceite. Con porcentajes a la inhibición de formación de hidroperóxidos en el aceite de 89, 86, 82, 74, 77, 66, 63 % respectivamente en comparación con la muestra sin antioxidante. Los resultados indican que 300 ppm de EaE, 100 ppm de EaE del genotipo ARV 5366, presentan mayor efecto en la estabilidad oxidativa del aceite de soja durante almacenamiento.



**Figura 12:** Índice de peróxido de aceites de soja con extractos antioxidantes (EM, EaE) del genotipo de mashua ARV 5366, BHT durante el almacenamiento

Los extractos antioxidantes EM y EaE de los genotipos de mashua (ARB 5241, DP 0224, ARV 5366) y BHT muestran un efecto antioxidante con respecto a la muestra sin antioxidante ( $p < 0,05$ ), que llegó a un máximo de 89.8 meq  $O_2/Kg$  de aceite después de 15 días de almacenamiento, valores similares fueron reportados por Suja et al. (2004) señala que muestras de aceite vegetal sin antioxidante almacenadas por 15 días a 60°C presentaron 89.2 meq  $O_2/Kg$  de aceite. Por otro lado, los resultados muestran que los extractos antioxidantes de mashua tiene mayor efecto que el BHT que comúnmente se emplea para la estabilidad oxidativa de aceites y grasas durante el almacenamiento y transporte (Urbancic et al. 2014). La diferencia podría deberse a que el BHT solo elimina radicales libres y no son capaces de quelar iones metálicos (Tsao y Deng, 2004). Además desde el punto de vista de la seguridad alimentaria los antioxidantes sintéticos como el BHT están sujetos a constantes cuestionamientos y restricciones dado a que se han reportado que son carcinogénicos (Ito et al. 1996).

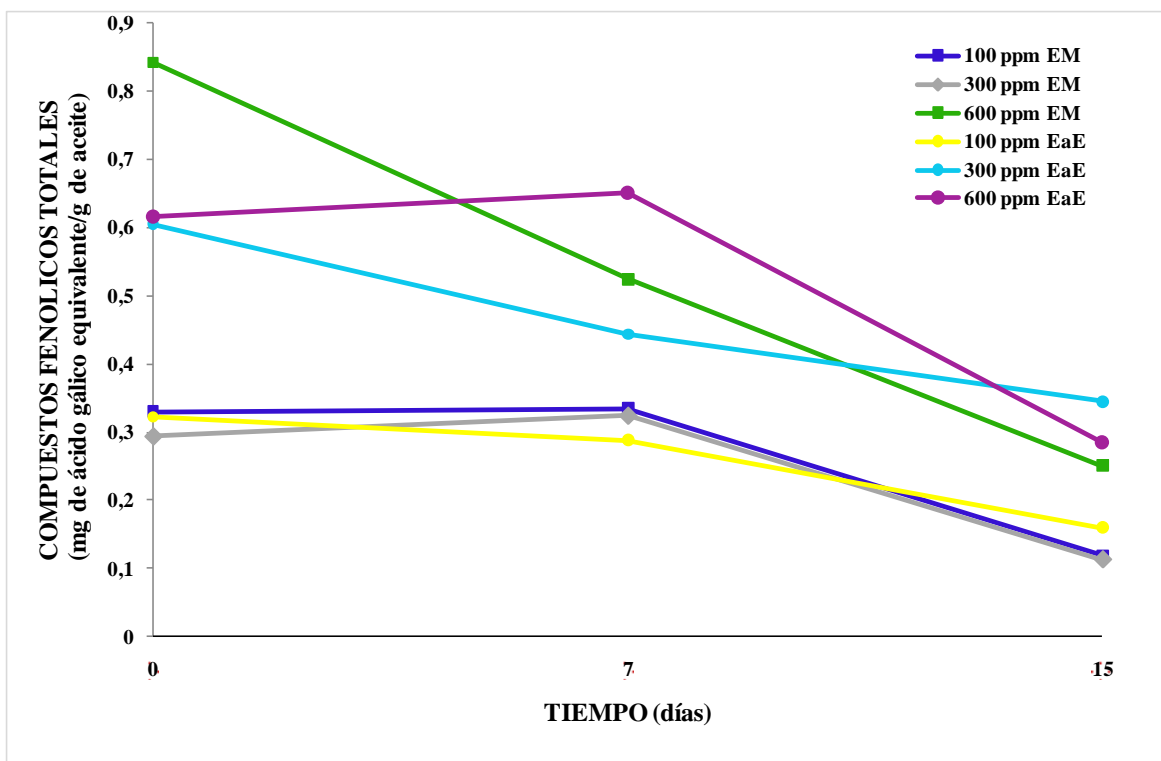
Al comparar los valores promedios de índice de peróxido se observa que los extractos antioxidantes del genotipo ARB 5241 (300 ppm-EaE, 600 ppm-EM), DP 0224 (300 ppm-EM, 300 ppm-EaE) y ARV 5366 (300 ppm-EaE, 100 ppm-EaE) fueron eficaces para inhibir la oxidación del aceite de soya. Se puede observar de acuerdo a estos resultados que a 300 ppm el extracto-acetato de etilo (EaE) presenta mayor eficacia antioxidante durante el almacenamiento del aceite de soya. También se muestra que a mayor concentración menor estabilidad oxidativa. Pokorny et al. (2005) mencionan que la eficacia de los antioxidantes aumenta con su concentración elevada. Cirico y Omaye (2006) indican que es posible el efectos prooxidantes a concentraciones y Chirinos et al. (2008a) señala que la complejidad de los compuestos fenólicos y el grado de pureza obtenida durante la extracción y purificación de los extractos antioxidantes pueden ocasionar efectos prooxidantes, también señala que los efectos protectores de los extractos de mashua dependen de la concentración, composición fenólica y las estructuras moleculares que definen su reactividad contra los radicales libres.

#### **4.3.2 Estabilidad de los compuestos fenólicos durante el almacenamiento del aceite de soya**

La presencia de compuestos fenólicos se considera un factor importante para la actividad antioxidante de los extractos de mashua que estabilizan la oxidación de los aceites actuando como antioxidantes primarios o terminadores de radicales libres (Kumaran y Karunakaran 2007). En la Figura 13, se muestra una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) de los valores promedios de la cantidad de compuestos fenólicos totales de los extractos fenólicos extraídas de las muestras de aceite de soya mezcladas con extractos antioxidantes EM y EaE del genotipo de mashua ARB 5241, almacenadas durante 15 días. Los valores promedios y su desviación estándar (+/- D.E.) se encuentran en el Anexo 2 (Cuadro 4).

Comparando la estabilidad de los extractos antioxidantes en la oxidación del aceite de soya durante almacenamiento, se observa en un orden descendente del promedio de la cantidad de compuestos fenólicos totales: 600 ppm-EM, 600 ppm-EaE, 300 ppm-EaE, 100 ppm-EM, 100 ppm-EaE, 300 ppm-EM con valores promedios de compuestos fenólicos totales en el día 0 de 0.84, 0.62, 0.61, 0.33, 0.32 y 0.29 de mg de ácido gálico equivalente/g de aceite y a los 15 días de almacenamiento de 0.25, 0.29, 0.34, 0.12, 0.34 y 0.12 mg de ácido gálico equivalente/g de aceite. Con porcentajes de degradación de los compuestos

fenólicos totales en el aceite de 70, 53, 44, 64, 50, 62 %, respectivamente. Los resultados indican menor degradación de compuestos fenólicos totales la muestra de aceite con 300 ppm de EaE del genotipo ARB 5241.



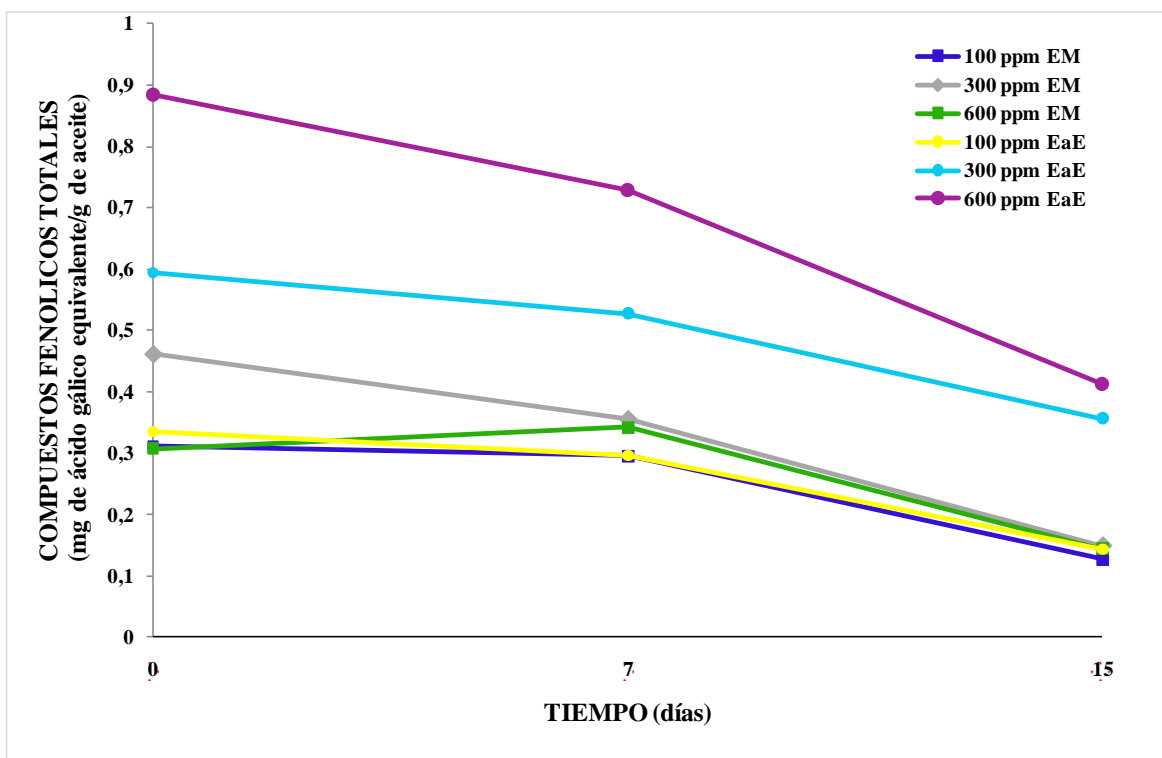
**Figura 13: Compuestos fenólicos totales en los aceites de soja con extractos antioxidantes (EM, EaE) del genotipo de mashua ARB 5241 durante almacenamiento**

En la Figura 14, se muestra una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) de los valores promedios de la cantidad de compuestos fenólicos totales de los extractos fenólicos extraídas de las muestras de aceite de soja mezcladas con extractos antioxidantes EM y EaE del genotipo de mashua DP O224. Los valores promedios y su desviación estándar (+/- D.E.) se encuentran en el Anexo 2 (Cuadro 5).

Comparando la estabilidad de los extractos antioxidantes en la oxidación del aceite de soja durante almacenamiento, se muestran en un orden descendente del promedio de la cantidad de compuestos fenólicos totales: 600 ppm-EaE, 300 ppm-EaE, 300 ppm-EPM, 600 ppm-EM, 100 ppm-EaE, 100 ppm-EM, con valores de contenido de compuestos fenólicos totales en el día 0 fue de 0.88, 0.59, 0.46, 0.31, 0.33 y 0.31 de mg de ácido gálico



equivalente/g de aceite y a los 15 días fue de 0.41, 0.36, 0.15, 0.14, 0.14 y 0.13 mg de ácido gálico equivalente/g de aceite. Con porcentajes de degradación de compuestos fenólicos en el aceite de 53, 39, 67, 55, 58 y 58 %, respectivamente. Los resultados indican menor degradación de compuestos fenólicos totales la muestra de aceite con 300 ppm de EaE del genotipo DP 0224.

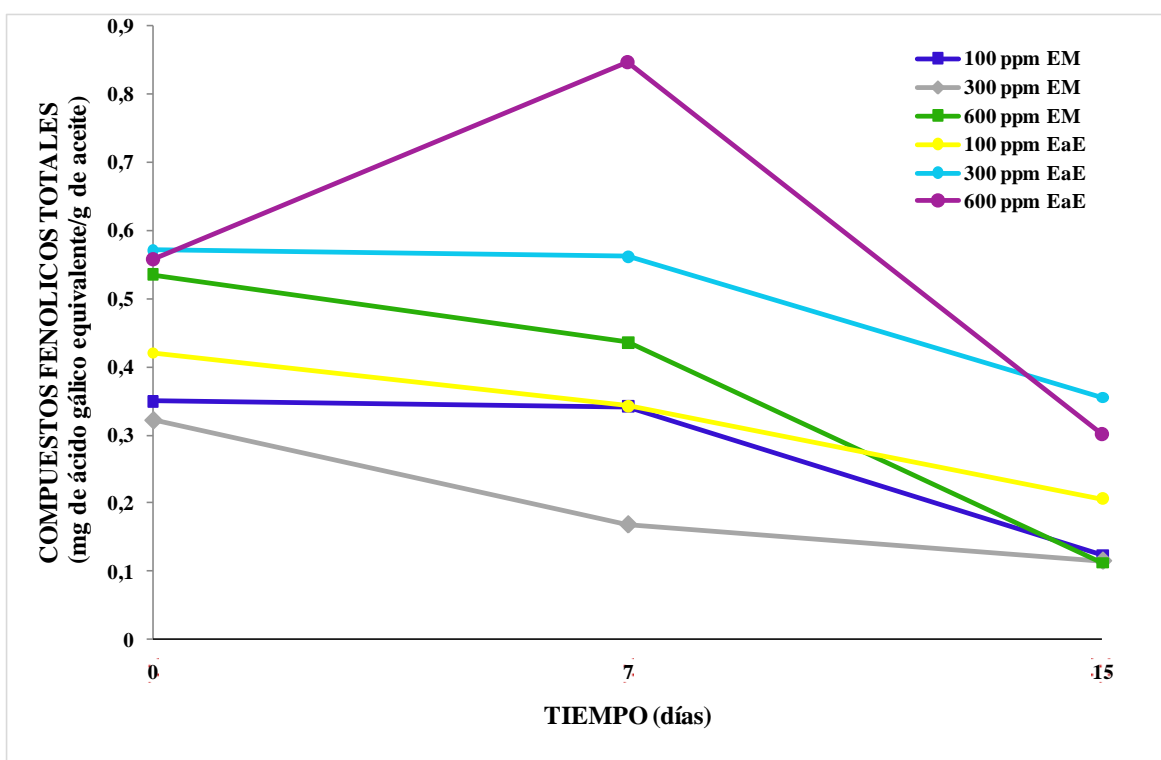


**Figura 14: Compuestos fenólicos totales en los aceites de soya con extractos antioxidantes (EM, EaE) del genotipo de mashua DP 0224 durante almacenamiento**

En la Figura 15: se muestra una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) de los valores promedios de la cantidad de compuestos fenólicos totales de los extractos fenólicos extraídas de las muestras de aceite de soya mezcladas con extractos antioxidantes EM y EaE del genotipo de mashua ARV 5366. Los valores promedios y su desviación estándar (+/- D.E.) se encuentran en el Anexo 2. Cuadro 6.

Comparando la estabilidad de los extractos antioxidantes en la oxidación del aceite de soya durante almacenamiento, se muestran en un orden descendente del promedio de la cantidad de compuestos fenólicos totales: 600 ppm EaE, 300 ppm EaE, 600 ppm EM, 100 ppm EaE,

100 ppm EM, 300 ppm EM, con valores de contenido de compuestos fenólicos totales en el día 0 de 0.56, 0.57, 0.54, 0.42, 0.35 y 0.32 de mg ácido gálico equivalente/g de aceite y a los 15 días de almacenamiento de 0.30, 0.35, 0.11, 0.21, 0.12 y 0.12 mg ácido gálico equivalente/g de aceite. Con porcentajes de degradación de compuestos fenólicos en el aceite de 46, 39, 80, 50, 66 y 62 %, respectivamente. Los resultados indican menor degradación de compuestos fenólicos totales la muestra de aceite con 300 ppm de EaE del genotipo ARV 5366.



**Figura 15: Compuestos fenólicos totales en los aceites de soya con extractos antioxidantes (EM, EaE) del genotipo de mashua ARV 5366 durante almacenamiento**

La degradación de los compuestos fenólicos totales presentó un comportamiento variado entre las muestras de aceites con extractos antioxidantes EM y EaE de genotipos ARB 5241, DP 0224 y ARV 5366 y dentro de ellas los que presentaron menor degradación de los compuestos fenólicos después de los 15 días de almacenamiento a 55°C fueron los EaE a 300 ppm de ARB 5241, DP 0224 y ARV 5366. Rice-Evans et al. (1996) menciona que la eficacia antioxidante varía en función a su solubilidad relativa en fase acuosa o lipofílica

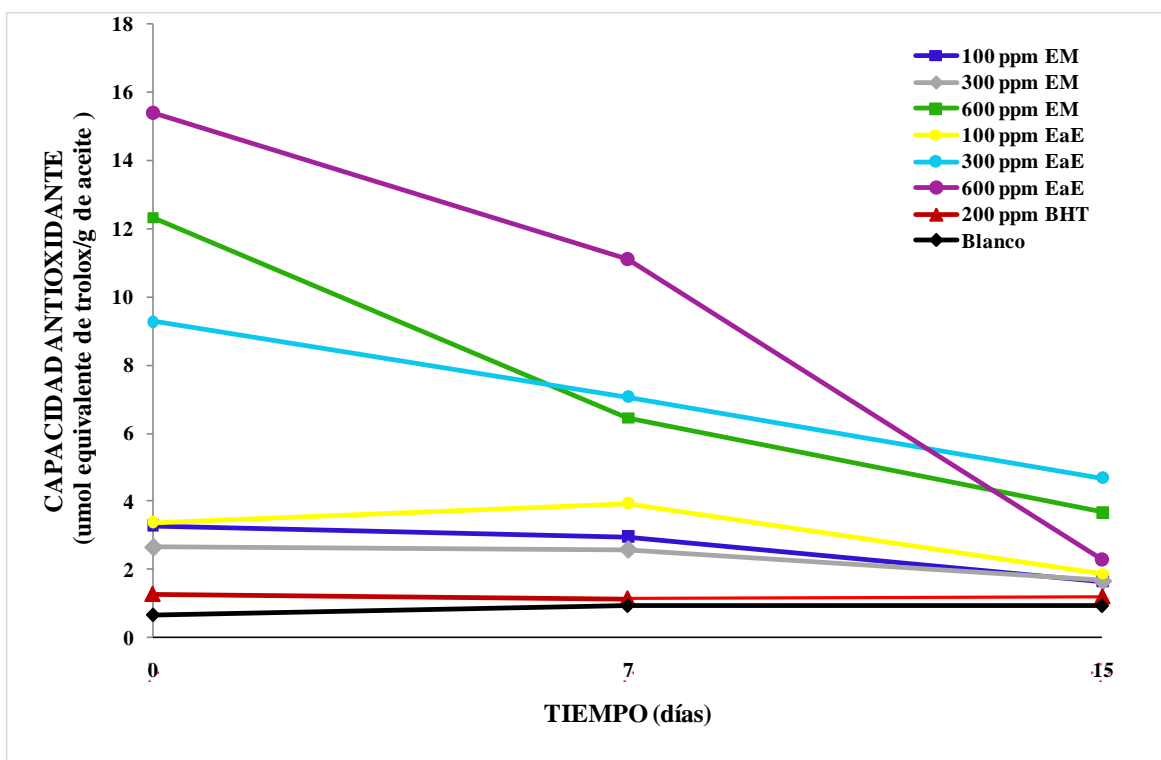
que afecta a la accesibilidad a los radicales peroxi y la volatilidad a lo largo del almacenamiento.

Los resultados muestran que la fracción de acetato de etilo contiene potentes antioxidantes que mejoran la estabilidad oxidativa del aceite de soya. Chirinos et al. (2008b) muestra que la fracción de acetato de etilo tiene carácter hidrófobo. Pokorny et al. (2005) menciona que los antioxidantes hidrofílicos están orientados a la interface aceite-aire proporcionando una protección óptima contra el radical oxígeno, mientras que los antioxidantes hidrofóbicos se disuelven en la fase lipídica homogénea y se orientan a la interface aceite-agua y son considerados como antioxidantes más efectivos.

#### **4.3.3 Estabilidad de la capacidad antioxidante durante el almacenamiento del aceite de soya**

En la Figura 16, se muestra una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) de los valores promedios de la capacidad antioxidante de los extractos fenólicos extraídas de las muestras de aceite de soya mezcladas con extractos antioxidantes EM y EaE del genotipo de mashua ARB 5241. Los valores promedios y su desviación estándar (+/- D.E.) se encuentran en el Anexo 2 (Cuadro 7).

Comparando la capacidad antioxidante de los extractos fenólicos obtenidos durante la oxidación del aceite de soya, se muestran en un orden descendente: 600 ppm-EaE, 600 ppm-EM, 300 ppm-EaE, 100 ppm-EaE, 100 ppm-EM, 300 ppm-EM, 200 ppm-BHT, Blanco (sin antioxidante), con valores en el día 0 de 15.42, 12.32, 9.28, 3.37, 3.29, 2.66 y 1.27  $\mu\text{mol}$  equivalente de trolox/g de aceite y después de 15 días de almacenamiento de 2.28, 3.68, 4.69, 1.88, 1.66, 1.67 y 1.20  $\mu\text{mol}$  equivalente de trolox/g de aceite, con disminución de la capacidad antioxidante en un 85, 70, 49, 44, 49, 37 y 5 %, respectivamente. Los resultados indican que a los 15 días de almacenamiento se encontró mayor estabilidad a 300 ppm del EaE del genotipo ARB 5241 en la oxidación del aceite de soya.

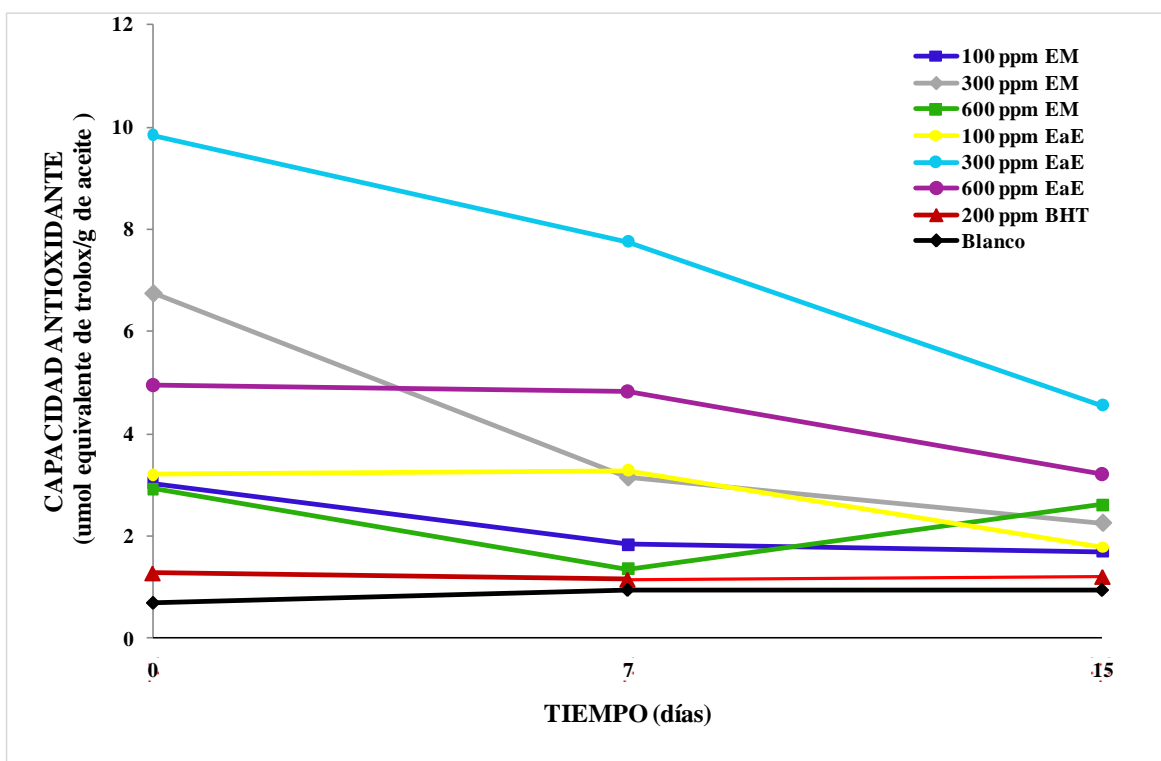


**Figura 16: Capacidad antioxidante en los aceites de soja con extractos antioxidantes (EM, EaE) del genotipo de mashua ARB 5241, BHT durante almacenamiento**

En la Figura 17, se muestra una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) de los valores promedios de la capacidad antioxidante de los extractos fenólicos extraídas de las muestras de aceite de soja mezcladas con extractos antioxidantes EM y EaE del genotipo de mashua DP 0224. Los valores promedios y su desviación estándar (+/- D.E.) se encuentran en el Anexo 2 (Cuadro 8).

Comparando la capacidad antioxidante de los extractos fenólicos obtenidos durante la oxidación del aceite de soja, se muestran en un orden descendente: 300 ppm-EaE, 600 ppm-EaE, 300 ppm-EM, 100 ppm-EaE, 600 ppm-EM, 100 ppm-EM, 200 ppm-BHT, Blanco (sin antioxidante), con valores en el día 0 de 9.84, 4.94, 6.75, 3.20, 2.91, 3.03 y 1.27 umol equivalente de trolox/g de aceite y después de 15 días de almacenamiento de 4.55, 3.20, 2.24, 1.78, 2.60, 1.68 y 1.20 umol equivalente de trolox/g de aceite, con disminución de la capacidad antioxidante en un 54, 35, 67, 44, 11, 44 y 5 %, respectivamente. Los resultados indican que a los 15 días de almacenamiento se encontró

mayor estabilidad a 300 ppm del EaE del genotipo DP 0224 en la oxidación del aceite de soya.

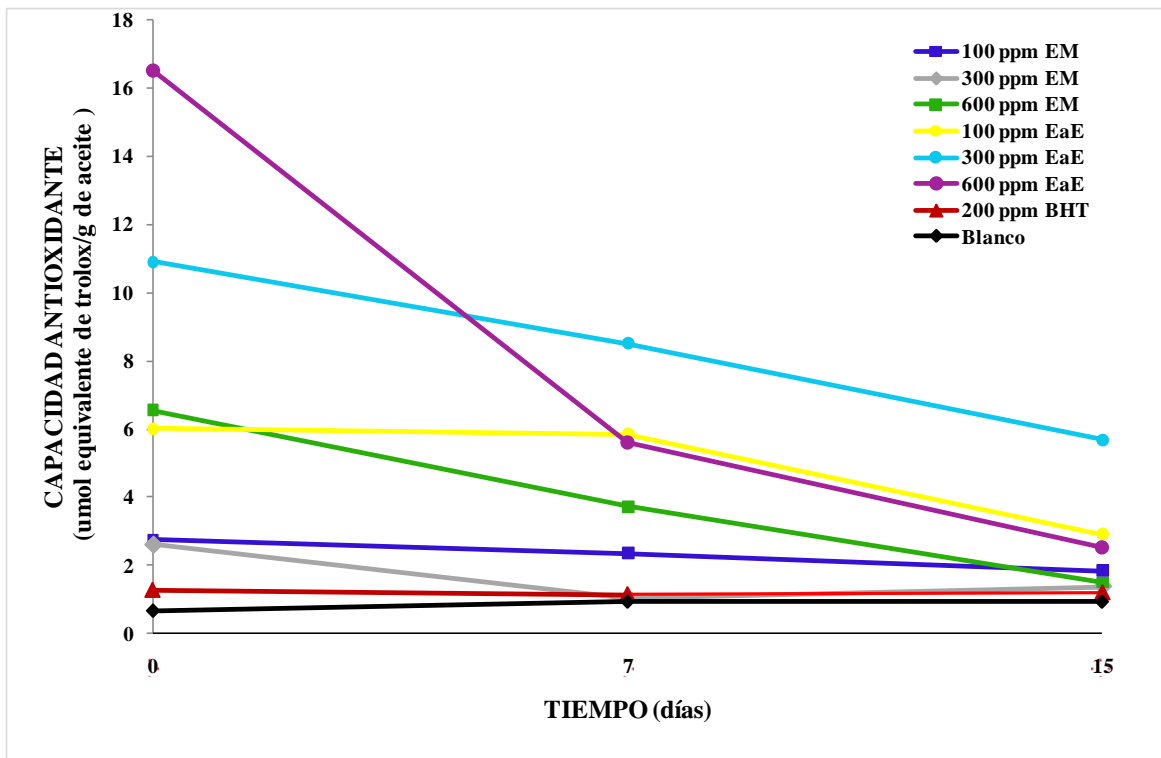


**Figura 17: Capacidad antioxidante en los aceites de soya con extractos antioxidantes (EM, EaE) del genotipo de mashua DP 0224, BHT durante almacenamiento**

En la Figura 18, se muestra una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) de los valores promedios de la capacidad antioxidante de los extractos fenólicos extraídas de las muestras de aceite de soya mezcladas con extractos antioxidantes EM y EaE del genotipo de mashua ARV 5366. Los valores promedios y su desviación estándar (+/- D.E.) se encuentran en el Anexo 2 (Cuadro 9).

Comparando la capacidad antioxidante de los extractos fenólicos obtenidos durante la oxidación del aceite de soya, se muestran en un orden descendente: 300 ppm-EaE, 600 ppm-EaE, 100 ppm-EaE, 600 ppm-EM, 100 ppm-EM, 300 ppm-EM, 200 ppm-BHT, Blanco (sin antioxidante), con valores en el día 0 de 10.90, 16.51, 6.00, 6.55, 2.76, 2.61 y 1.27 umol equivalente de trolox/g de aceite y después de 15 días de almacenamiento de 5.68, 2.54, 2.91, 1.50, 1.83, 1.38 y 1.20 umol equivalente de trolox/g de aceite,

respectivamente, reduciendo la capacidad antioxidante en 48, 85, 51, 77, 34, 47 y 5 %. Los resultados indican que a los 15 días de almacenamiento se encontró mayor estabilidad a 300 ppm del EaE del genotipo ARV 3566 en la oxidación del aceite de soya.



**Figura 18:** Capacidad antioxidante en los aceites de soya con extractos antioxidantes (EM, EaE) del genotipo de mashua ARV 5366, BHT durante almacenamiento

El aceite de soya con 300 ppm del EaE de los genotipos ARB 5241, DP 0224 y ARV 5366 presentó mayor capacidad antioxidante después de los 15 días de almacenamiento, También se observa la variación en la disminución de la capacidad antioxidante, indicando que a mayor concentración menor capacidad antioxidante. Pokorni et al., (2004) menciona que la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos no solo depende de las características estructurales ya que no siempre se correlaciona con la presencia de grandes compuestos fenólicos sino también de otros factores como la temperatura, concentración del antioxidante, polaridad del antioxidante, estado físico del sistema y de la presencia de numerosos microcompuestos que pueden actuar como prooxidantes o sinergistas (Laguerre 2007). He et al. (2012) menciona que la naturaleza compleja y reactiva de los

extractos antioxidantes en muchos casos provocan reacciones de oxidación, condensación, polimerización e hidrólisis enzimática.

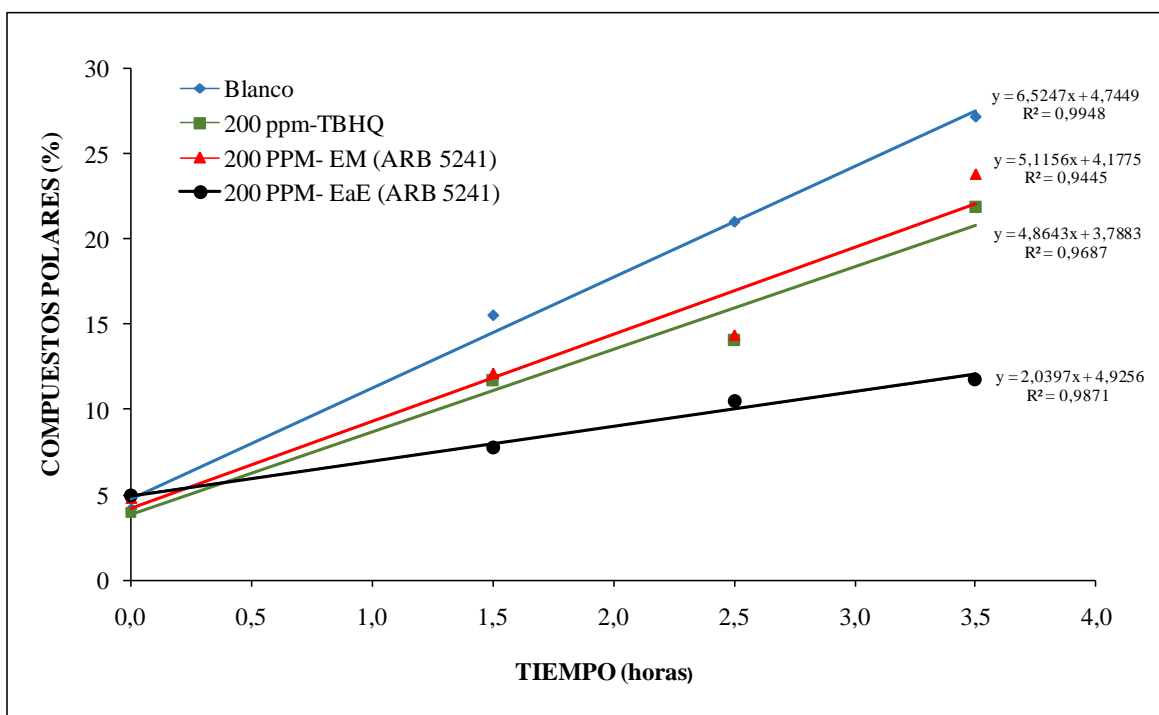
#### **4.4 Evaluación de los extractos antioxidantes de mashua en la estabilidad oxidativa del aceite de soya durante la fritura**

Se evaluó el efecto de los extractos antioxidantes EM y EaE del genotipo ARB 5241 y TBHQ a 200 ppm en la estabilidad oxidativa de aceite de soya durante la fritura, analizados en tiempos de 0, 1,5, 2,5 y 3,5 horas a  $180\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$ , con intervalos de fritura de papas cada 30 min realizando en total ocho eventos de fritura. Aladedunye et al. (2015) menciona que ocurren diferentes reacciones fisicoquímicas durante el proceso de fritura que son bastante complejas lo que resulta en una modificación del aceite de fritura. Por tanto la estabilidad de la oxidación del aceite de soya durante la fritura fue evaluada mediante el porcentaje de compuestos polares, dienos y trienos conjugado

##### **4.4.1 Compuestos polares**

La evaluación del efecto de los extractos antioxidantes de mashua en la estabilidad oxidativa del aceite de soya durante la fritura se evaluó mediante el porcentaje de compuestos polares. Aladedunye et al. (2015) mencionaron que el porcentaje de compuestos polares es uno de los indicadores más utilizados en la estabilidad oxidativa de los aceites, estas son representados por los productos de degradación de naturaleza polar formados por componentes no volátiles y poliméricos formado por reacciones que se producen durante el proceso de fritura. Abdulkarim et al. (2007) señalaron que el nivel de compuestos polares es un buen indicador de la cantidad total de compuestos recién formados que tiene mayor polaridad que la de triacilglicerolos.

En la Figura 19, se muestra el aumento significativo ( $p < 0.05$ ) del porcentaje de compuestos polares durante 3.5 horas de fritura y la diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) del efecto de los extractos antioxidantes 200 ppm-EM (ARB 5241), 200 ppm-EaE (ARB 5241), 200 ppm-TBHQ y blanco. Todos los valores promedios y su respectiva desviación estándar (+/- D.E.) se encuentran representados en el Anexo 3 (Cuadro 1).



**Figura 19: Porcentaje de compuestos polares en aceite de soya con extractos antioxidantes (EM, EaE) del genotipo ARB 5241 y TBHQ durante el proceso de fritura de papas**

Comparando los promedios del porcentaje de compuestos polares entre los extractos antioxidantes se muestra un orden ascendente: 200 ppm-EaE (ARB 5241), 200 ppm-TBHQ, 200 ppm-EPM (ARB 5241), Blanco (sin antioxidante). Los valores de compuestos polares al final de las 3.5 horas de fritura fue de 11.81, 14.07, 23,83 y 27.18 %, respectivamente. Los resultados muestran que después de 8 frituras de papas en el aceite de soya con extractos antioxidantes EaE, EM y TBHQ no pasaron el límite máximo de 24-27% para ser desechados (Farhoosh y Tavassoli 2010). Pokorny et al. (2005) mencionaron que la pérdida de antioxidantes naturales en el aceite durante la fritura es relativamente pequeña y es mucho menor que los antioxidantes sintéticos comunes. Aladedunye y Matthäus (2014) mencionaron que es posible que los polifenoles actúen como inhibidores de la polimerización.

En el análisis de regresión lineal del efecto de extractos antioxidantes de mashua en la estabilidad oxidativa del aceite de soya durante la fritura, observándose que a 200 ppm del EaE del genotipo de mashua ARB 4251, por cada hora de fritura aumentó 2.04 % de compuestos polares, comparado con el TBHQ que por cada hora de fritura aumentó 4.86 %



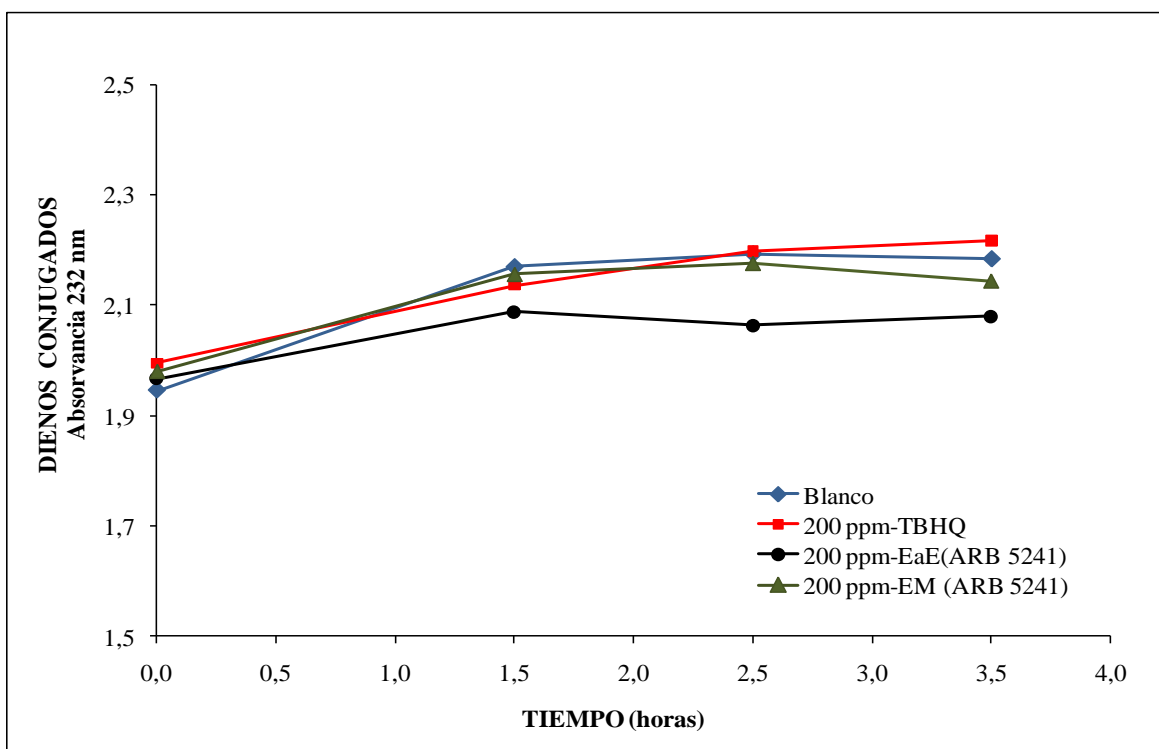
de compuestos polares, indicando que el extractos antioxidantes fenólicos de mashua de la fracción acetato de etilo otorgan mayor estabilidad oxidativa del aceite de soya durante la fritura. Chirino et al. (2008a) muestra que la fracción de acetato de etilo tiene carácter hidrofóbicos y afinidad con flavonoles, flavan 3-oles y ácidos fenólicos. Además Aladedunye et al. (2014) mencionaron que los compuesto fenólicos lipofílicos presentan mayor solubilidad en el aceite de freír, asegurando mayor interacción con los hidroperóxidos de los lípidos.

#### **4.4.2 Dienes conjugados**

La evaluación del efecto de los extractos antioxidantes de mashua en la estabilidad oxidativa del aceite de soya durante la fritura también se evaluó mediante dienos conjugados que presentan una absorción intensa a 232 nm. Los dienos conjugados dependen principalmente de la etapa de oxidación primaria (Besbes et al. 2005). Casal et al. (2010) mencionan que la absorción a 232 nm está correlacionada con la formación de dienos conjugados de ácidos grasos poliinsaturados.

En la Figura 20, se muestra un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) de los dienos conjugados en las muestras de aceite sometidas a 3.5 horas de fritura. Los valores promedios más su respectiva desviación estándar (+/- D.E.) se encuentran representados en el Anexo 3 (Cuadro 2).

Comparando los valores de dienos conjugados entre los extractos antioxidantes se muestran en un orden ascendente: 200 ppm EaE (ARB 5241), 200 ppm-EM (ARB 5241), Blanco, 200 ppm TBHQ mostrando valores después de 3,5 horas de fritura de 2.08, 2.14, 2.18 y 2.22, respectivamente. La formación de dienos conjugados en el aceite fue inhibida hasta 5, 2 y -2 % en comparación con la muestra en blanco. Los resultados muestran que el EaE del genotipo ARB 5241 presentó mayor estabilidad en la oxidación del aceite de soya durante la fritura.



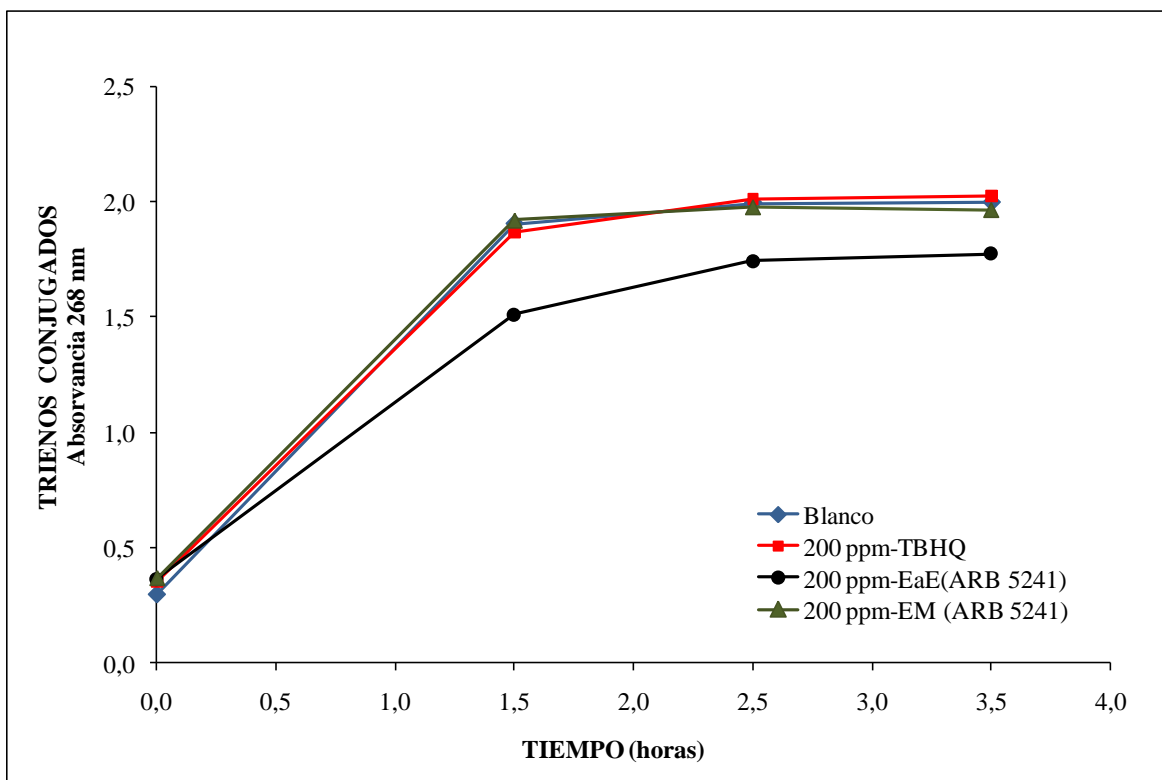
**Figura 20: Dienos conjugados en aceite de soja con extractos antioxidantes (EM, EaE) del genotipo ARB 5241 de mashua y TBHQ durante el proceso de fritura**

También se observa que las lecturas de absorbancia del EM, TBHQ y blanco fue significativamente ( $P < 0,05$ ) mayor que la EAE. Además se observa que el TBHQ aumenta las lecturas de absorbancia linealmente y el extracto antioxidante de mashua (EaE) después de 1,5 horas disminuye la lectura de absorbancia. Aladedunye et al. (2015) menciona que los productos de oxidación primaria son inestables en condiciones de fritura y se descomponen en una serie de productos de oxidación secundarios como los carbonilos y aldehídos. Aunque algunos de los aldehídos producidos son volátiles y perdidas por evaporación durante la fritura. Farmer y Sutton (2002) indicaron que el aumento de absorción debido a la formación de dienos conjugados es proporcional a la absorción de oxígeno y la formación de peróxidos durante las primeras etapas de oxidación.

#### 4.4.3 Trienos conjugados

La evaluación del efecto de los extractos antioxidantes de mashua en la estabilidad oxidativa del aceite de soja durante la fritura también se evaluó mediante trienos

conjugados que presentan una absorción intensa a 268 nm. Los trienos conjugados están relacionados con la presencia de algunos compuestos de oxidación secundaria particularmente los que contienen un grupo funcional carbonilo, tales como aldehídos y cetonas (Besbes et al. 2005). En la Figura 21, se muestra un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) de los trienos conjugados en las muestras de aceite sometidas a 3.5 horas de fritura. Los valores promedios más su respectiva desviación estándar (+/- D.E.) se encuentran representados en el Anexo 3 (Cuadro 3).



**Figura 21: Trienos conjugados en aceite de soya con extractos antioxidantes (EM, EaE) del genotipo ARB 5241 de mashua, TBHQ y Blanco durante el proceso de fritura de papas**

Comparando los valores promedios de trienos conjugados entre los extractos antioxidantes se muestran en un orden ascendente: 200 ppm-EaE (ARB 5241), 200 ppm-EM (ARB 5241), Blanco, 200 ppm-TBHQ mostrando valores después de 3,5 horas de fritura de 2.08, 2.14, 2.18 y 2.22, respectivamente. La formación de trienos conjugados en el aceite fue inhibida hasta 11, 1,5 y -1,5 % en comparación con la muestra en blanco. Los resultados muestran que el EaE del genotipo ARB 5241 presenta mayor estabilidad en la oxidación del aceite de soya durante la fritura.

También se observa que las lecturas de absorbancia de EM, TBHQ y blanco (aceite sin antioxidante) no muestran diferencia significativa ( $P < 0,05$ ) en los resultados. Además se observa que a más tiempo de fritura, más altas son las lecturas de absorbancia de las muestras de aceites. Aladedunye y Matthäus (2014) mencionaron que los hidroperóxidos de los lípidos productos de oxidación primarios, son inestables bajo condiciones de fritura y se descomponen en una serie de productos de oxidación secundarios, con compuestos de carbonilo siendo el más prominente. Besbes et al. (2005) mencionaron que los trienos conjugados están relacionados con la presencia de algunos compuestos de oxidación secundarios después de la descomposición de los compuestos primarios.

## V. CONCLUSIONES

- Los extractos antioxidantes parcialmente purificados de la mashua resultaron eficaces en la protección oxidativa del aceite de soya.
- Entre los genotipos de mashua de coloración morada el ARB 5241 presentó mayor contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante.
- Durante el almacenamiento acelerado se determinó que la fracción acetato de etilo adicionada al aceite de soya en una concentración de 300 ppm, dio buenos resultados en la conservación del aceite de soya almacenada a 55°C por 15 días; lo que se demostró a través de una menor formación de peróxidos, Así mismo en estas condiciones los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante fueron estables. La eficacia antioxidante de estos extractos naturales fue superior a la obtenida con BHT.
- Durante la fritura se determinó que la fracción acetato de etilo obtenida del genotipo de mashua ARB 5241 fue eficaz en la conservación del aceite de soya sometido a fritura; lo que se demostró a través de una menor formación de compuestos polares, dienos y trienos.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Realizar investigaciones relacionadas con la capacidad antioxidante de mashua in vivo, para conocer el verdadero potencial funcional de este tubérculo en el organismo.
- Realizar un estudio del efecto del almacenamiento y procesamiento los compuestos fenólicos de la mashua.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- AOAC. 1995. Oficial Métodos of Análisis. Association of Analytical Chemistry. U.S.A., Editorial Board.
- Abdulkarim, S; Long, K; Lai, O; Muhammad, S; Ghazali, H. 2007. Frying quality and stability of high-oleic *Moringa oleifera* seed oil in comparison with other vegetable oils. Food chemistry 105(4): 1382-1389.
- Aladedunye, F; Matthäus, B. 2014. Phenolic extracts from *Sorbus aucuparia* (L.) and *Malus baccata* (L.) berries: Antioxidant activity and performance in rapeseed oil during frying and storage. Food Chemistry 159: 273-281.
- Amarowicz, RR; Rahimi-Moghaddam ;Barl, B; Weil, J. 2004. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. Food chemistry 84(4): 551-562.
- Araújo J, MA. 1999. Química de alimentos – Teoría y Práctica. 2 ed. Viçosa, UFV.
- Arnao, H. 2000. Some Methodological Problems in the Determination of Antioxidant Activity using Chomogen Radicals: a practical case. Trend in Food Science and Technology 11(11): 419-421.
- Balasundram, N; Sundram, K; Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food chemistry 99(1):191-203.
- Besbes, S; Blecker, C; Deroanne, C; Lognay, G; Drira, NE; Attia, H. 2005. Heating effects on some quality characteristics of date seed oil. Food chemistry 91(3): 469-476.
- Braverman, J. 1990. La Bioquímica de los alimentos. México, Editorial el manual moderno.

- Campos, D; Noratto, G; Chirinos, R; Arbizu, C; Roca, W; Cisneros Zevallos, L 2006. Antioxidant capacity and secondary metabolites in four species of Andean tuber crops: native potato (*Solanum sp.*), mashua (*Tropaeolum tuberosum Ruiz & Pavon*), Oca (*Oxalis tuberosa Molina*) and ulluco (*Ullucus tuberosus Caldas*). Journal of the Science of Food and Agriculture 86(10):1481-1488.
- Caroch, M; Ferreira, IC. 2013. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. Food and Chemical Toxicology 51:15-25.
- Casal, S; Malheiro, R; Sendas, A; Oliveira, B.P; Pereira, JA. 2010. Olive oil stability under deep-frying conditions. Food and chemical toxicology 48(10):2972-2979.
- Che Man, YB; Jaswir, I. 2000. Effect of rosemary and sage extracts on frying performance of refined, bleached and deodorized (RBD) palm olein during deep-fat frying. Food Chemistry 69:301–307.
- Chirinos, R; Campos, D; Betalleluz, I; Giusti, MM; Schwartz, SJ; Tian, Larondelle, Y. 2006. High-performance liquid chromatography with photodiode array detection (HPLC-DAD)/HPLC-mass spectrometry (MS) profiling of anthocyanins from Andean mashua tubers (*Tropaeolum tuberosum Ruiz and Pavon*) and their contribution to the overall antioxidant activity. Journal of agricultural and food chemistry 54(19):7089-7097.
- Chirinos, R; Campos, D; Costa, N; Arbizu, C; Pedreschi, R; Larondelle, Y. 2008a. Phenolic profiles of andean mashua (*Tropaeolum tuberosum Ruíz & Pavón*) tubers: Identification by HPLC-DAD and evaluation of their antioxidant activity. Food chemistry 106(3):1285-1298.
- Chirinos, R; Campos, D; Warnier, M; Pedreschi, R; Rees, J.F; Larondelle, Y. 2008b. Antioxidant properties of mashua (*Tropaeolum tuberosum*) phenolic extracts against oxidative damage using biological in vitro assays. Food chemistry 111(1):98-105.
- Chirinos, R; Pedreschi, R; Rogez, H; Larondelle, Y; Campos, D. 2013. Phenolic compound contents and antioxidant activity in plants with nutritional and/or



medicinal properties from the Peruvian Andean region. *Industrial Crops and Products* 47:145-152.

- Chirinos, R; Rogez, H; Campos, D; Pedreschi, R; Larondelle, Y. 2007. Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón) tubers. *Separation and Purification Technology* 55(2):217-225.
- Cirico, TL; Omaye, ST. 2006. Additive or synergetic effects of phenolic compounds on human low density lipoprotein oxidation. *Food and Chemical Toxicology* 44(4):510-516.
- Crosa, M.J; Skerl, V; Cadenazzi, M; Olazábal, L; Silva, R; Suburú, G; Torres, M. 2014. Changes produced in oils during vacuum and traditional frying of potato chips. *Food chemistry* 146:603-607.
- Espín, S. 2001. Composición química, valor nutricional y usos potenciales de siete especies de raíces y tubérculos andinos.
- Farhoosh, R; Pazhouhanmehr, S. 2009. Relative contribution of compositional parameters to the primary and secondary oxidation of canola oil. *Food chemistry* 114(3):1002-1006.
- Farhoosh, R; Tavassoli, MH. 2010. Polar compounds distribution of sunflower oil as affected by unsaponifiable matters of Bene hull oil (BHO) and tertiary-butylhydroquinone (TBHQ) during deep-frying. *Food chemistry* 122(1):381-385.
- Farmer, E.H; Sutton, D.A. 2002. Peroxidation in relation to oleifenic structure. In C. C. Akoh & D. B. Min (Eds.), *Food lipids: Chemistry, nutrition, and biotechnology* (2nd ed., pp. 470). New York, Marcel Dekker.
- Fennema, OR. 2000. *Química de los Alimentos*. España, Editorial Acribia. 1258 p. (Serie de Administración)
- Font, QP. 1982. *Diccionario de botánica*. Barcelona, Editorial Labor.
- Graciani, E. 2006. *Los aceites y grasas: composición y propiedades*. Madrid, España ISBN(Mundi-Prensa).

- Grau A; Ortega Dueñas R; Nieto CC; Hermann. 2003. Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav.). Promoting the conservation and use of under-utilized and neglected crops. 25. Lima, International Potato Center.
- Guo, H; Xia, M. 2013. Anthocyanins and Diabetes Regulation. In R. R. Watson, V. R. Preedy, S. Zibadi (Eds.), Polyphenols in Human Health and Disease. Amsterdam, Elsevier Academic Press. 83-93 p.
- He, J; Alister-Briggs, M; Lyster, T; Jones, GP. 2012. Stability and antioxidant potential of purified olive mill wastewater extracts. Food Chemistry, 131(4): 1312-1321.
- Iqbal, S; Bhangar, MI. 2007. Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. Food Chemistry 100(1):246-254.
- Ito, N; Hasegawa, R; Imaida, K; Hirose, M; Shirai, T. 1996. Mediumterm liver and multi-organ carcinogenesis bioassays for carcinogens and chemopreventive agents. Exp Toxicol Pathol 48(1):113-19.
- King, A; Young, G. 1999. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. Journal of the American Dietetic Association 99(2):213-218.
- Kumaran, A; Karunakaran, R.J. 2007. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five Phyllanthus species from India. LWT-Food Science and Technology 40(2):344-352.
- Laguerre, M; Lecomte, J; Villeneuve, P. 2007. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. Progress in lipid research 46(5):244-282.
- Lawson, H. 1999. Aceites y Grasas Alimentarios. España, Editorial Acribia S.A.
- Manrique, I; Arbizu, C; Vivanco, F, Gonzales, R, Ramírez, C; Chávez, O; Tay, D; Ellis, D. 2013. *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. Colección de germoplasma de mashua conservada en el Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Centro Internacional de la Papa.
- Martínez VI; Periago, MJ; Ros, G. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Latinoam. Nutr 50(1):5-18.

- Merriam, W. 2011. The merriam webster dictionary. <http://www.merriam-webster.com/dictionary/antioxidant> (2011) (01 de julio de 2014)
- Mohammadi, A; Jafari, S.M; Esfanjani, A.F; Akhavan, S. 2015. Application of nano-encapsulated olive leaf extract in controlling the oxidative stability of soybean oil. Food chemistry 190(1):513-519.
- Mohdaly, AAA; Iryna, S; Mohamed, FR; Mohamed, AS; Mahmoud, A. 2011. Antioxidant potential of sesame (*Sesamum indicum*) cake extract in stabilization of sunflower and soybean oils. Ind. Crops Prod 34:952–959.
- Moure, A; Cruz, JM; Franco, D; Domínguez, JM; Sineiro, J; Domínguez, H; Parajó, JC 2001. Natural antioxidants from residual sources. Food chemistry 72(2):145-171.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1989. Lost crops of the incas: Little-know plants of the Andes with promise for worldwide cultivation. Washington DC, National Academy Press.
- Naz, S; Sheikh, H; Siddiqi, R; Asad Sayeed, S. 2004. Oxidative stability of olive, corn and soybean oil under different conditions. Food Chemistry 88(2):253-259.
- Naz, S; Siddiqi, R; Sheikh, H; Sayeed, SA. 2005. Deterioration of olive, corn and soybean oils due to air, light, heat and deep-frying. Food Research International 38(2):127-134.
- Oroian, M., & Escriche, I. (2015). Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. Food Research International 74:10-36
- Pantelidis, G; Vasilakakis, M; Manganaris, G; Diamantidis, G. 2007. Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. Food chemistry 102(3):777-783.
- Patras, A; Brunton, NP.; Da Pieve, S; Butler, F. 2009. Impact of high pressure processing on total antioxidant activity, phenolic, ascorbic acid, anthocyanin content and colour of strawberry and blackberry purées. Innovative Food Science & Emerging Technologies 10(3):308-313.

- Pérez, J.J; Arranz, S; Tabernero, M; Díaz-Rubio, ME; Serrano, J; Goñi, I; Saura-Calixto, F. 2008. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research International* 41(3):274-285.
- Pérez-León, MH. 2005. Evaluación de las características funcionales de 10 cultivares de mashua (*Tropaeolum tuberosum*) en 6 estados de crecimiento y diferentes períodos de secado. Tesis Ing. Ind. Alim. Lima. UNALM.
- Pertuzatti, PB; Barcia, MT; Rodrigues, PN; Hermosín-Gutiérrez, I; Smith, R; Godoy, HT. 2014. Antioxidant activity of hydrophilic and lipophilic extracts of Brazilian blueberries. *Food Chemistry* 164:81-88.
- Pokorny, J; Yanishlieva, N; Gordon, M. 2005. Antioxidantes de los alimentos. España, Editorial Acribia. S.A.
- PROIMPA (Fundación para la promoción e investigación de productos andinos-proinpa) 2003. Investigaciones en el cultivo de isaño (*tropaeolum tuberosum*). Cochabamba: Fundación PROINPA.
- Ramallo, R; Wathelet, JP; Le Boulengé, E; Torres, E, Marlier, M; Ledent, JF;. . . Larondelle, Y. 2004. Glucosinolates in isano (*Tropaeolum tuberosum*) tubers: qualitative and quantitative content and changes after maturity. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84(7):701-706.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine* 26(9):1231-1237.
- Rice-Evans, C; Miller, N; Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in plant science* 2(4):152-159.
- Rice-Evans, CA; Miller, NJ; Paganga, G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical biology and medicine* 20(7):933-956.
- Ríos Lucci, CP. 2004. Contribución al estudio de algunos compuestos bioactivos y de la capacidad antioxidante presente en 10 genotipos de mashua y a la evaluación de su estabilidad. (Tesis inédita de pre grado). Universidad Nacional Agraria la Molina. Perú.

- Robles, E. 1981. Origen y evolución de la oca, ullucu y mashua. Perú, Universidad Nacional Agraria la Molina.
- Sagdic, O; Ozturk, I; Ozkan, G; Yetim, H; Ekici, L; Yilmaz, MT. 2011. RP-HPLC–DAD analysis of phenolic compounds in pomace extracts from five grape cultivars: Evaluation of their antioxidant, antiradical and antifungal activities in orange and apple juices. *Food Chemistry* 126(4):1749-1758.
- Sikwese, F; Duodu, KG. 2007. Antioxidant effect of a crude phenolic extract from sorghum bran in sunflower oil in the presence of ferric ions. *Food chemistry* 104(1): 324-331.
- Singleton, V.L; Rosi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16:144-158
- Smith, O. 1968. Potatoes: production, storing, processing. Potatoes: production, storing, processing.
- Sperling, CR; King, SR; Janick, J; Simon, J. 1990. Andean tuber crops: worldwide potential. Paper presented at the Advances in new crops. Proceedings of the first national symposium New crops: research, development, economics', Indianapolis, Indiana, USA, 23-26 October 1988.
- Suja, K; Abraham, JT; Thamizh, SN; Jayalekshmy, A; Arumughan, C. 2004. Antioxidant efficacy of sesame cake extract in vegetable oil protection. *Food Chemistry* 84(3):393-400.
- Tapia, ME, Fries, AM. 2007. Guía de campo de los cultivos andinos. Lima: FAO y ANPE
- Tsao, R; Deng, Z. 2004. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *Journal of chromatography B* 812(1): 85-99.
- Urbancic, S; Kolar, MH, Dimitrijević, D; Demšar, L; Vidrih, R. 2014. Stabilisation of sunflower oil and reduction of acrylamide formation of potato with rosemary extract during deep-fat frying. *LWT-Food Science and Technology* 57(2):671-678.
- Vieira, F.S; Pasquini, C. 2013. Near infrared emission photometer for measuring the oxidative stability of edible oils. *Analytica chimica acta* 796:101-107.

- Vieira, T.M; Regitano M. A. 2001. Canola oil thermal oxidation during oven test and microwave heating. *LWT-Food Science and Technology* 34(4):215-221.
- Watson, R.R; Preedy, V.R. 2013. Bioactive food as dietary interventions for liver and gastrointestinal disease: Chapter 34 – Antioxidant Capacity of Medicinal Plants. Aguirre, A; Borneo, R. USA, Academic Press. 244–282 p.
- Zambrano, ZEE. 2004. Estudio de la variabilidad de melloco (*Ullucus tuberosus Caldas*), oca (*Oxalis tuberosa Molina*) y mashua (*tropaeolum tuberosum Ruiz & Pavon*) en finca de agricultores Colta-Chimborazo. Tesis inédita de pre grado. Quito. Universidad Central de Ecuador.
- Zheng, W; Wang, S. Y. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agricultural and Food chemistry* 49(11):5165-5170.
- Ziller, S. 1996. Grasas y Aceites Alimentarios. Zaragoza, España, Editorial Acribia.

**ANEXO**

## Anexo 1:

### Obtención de extractos antioxidantes

**Cuadro 1. Contenido de humedad y materia seca de tres genotipos de mashua**

Genotipo	Humedad (%)	Promedio	Desviación estándar	Materia Seca (%)	Promedio	Desviación estándar
ARB 5241	95.2	95.2	0.4	4.8	4.8	0.0
	95.6			4.4		
	95.8			4.2		
	94.9			5.1		
	95.0			5.0		
	95.0			5.1		
DP 0224	94.8	94.5	0.3	5.2	5.5	0.0
	94.8			5.2		
	94.3			5.7		
	95.0			5.4		
	94.1			5.9		
	94.1			5.9		
ARV 5366	95.1	95.5	0.8	4.9	4.5	0.0
	96.3			3.7		
	96.7			3.4		
	94.9			5.1		
	95.1			4.9		
	95.0			5.1		

#### Análisis de varianza

**Variable dependiente:** % de humedad

**Niveles:** Genotipo de mashua

#### Cuadro de ANOVA

Origen	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	Fc.	Sig.
<b>Inter-grupos</b>	3.272	2	1.636	5.803	0.014
<b>Intra-grupos</b>	4.228	15	0.282		
<b>Total</b>	7.500	17			

#### Prueba de comparación de medias (DHS de DUNCAN)

Extractos fenólicos purificados	N	Grupos homogéneos	
		1	2
DP 0224	6	94.5	
ARB 5241	6		95.2
ARV 5366	6		95.2
Sig.		1.000	01426



**Cuadro 2. Resultados de determinación de compuestos fenólicos de los extractos antioxidantes**

<b>Extracto</b>	<b>Genotipo</b>	<b>mg ácido gálico equivalente/ml</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación estándar</b>
EB (Extracto bruto)	ARB 5241	2,52	2,54	0,02
		2,56		
		2,53		
	DP 0224	2,74	2,66	0,07
		2,62		
		2,62		
	ARV 5366	2,57	2,57	0,01
		2,55		
		2,57		
EM (Extracto metanólico)	ARB 5241	9,23	9,32	0,16
		9,23		
		9,50		
	DP 0224	6,88	6,91	0,05
		6,96		
		6,89		
	ARV 5366	8,45	8,47	0,03
		8,50		
		8,47		
EaE (Extracto-Acetato de etilo)	ARB 5241	4,76	4,75	0,01
		4,73		
		4,75		
	DP 0224	2,60	2,56	0,04
		2,55		
		2,52		
	ARV 5366	4,94	4,93	0,01
		4,94		
		4,92		

## Análisis de varianza

### Variable dependiente:

- Compuestos fenólicos (mg ácido gálico equivalente/ml)

### Variabes independientes:

- Genotipos de mashua (ARB 5241, DP 0224, ARV 5366)
- Extractos antioxidantes (EB, EM, EaE)

### Cuadro de ANOVA

Origen	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	Fc.	Sig.
<b>A:</b> Extractos antioxidantes	154,178	2	77,089	20286,617	0,000
<b>B:</b> Genotipos	11,738	2	5,869	1544,424	0,000
A*B	7,736	4	1,934	508,953	0,000
Error	,068	18	0,004		
Total	839,750	27			
<b>Total corregida</b>	<b>173,720</b>	<b>26</b>			

Coefficiente de determinación ( $R^2$ )=0,99

### Comparación de medias de grupos homogéneos (DHS de DUNCAN)

Extractos fenólicos purificados	N	Grupos homogéneos		
		1	2	3
EB (Extracto bruto)	9	2,59		
EaE (Extracto-acetato de etilo)	9		4,08	
EM (Extracto-metanólico)	9			8,23
Sig.		1.00	1.00	1.00

Genotipo	N	Grupos homogéneos		
		1	2	3
DP 0224	9	4,04		
ARV 5366	9		5,32	
ARB 5241	9			5,53
Sig.		1.00	1.00	1.00

**Cuadro 3. Resultados de determinación de capacidad antioxidante de los extractos antioxidantes**

<b>Extracto</b>	<b>Genotipo</b>	<b>Trolox equivalente/ml</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación estándar</b>
EB (Extracto bruto)	ARB 5241	60,41	56,12	4,96
		50,69		
		57,27		
	DP 0224	34,96	41,39	5,87
		42,72		
		46,48		
	ARV 5366	48,60	49,93	3,60
		47,19		
		54,00		
EM (Extracto metanólico)	ARB 5241	111,23	114,52	2,94
		116,87		
		115,46		
	DP 0224	88,72	91,42	2,34
		92,66		
		92,89		
	ARV 5366	116,83	116,15	0,60
		115,67		
		115,97		
EaE (Extracto-Acetato de etilo)	ARB 5241	32,11	31,35	1,24
		29,91		
		32,03		
	DP 0224	28,19	27,46	0,74
		27,48		
		26,70		
	ARV 5366	26,78	28,29	1,39
		29,52		
		28,58		

## Análisis de varianza

### Variable dependiente:

- Capacidad antioxidante (Trolox equivalente/g MS)

### Variabes independientes:

- Genotipos de mashua (ARB 5241, DP 0224, ARV 5366)
- Extractos antioxidantes (EB, EM, EaE)

### Cuadro de ANOVA

Origen	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	Fc.	Sig.
A: Extractos antioxidantes	29790,677	2	14895,339	1480,323	0,000
B: Genotipo	987,599	2	493,800	49,075	0,000
A*B	513,990	4	128,497	12,770	0,000
Error	181,120	18	10,062		
Total	134756,083	27			
<b>Total corregida</b>	<b>31473,386</b>	<b>26</b>			

Coefficiente de determinación ( $R^2$ )=0,994

### Comparación de medias de grupos homogéneos (DHS de DUNCAN)

Extractos fenólicos purificados	N	Grupos homogéneos		
		1	2	3
EaE (Extracto-acetato de etilo)	9	29,03		
EB (Extracto bruto)	9		49,15	
EM (Extracto-metanólico)	9			107,37
<b>Sig.</b>		<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>

Genotipo	N	Grupos homogéneos		
		1	2	3
DP0224	9	53,42		
ARV5366	9		64,79	
ARB5241	9		67,33	
<b>Sig.</b>		<b>1,000</b>	<b>0,107</b>	

## Anexo 2:

### Resultados de evaluación del efecto de extractos antioxidantes de mashua en la oxidación del aceite de soya durante almacenamiento acelerado

**Cuadro 1. Resultados de Índice de peróxido del aceite de soya con extractos antioxidantes (EM y EaE) del genotipo ARB 5241 de mashua y BHT**

Extractos antioxidantes	Tiempo	meq O <sub>2</sub> /kg de aceite		Promedio	Desviación estándar
		R1	R2		
100 ppm EM	0	3,79	4,03	3,91	0,17
	7	13,99	7,64	10,81	4,49
	15	32,39	60,26	46,33	19,71
300 ppm EM	0	4,63	4,46	4,55	0,12
	7	7,12	9,35	8,24	1,57
	15	41,57	39,22	40,40	1,66
600 ppm EM	0	3,36	3,58	3,47	0,15
	7	7,11	7,73	7,42	0,44
	15	16,99	18,98	17,99	1,41
100 ppm EaE	0	3,57	5,73	4,65	1,52
	7	11,70	8,00	9,85	2,61
	15	42,72	30,75	36,74	8,47
300 ppm EaE	0	3,15	2,90	3,03	0,18
	7	6,11	5,45	5,78	0,47
	15	11,27	11,76	11,52	0,35
600 ppm EaE	0	4,82	4,95	4,89	0,09
	7	8,99	9,02	9,00	0,02
	15	26,35	27,49	26,92	0,80
200 ppm BHT	0	4,63	4,42	4,52	0,15
	7	8,23	6,95	7,59	0,90
	15	28,15	39,13	33,64	7,76
Blanco	0	4,88	4,63	4,76	0,18
	7	8,94	8,37	8,65	0,40
	15	84,51	95,08	89,79	7,47

## Análisis de varianza

### Variable dependiente:

- Índice de peróxido (meq O<sub>2</sub>/kg de aceite)

### Variabes independientes:

- Extractos antioxidantes: 100 ppm EM, 300 ppm EM, 600 ppm EM, 100 ppm EaE, 300 ppm EaE, 600 ppm EaE, 200 ppm BHT y Blanco
- Tiempo: 0, 7 y 15 días

### Cuadro de ANOVA

Origen	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	Fc.	Sig.
<b>A:</b> Extractos antioxidantes	2927,485	7	418,212	16,322	0,000
<b>B:</b> Tiempo	10789,072	2	5394,536	210,536	0,000
<b>A*B</b>	5118,235	14	365,588	14,268	0,000
Error	614,948	24	25,623		
Total	33079,946	48			
<b>Total corregida</b>	19449,740	47			

Coefficiente de determinación ( $R^2$ )=96,8%

### Comparación de medias de grupos homogéneos (DUNCAN)

Extractos antioxidantes	N	Grupos homogéneos				
		1	2	3	4	5
300 ppm-EaE	6	6,77				
600 ppm-EM	6	9,63	9,63			
600 ppm-EaE	6		13,61	13,61		
200 ppm-BHT	6		15,25	15,25	15,25	
100 ppm-EaE	6			17,08	17,08	
300 ppm-EM	6			17,73	17,73	
100 ppm-EM	6				20,35	
Blanco	6					34,40
<b>Sig.</b>		<b>0,35</b>	<b>0,08</b>	<b>0,21</b>	<b>0,12</b>	<b>1,00</b>

Tiempo de almacenamiento	N	Grupos homogéneos		
		1	2	3
0 día	16	4,22		
7 día	16		8,42	
15 día	16			37,92
<b>Sig.</b>		1,00	1,00	1,00

**Cuadro 2. Resultados de Índice de peróxido del aceite de soya con extractos antioxidantes (EM y EaE) del genotipo DP 0224 de mashua y BHT**

Extractos antioxidantes	Tiempo	meq O <sub>2</sub> /kg de aceite		Promedio	Desviación estándar
		R1	R2		
100 ppm EM	0	3,89	3,92	3,91	0,02
	7	9,37	7,57	8,47	1,27
	15	17,14	33,80	25,47	11,78
300 ppm EM	0	3,57	3,31	3,44	0,19
	7	5,30	5,90	5,60	0,43
	15	8,96	11,07	10,02	1,50
600 ppm EM	0	3,79	3,88	3,83	0,07
	7	5,95	6,10	6,03	0,11
	15	25,17	38,72	31,94	9,58
100 ppm EaE	0	3,36	2,89	3,13	0,34
	7	18,34	24,07	21,21	4,06
	15	48,69	52,52	50,61	2,71
300 ppm EaE	0	2,94	4,73	3,84	1,27
	7	7,73	6,55	7,14	0,84
	15	15,12	15,76	15,44	0,45
600 ppm EaE	0	5,06	4,69	4,88	0,26
	7	7,49	7,28	7,38	0,15
	15	15,67	14,91	15,29	0,54
200 ppm BHT	0	4,63	4,42	4,52	0,15
	7	8,23	6,95	7,59	0,90
	15	28,15	39,13	33,64	7,76
Blanco	0	4,88	4,63	4,76	0,18
	7	8,94	8,37	8,65	0,40
	15	84,51	95,08	89,79	7,47

## Análisis de varianza

### Variable dependiente:

- Índice de peróxido (meq O<sub>2</sub>/kg)

### Variabes independientes:

- Extractos antioxidantes: 100 ppm EM, 300 ppm EM, 600 ppm EM, 100 ppm EaE, 300 ppm EaE, 600 ppm EaE, 200 ppm BHT y Blanco
- Tiempo: 0, 7 y 15 días

### Cuadro de ANOVA

Origen	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	Fc.	Sig.
<b>A:</b> Extractos antioxidantes	3755,060	7	536,437	34,033	0,000
<b>B:</b> Tiempo	8268,339	2	4134,169	262,282	0,000
<b>A*B</b>	6073,595	14	433,828	27,523	0,000
Error	378,295	24	15,762		
Total	30297,390	48			
<b>Total corregida</b>	18475,288	47			

Coefficiente de determinación ( $R^2$ )=98%

### Comparación de medias de grupos homogéneos (DUNCAN)

Extractos antioxidantes	N	Grupos homogéneos					
		1	2	3	4	5	6
300 ppm EM	6	6,37					
300 ppm EaE	6	8,78	8,78				
600 ppm EaE	6	9,20	9,20	9,20			
100 ppm EM	6		12,62	12,62	12,67		
600 ppm EM	6			13,95	13,95		
200 ppm BHT	6				15,25		
100 ppm EaE	6					24,98	
Blanco	6						34,40
Sig.		0,25	0,13	0,06	0,29	1,00	1,00

Tiempo de almacenamiento	N	Grupos homogéneos		
		1	2	3
0 día	16	4,04		
7 día	16		9,01	
15 día	16			34,03
<b>Sig.</b>		1,00	1,00	1,00



**Cuadro 3. Resultados de Índice de peróxido del aceite de soya con extractos antioxidantes (EM y EaE) del genotipo ARV 5366 de mashua y BHT**

Extractos antioxidantes	Tiempo	meq O <sub>2</sub> /kg de aceite		Promedio	Desviación estándar
		R1	R2		
100 ppm EM	0	4,31	4,16	4,24	0,11
	7	7,13	6,56	6,84	0,40
	15	16,18	16,93	16,56	0,53
300 ppm EM	0	4,00	3,58	3,79	0,30
	7	6,29	7,52	6,91	0,87
	15	25,06	35,91	30,49	7,68
600 ppm EM	0	4,42	3,78	4,10	0,45
	7	6,72	4,89	5,80	1,30
	15	21,80	25,83	23,82	2,85
100 ppm EaE	0	3,62	3,44	3,53	0,13
	7	7,78	10,83	9,30	2,16
	15	12,32	13,22	12,77	0,64
300 ppm EaE	0	3,42	2,75	3,09	0,47
	7	5,91	6,13	6,02	0,16
	15	9,93	9,80	9,86	0,09
600 ppm EaE	0	4,44	4,42	4,43	0,01
	7	9,11	8,30	8,70	0,58
	15	21,84	19,67	20,75	1,54
200 ppm BHT	0	4,63	4,42	4,52	0,15
	7	8,23	6,95	7,59	0,90
	15	28,15	39,13	33,64	7,76
Blanco	0	4,88	4,63	4,76	0,18
	7	8,94	8,37	8,65	0,40
	15	84,51	95,08	89,79	7,47

## Análisis de varianza

### Variable dependiente:

- Índice de peróxido (meq O<sub>2</sub>/kg de aceite)

### Variabes independientes:

- Extractos antioxidantes: 100 ppm EM, 300 ppm EM, 600 ppm EM, 100 ppm EaE, 300 ppm EaE, 600 ppm EaE, 200 ppm BHT y Blanco
- Tiempo: 0, 7 y 15 días

### Cuadro de ANOVA

Origen	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	Fc.	Sig.
<b>A:</b> Extractos antioxidantes	3263,956	7	466,279	57,291	0,000
<b>B:</b> Tiempo	6208,171	2	3104,086	381,393	0,000
<b>A*B</b>	5954,084	14	425,292	52,255	0,000
Error	195,332	24	8,139		
Total	24694,002	48			
<b>Total corregida</b>	15621,543	47			

Coefficiente de determinación ( $R^2$ )=98,7%

### Comparación de medias de grupos homogéneos (DUNCAN)

Extractos antioxidantes	N	Grupos homogéneos				
		1	2	3	4	5
300 ppm EaE	6	6,32				
100 ppm EaE	6	8,54	8,54			
100 ppm EM	6	9,21	9,21			
600 ppm EM	6		11,24	11,24		
600 ppm EaE	6		11,30	11,30		
300 ppm EM	6			13,73	13,73	
200 ppm BHT	6				15,25	
Blanco	6					34,40
Sig.		0,11	0,14	0,17	0,36	1,00

Tiempo de almacenamiento	N	Grupos homogéneos		
		1	2	3
0 día	16	4,06		
7 día	16		7,48	
15 día	16			29,71
Sig.		1,00	1,00	1,00

**Cuadro 4. Resultados de compuestos fenólicos totales en el aceite de soya con extractos antioxidantes (EM y EaE) del genotipo ARB 5241**

Extracción antioxidante	Tiempo	mg de ácido gálico equivalente/g de aceite				Promedio	Desviación típica
		R1	R2	R3	R4		
100 ppm EM	0	0,36	0,34	0,32	0,30	0,33	0,02
	7	0,32	0,34	0,34	0,35	0,33	0,01
	15	0,12	0,13	0,14	0,09	0,12	0,02
300 ppm EM	0	0,32	0,21	0,40	0,24	0,29	0,08
	7	0,33	0,32	0,31	0,33	0,32	0,01
	15	0,12	0,12	0,10	0,12	0,11	0,01
600 ppm EM	0	0,91	0,92	0,90	0,65	0,84	0,13
	7	0,51	0,62	0,49	0,47	0,52	0,07
	15	0,22	0,23	0,26	0,30	0,25	0,04
100 ppm EaE	0	0,26	0,27	0,31	0,45	0,32	0,09
	7	0,30	0,26	0,29	0,29	0,29	0,02
	15	0,17	0,13	0,21	0,13	0,16	0,04
300 ppm EaE	0	0,62	0,61	0,64	0,56	0,61	0,03
	7	0,44	0,47	0,42	0,45	0,44	0,02
	15	0,34	0,33	0,36	0,35	0,34	0,01
600 ppm EaE	0	0,54	0,59	0,66	0,67	0,62	0,06
	7	0,70	0,63	0,66	0,62	0,65	0,03
	15	0,28	0,28	0,29	0,28	0,29	0,01

## Análisis de varianza

### Variable dependiente:

- Compuestos fenólicos (mg de ácido gálico equivalente/g de aceite)

### Variabes independientes:

- Extractos antioxidantes: 100 ppm EM, 300 ppm EM, 600 ppm EM, 100 ppm EaE, 300 ppm EaE, 600 ppm EaE
- Tiempo: 0, 7 y 15 días

### Cuadro de ANOVA

Origen	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	Fc.	Sig.
<b>A:</b> Extractos antioxidantes	1,195	5	0,239	89,917	0,000
<b>B:</b> Tiempo	1,085	2	0,543	204,214	0,000
<b>A*B</b>	0,371	10	0,037	13,982	0,000
Error	0,143	54	0,003		
Total	13,230	72			
<b>Total corregida</b>	<b>2,795</b>	<b>71</b>			

Coeficiente de determinación ( $R^2$ )=94,9

### Comparación de medias de grupos homogéneos (DUNCAN)

Extractos antioxidantes	N	Grupos homogéneos		
		1	2	3
300 ppm EM	12	0,24		
100 ppm EaE	12	0,26		
100 ppm EM	12	0,26		
300 ppm EaE	12		0,47	
600 ppm EaE	12			0,52
600 ppm EM	12			0,54
Sig.		0,40	1,00	0,27

Tiempo de almacenamiento	N	Grupos homogéneos		
		1	2	3
15	24	0,21		
7	24		0,43	
0	24			0,50
Sig.		1,00	1,00	1,00

**Cuadro 5. Resultados de compuestos fenólicos totales en el aceite de soya con extractos antioxidantes (EM y EaE) del genotipo DP 0224**

Extracción antioxidante	Tiempo	mg de ácido gálico equivalente/g de aceite				Promedio	Desviación típica
		R1	R2	R3	R4		
100 ppm EM	0	0,40	0,37	0,24	0,23	0,31	0,09
	7	0,32	0,28	0,29	0,29	0,30	0,02
	15	0,15	0,11	0,12	0,13	0,13	0,01
300 ppm EM	0	0,54	0,44	0,40	0,46	0,46	0,06
	7	0,33	0,34	0,37	0,38	0,36	0,02
	15	0,15	0,17	0,14	0,14	0,15	0,01
600 ppm EM	0	0,36	0,27	0,31	0,29	0,31	0,04
	7	0,38	0,34	0,33	0,32	0,34	0,02
	15	0,17	0,14	0,14	0,12	0,14	0,02
100 ppm EaE	0	0,28	0,30	0,38	0,38	0,33	0,05
	7	0,28	0,27	0,33	0,30	0,30	0,03
	15	0,16	0,13	0,15	0,14	0,14	0,01
300 ppm EaE	0	0,64	0,55	0,59	0,59	0,59	0,04
	7	0,47	0,57	0,48	0,59	0,53	0,06
	15	0,38	0,38	0,32	0,35	0,36	0,03
600 ppm EaE	0	0,86	0,87	0,90	0,90	0,88	0,02
	7	0,89	0,84	0,59	0,59	0,73	0,16
	15	0,47	0,41	0,39	0,38	0,41	0,04

## Análisis de varianza

### Variable dependiente:

- Compuestos fenólicos totales (mg de ácido gálico equivalente/g de aceite)

### Variabes independientes:

- Extractos antioxidantes: 100 ppm EM, 300 ppm EM, 600 ppm EM, 100 ppm EaE, 300 ppm EaE, 600 ppm EaE
- Tiempo: 0, 7 y 15 días

### Cuadro de ANOVA

Origen	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	Fc.	Sig.
<b>A:</b> Extractos antioxidantes	1,790	5	0,358	123,089	0,000
<b>B:</b> Tiempo	0,886	2	0,443	152,334	0,000
<b>A*B</b>	0,143	10	0,014	4,921	0,000
Error	0,157	54	0,003		
Total	13,146	72			
<b>Total corregida</b>	<b>2,976</b>	<b>71</b>			

Coefficiente de determinación ( $R^2$ )=94,7

Extractos antioxidantes	N	Grupos homogéneos				
		1	2	3	4	5
100 ppm EM	12	0,24				
100 ppm EaE	12	0,26				
600 ppm EM	12	0,26				
300 ppm EM	12		0,32			
300 ppm EaE	12			0,49		
600 ppm EaE	12				0,67	
Sig.		0,40	1,00	1,00	1,00	

### Comparación de medias de grupos homogéneos (DUNCAN)

Tiempo de almacenamiento	N	Grupos homogéneos		
		1	2	3
15	24	0,22		
7	24		0,42	
0	24			0,48
Sig.		1,00	1,00	1,00

**Cuadro 6. Resultados de compuestos fenólicos totales en el aceite de soya con extractos antioxidantes (EM y EaE) del genotipo ARV5366**

Extracción antioxidante	Tiempo	mg de ácido gálico equivalente/g de aceite				Promedio	Desviación típica
		R1	R2	R3	R4		
100 ppm EM	0	0,41	0,33	0,33	0,34	0,35	0,04
	7	0,37	0,33	0,33	0,33	0,34	0,02
	15	0,08	0,13	0,14	0,14	0,12	0,03
300 ppm EM	0	0,31	0,36	0,34	0,27	0,32	0,04
	7	0,00	0,00	0,33	0,35	0,17	0,20
	15	0,12	0,15	0,10	0,09	0,12	0,03
600 ppm EM	0	0,58	0,47	0,57	0,52	0,54	0,05
	7	0,33	0,52	0,45	0,45	0,44	0,08
	15	0,18	0,12	0,07	0,08	0,11	0,05
100 ppm EaE	0	0,52	0,30	0,30	0,56	0,42	0,14
	7	0,36	0,35	0,33	0,33	0,34	0,01
	15	0,21	0,21	0,18	0,22	0,21	0,01
300 ppm EaE	0	0,55	0,61	0,64	0,49	0,57	0,07
	7	0,62	0,58	0,52	0,52	0,56	0,05
	15	0,37	0,36	0,34	0,35	0,35	0,01
600 ppm EaE	0	0,63	0,57	0,52	0,52	0,56	0,05
	7	0,99	0,70	0,99	0,72	0,85	0,16
	15	0,31	0,29	0,30	0,31	0,30	0,01

## Análisis de varianza

### Variable dependiente:

- Capacidad antioxidante (mg ácido gálico equivalente/g de aceite)

### Variabes independientes:

- Extractos antioxidantes: 100 ppm EM, 300 ppm EM, 600 ppm EM, 100 ppm EaE, 300 ppm EaE, 600 ppm EaE
- Tiempo: 0, 7 y 15 días

### Cuadro de ANOVA

Origen	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	Fc.	Sig.
<b>A:</b> Extractos antioxidantes	1,158	5	,232	37,609	,000
<b>B:</b> Tiempo	1,025	2	,512	83,200	,000
<b>A*B</b>	,405	10	,041	6,579	,000
Error	,333	54	,006		
Total	12,814	72			
<b>Total corregida</b>	2,920	71			

Coefficiente de determinación ( $R^2$ )=88,6%

### Comparación de medias de grupos homogéneos (DUNCAN)

Extractos antioxidantes	N	Grupos homogéneos				
		1	2	3	4	5
300 ppm EM	12	0,20				
100 ppm EM	12		0,27			
100 ppm EaE	12		0,32	0,32		
600 ppm EM	12			0,36		
300 ppm EaE	12				0,50	
600 ppm EaE	12					0,57
Sig.		1,00	0,12	0,23	1,00	1,00

Tiempo de almacenamiento	N	Grupos homogéneos		
		1	2	3
15	24	0,20		
7	24		0,45	
0	24		0,46	
Sig.		1,00	0,66	



**Cuadro 7. Resultados de capacidad antioxidantes en el aceite de soya con extractos antioxidantes (EM y EaE) del genotipo ARB 5241 de mashua y BHT**

Extracción antioxidante	Tiempo	Trolox equivalente/g de aceite				Promedio	Desviación típica
		R1	R2	R3	R4		
100 ppm EM	0	3,27	3,27	3,22	3,40	3,29	0,08
	7	3,24	2,97	3,01	2,65	2,97	0,25
	15	1,85	2,22	1,28	1,28	1,66	0,46
300 ppm EM	0	2,30	2,95	2,54	2,82	2,66	0,29
	7	2,68	2,56	2,70	2,42	2,59	0,13
	15	2,18	1,56	1,44	1,48	1,67	0,35
600 ppm EM	0	12,42	13,13	12,22	11,53	12,32	0,66
	7	7,03	7,67	5,66	5,42	6,45	1,08
	15	3,23	3,49	3,93	4,08	3,68	0,39
100 ppm EaE	0	3,27	2,97	3,61	3,64	3,37	0,32
	7	3,41	5,54	3,36	3,44	3,94	1,07
	15	1,93	1,90	1,81	1,86	1,88	0,05
300 ppm EaE	0	8,93	8,65	9,44	10,11	9,28	0,64
	7	7,28	7,46	6,77	6,77	7,07	0,35
	15	4,89	4,06	4,85	4,95	4,69	0,42
600 ppm EaE	0	15,38	15,21	15,11	15,97	15,42	0,38
	7	11,15	11,64	11,49	10,18	11,11	0,66
	15	2,29	2,41	2,31	2,10	2,28	0,13
200 ppm BHT	0	0,88	0,97	1,42	1,83	1,27	0,44
	7	1,00	1,55	0,99	1,04	1,15	0,27
	15	1,08	1,17	1,28	1,29	1,20	0,10
Blanco	0	0,59	0,47	0,63	1,01	0,68	0,23
	7	0,80	0,92	1,09	0,93	0,93	0,12
	15	0,95	0,83	0,97	0,98	0,93	0,07

## Análisis de varianza

### Variable dependiente:

- Capacidad antioxidante (Trolox equivalente/g de aceite)

### Variabes independientes:

- Extractos antioxidantes: 100 ppm EM, 300 ppm EM, 600 ppm EM, 100 ppm EaE, 300 ppm EaE, 600 ppm EaE, 200 ppm BHT y Blanco
- Tiempo: 0, 7 y 15 días

### Cuadro de ANOVA

Origen	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	Fc.	Sig.
<b>A:</b> Extractos antioxidantes	904,468	7	129,210	599,522	0,000
<b>B:</b> Tiempo	232,841	2	116,420	540,180	0,000
<b>A*B</b>	342,092	14	24,435	113,377	0,000
Error	15,518	72	,216		
Total	3244,992	96			
<b>Total corregida</b>	1494,918	95			

Coefficiente de determinación ( $R^2$ )=99%

### Comparación de medias de grupos homogéneos (DUNCAN)

Extractos antioxidantes	N	Grupos homogéneos					
		1	2	3	4	5	6
Blanco	12	0,85					
200 ppm BHT	12	1,21					
300 ppm EM	12		2,30				
100 ppm EM	12		2,64				
100 ppm EaE	12			3,06			
300 ppm EaE	12				7,01		
600 ppm EM	12					7,48	
600 ppm EaE	12						9,60
<b>Sig.</b>		<b>0,06</b>	<b>0,08</b>	<b>1,00</b>	<b>1,00</b>	<b>1,00</b>	<b>1,00</b>

Tiempo de almacenamiento	N	Grupos homogéneos		
		1	2	3
15	32	2,25		
7	32		4,53	
0	32			6,04
<b>Sig.</b>		<b>1,00</b>	<b>1,00</b>	<b>1,00</b>

**Cuadro 8. Resultados de capacidad antioxidantes en el aceite de soya con extractos antioxidantes (EM y EaE) del genotipo DP 0224 de mashua y BHT**

Extracción antioxidante	Tiempo	Trolox equivalente/g de aceite				Promedio	Desviación típica
		R1	R2	R3	R4		
100 ppm EM	0	2,65	2,49	3,05	3,92	3,03	0,64
	7	2,04	2,35	1,46	1,46	1,83	0,44
	15	1,58	1,66	1,73	1,76	1,68	0,08
300 ppm EM	0	6,66	6,70	6,92	6,74	6,75	0,11
	7	2,62	3,49	3,35	3,08	3,14	0,38
	15	2,28	2,42	2,13	2,14	2,24	0,13
600 ppm EM	0	3,00	2,86	2,84	2,96	2,91	0,08
	7	2,62	2,77	0,00	0,00	1,35	1,56
	15	2,10	2,24	2,19	3,88	2,60	0,86
100 ppm EaE	0	3,39	3,35	2,84	3,20	3,20	0,25
	7	3,03	3,19	3,34	3,59	3,28	0,24
	15	1,73	1,76	1,86	1,75	1,78	0,06
300 ppm EaE	0	9,85	10,30	9,34	9,87	9,84	0,39
	7	7,51	7,78	7,60	8,17	7,76	0,29
	15	4,52	4,47	4,63	4,59	4,55	0,07
600 ppm EaE	0	4,61	4,45	5,04	5,67	4,94	0,55
	7	6,24	6,51	3,48	3,03	4,81	1,81
	15	3,36	3,40	2,75	3,27	3,20	0,30
200 ppm BHT	0	0,88	0,97	1,42	1,83	1,27	0,44
	7	1,00	1,55	0,99	1,04	1,15	0,27
	15	1,08	1,17	1,28	1,29	1,20	0,10
Blanco	0	0,59	0,47	0,63	1,01	0,68	0,23
	7	0,80	0,92	1,09	0,93	0,93	0,12
	15	0,95	0,83	0,97	0,98	0,93	0,07

## Análisis de varianza

### Variable dependiente:

- Capacidad antioxidante (Trolox equivalente/g de aceite)

### Variabes independientes:

- Extractos antioxidantes: 100 ppm EM, 300 ppm EM, 600 ppm EM, 100 ppm EaE, 300 ppm EaE, 600 ppm EaE, 200 ppm BHT y Blanco
- Tiempo: 0, 7 y 15 días

### Cuadro de ANOVA

Origen	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	Fc.	Sig.
<b>A:</b> Extractos antioxidantes	372,187	7	53,170	152,894	0,000
<b>B:</b> Tiempo	52,550	2	26,275	75,557	0,000
<b>A*B</b>	73,334	14	5,238	15,063	0,000
Error	25,038	72	,348		
Total	1462,360	96			
<b>Total corregida</b>	523,109	95			

Coefficiente de determinación ( $R^2$ )=95,2

### Comparación de medias de grupos homogéneos (DUNCAN)

Extractos antioxidantes	N	Grupos homogéneos				
		1	2	3	4	5
Blanco	12	0,85				
200 ppm BHT	12	1,21				
100 ppm EM	12		2,18			
600 ppm EM	12		2,29	2,29		
100 ppm EaE	12			2,75		
300 ppm EM	12				4,04	
600 ppm EaE	12				4,32	
300 ppm EaE	12					7,39
Sig.		0,14	0,65	0,06	0,26	1,00

Tiempo de almacenamiento	N	Grupos homogéneos		
		1	2	3
15	32	2,27		
7	32		3,03	
0	32			4,08
Sig.		1,00	1,00	1,00

**Cuadro 9. Resultados de capacidad antioxidantes en el aceite de soya con extractos antioxidantes (EM y EaE) del genotipo ARV 5366 de mashua y BHT**

Extracción antioxidante	Tiempo	Trolox equivalente/g de aceite				Promedio	Desviación típica
		R1	R2	R3	R4		
100 ppm EM	0	2,96	2,60	2,47	3,00	2,76	0,26
	7	2,71	2,79	1,94	1,98	2,35	0,46
	15	1,46	1,95	1,94	1,99	1,83	0,25
300 ppm EM	0	2,60	2,43	2,41	3,00	2,61	0,28
	7	0,00	0,00	2,16	1,97	1,03	1,19
	15	1,36	1,47	1,35	1,33	1,38	0,06
600 ppm EM	0	6,28	6,24	6,63	7,04	6,55	0,37
	7	2,29	2,75	4,92	4,93	3,72	1,40
	15	1,66	1,79	1,27	1,30	1,50	0,26
100 ppm EaE	0	5,89	5,89	6,12	6,12	6,00	0,13
	7	6,22	6,14	5,85	5,23	5,86	0,45
	15	2,82	2,69	3,13	3,02	2,91	0,20
300 ppm EaE	0	10,58	10,31	11,03	11,70	10,90	0,61
	7	8,81	9,30	7,96	7,99	8,51	0,66
	15	5,69	5,56	5,76	5,72	5,68	0,09
600 ppm EaE	0	16,77	17,00	15,41	16,86	16,51	0,74
	7	11,11	11,31	0,00	0,00	5,60	6,47
	15	2,37	2,41	2,80	2,59	2,54	0,20
200 ppm BHT	0	0,88	0,97	1,42	1,83	1,27	0,44
	7	1,00	1,55	0,99	1,04	1,15	0,27
	15	1,08	1,17	1,28	1,29	1,20	0,10
Blanco	0	0,59	0,47	0,63	1,01	0,68	0,23
	7	0,80	0,92	1,09	0,93	0,93	0,12
	15	0,95	0,83	0,97	0,98	0,93	0,07

## Análisis de varianza

### Variable dependiente:

- Capacidad antioxidante (trolox equivalente/g de aceite)

### Variabes independientes:

- Extractos antioxidantes: 100 ppm EM, 300 ppm EM, 600 ppm EM, 100 ppm EaE, 300 ppm EaE, 600 ppm EaE, 200 ppm BHT y Blanco
- Tiempo: 0, 7 y 15 días

### Cuadro de ANOVA

Origen	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	Fc.	Sig.
<b>A:</b> Extractos antioxidantes	764,266	7	109,181	54,693	0,000
<b>B:</b> Tiempo	218,490	2	109,245	54,725	0,000
<b>A*B</b>	350,223	14	25,016	12,531	0,000
Error	143,731	72	1,996		
Total	2963,511	96			
<b>Total corregida</b>	1476,710	95			

Coefficiente de determinación ( $R^2$ )=90,3%

### Comparación de medias de grupos homogéneos (DUNCAN)

Extractos antioxidantes	N	Grupos homogéneos			
		1	2	3	4
Blanco	12	0,85			
200 ppm BHT	12	1,21	1,21		
300 ppm EPM	12	1,67	1,67		
100 ppm EPM	12		2,32		
600 ppm EPM	12			3,93	
100 ppm EPaE	12			4,93	
600 ppm EPaE	12				8,22
300 ppm EPaE	12				8,37
Sig.		0,18	0,07	0,09	0,80

Tiempo de almacenamiento	N	Grupos homogéneos		
		1	2	3
15	32	2,25		
7	32		3,65	
0	32			5,91
Sig.		1,00	1,00	1,00

### Anexo 3:

**Resultados de evaluación del efecto de extractos antioxidantes de mashua en la estabilidad oxidativa del aceite de soya durante la fritura**

**Cuadro 1. Resultados de porcentaje de compuestos polares en aceite de soya con extractos antioxidantes (EM y EaE) del genotipo ARB 5241 y TBHQ**

Extracto antioxidante	Tiempo	Compuestos polares (%)		Promedio	Desviación estándar
		R1	R2		
200 ppm-EM(ARB 5241)	0	4,77	4,77	4,77	0,00
	1,5	12,57	11,65	12,11	0,65
	2,5	13,34	15,38	14,36	1,44
	3,5	23,73	23,93	23,83	0,15
200 ppm-EaE(ARB 5241)	0	4,92	4,92	4,92	0,00
	1,5	7,53	7,96	7,75	0,30
	2,5	10,45	10,59	10,52	0,10
	3,5	11,95	11,68	11,81	0,19
200 ppm-TBHQ	0	3,97	3,97	3,97	0,00
	1,5	11,71	11,71	11,71	0,00
	2,5	14,07	14,07	14,07	0,00
	3,5	21,49	22,29	21,89	0,57
BLANCO	0	4,18	4,18	4,18	0,00
	1,5	14,40	16,67	15,54	1,61
	2,5	21,63	20,41	21,02	0,87
	3,5	28,56	25,80	27,18	1,95

## Análisis de varianza

### Variable dependiente:

- Compuestos polares (porcentaje)

### Variabes independientes:

- Extractos antioxidantes: 200 ppm EM-ARB 5241, 200 ppm EaE-ARB 5241, 200 ppm TBHQ y Blanco
- Tiempo: 0, 7 y 15 días

### Cuadro de ANOVA

Origen	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	Fc.	Sig.
<b>A:</b> Extractos antioxidantes	275,608	3	91,869	145,226	0,000
<b>B:</b> Tiempo	1161,750	3	387,250	612,159	0,000
<b>A*B</b>	164,266	9	18,252	28,852	0,000
Error	10,122	16	0,633		
Total	7104,725	32			
<b>Total corregida</b>	1611,745	31			

Coefficiente de determinación ( $R^2$ )=99,4%

### Comparación de medias de grupos homogéneos (DUNCAN)

Extractos antioxidantes	N	Grupos homogéneos				
		1	2	3	4	5
200 ppm-EaE(ARB 5241)	8	8,75				
200 ppm-TBHQ	8		12,91			
200 ppm-EM(ARB 5241)	8			13,77		
Blanco	8				16,98	
Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00	

Tiempo de almacenamiento	N	Grupos homogéneos			
		1	2	3	
0	8	4,46			
1,5	8		11,77		
2,5	8			14,99	
3,5	8				21,18
Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00



**Cuadro 2. Resultados de Dienos conjugados en aceite de soya con extractos antioxidantes (EM y EaE) del genotipo ARB 5241 y TBHQ**

Extracto antioxidante	Tiempo	Absorbancia 232		Promedio	Desviación estándar
		R1	R2		
200 ppm-EM(ARB 5241)	0	1,96	2,00	1,98	0,03
	1,5	2,15	2,16	2,16	0,00
	2,5	2,18	2,17	2,18	0,01
	3,5	2,16	2,13	2,14	0,02
200 ppm-EaE(ARB 5241)	0	1,95	1,98	1,97	0,02
	1,5	2,10	2,08	2,09	0,01
	2,5	2,07	2,06	2,06	0,01
	3,5	2,08	2,08	2,08	0,00
200 ppm TBHQ	0	2,01	1,98	2,00	0,02
	1,5	2,11	2,16	2,14	0,04
	2,5	2,20	2,20	2,20	0,00
	3,5	2,22	2,22	2,22	0,00
BLANCO	0	1,96	1,93	1,95	0,02
	1,5	2,17	2,18	2,17	0,01
	2,5	2,19	2,20	2,19	0,00
	3,5	2,19	2,18	2,18	0,01

## Análisis de varianza

### Variable dependiente:

- Dienes conjugados (absorbancia 232)

### Variabes independientes:

- Extractos antioxidantes: 200 ppm EM-ARB 5241, 200 ppm EaE-ARB 5241, 200 ppm-TBHQ y Blanco
- Tiempo: 0, 7 y 15 días

### Cuadro de ANOVA

Origen	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	Fc.	Sig.
<b>A:</b> Extractos antioxidantes	0,036	3	0,012	44,609	0,000
<b>B:</b> Tiempo	0,197	3	0,066	241,912	0,000
<b>A*B</b>	0,020	9	0,002	8,206	0,000
Error	0,004	16	0,000		
Total	142,261	32			
<b>Total corregida</b>	<b>0,258</b>	<b>31</b>			

Coficiente de determinación ( $R^2$ )=98,3%

### Comparación de medias de grupos homogéneos (DUNCAN)

Extractos antioxidantes	N	Grupos homogéneos		
		1	2	3
200 ppm-EaE(ARB 5241)	8	2,05		
200 ppm-EM(ARB 5241)	8		2,11	
Blanco	8		2,13	2,13
200 ppm-TBHQ	8			2,14
Sig.		1,00	0,19	0,15

Tiempo de almacenamiento	N	Grupos homogéneos		
		1	2	3
0,0	8	1,97		
1,50	8		2,14	
3,50	8			2,16
2,50	8			2,16
Sig.		1,00	1,00	0,88

**Cuadro 3. Resultados de Trienos conjugados en aceite de soya con extractos antioxidantes (EM y EaE) del genotipo ARB 5241 de mashua, TBHQ y muestra control durante el proceso de fritura de papas**

Extracto antioxidante	Tiempo	Absorbancia 268		Promedio	Desviación estándar
		R1	R2		
200 ppm-EM(ARB 5241)	0	0,35	0,38	0,37	0,02
	1,5	1,89	1,96	1,92	0,05
	2,5	1,98	1,98	1,98	0,00
	3,5	1,98	1,96	1,97	0,02
200 ppm-EaE(ARB 5241)	0	0,36	0,37	0,36	0,00
	1,5	1,49	1,53	1,51	0,03
	2,5	1,76	1,72	1,74	0,03
	3,5	1,72	1,83	1,78	0,08
200 ppm-TBHQ	0	0,37	0,34	0,36	0,02
	1,5	1,88	1,85	1,87	0,02
	2,5	2,01	2,01	2,01	0,00
	3,5	2,03	2,03	2,03	0,00
BLANCO	0	0,31	0,30	0,30	0,01
	1,5	1,85	1,95	1,90	0,07
	2,5	1,99	2,00	1,99	0,00
	3,5	2,00	1,99	2,00	0,01

## Análisis de varianza

### Variable dependiente:

- Trienos conjugados (absorbancia 268)

### Variabes independientes:

- Extractos antioxidantes: 200 ppm EM-ARB 5241, 200 ppm EaE-ARB 5241, 200 ppm TBHQ y Blanco
- Tiempo: 0, 7 y 15 días

### Cuadro de ANOVA

Origen	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	Fc.	Sig.
<b>A:</b> Extractos antioxidantes	0,262	3	0,087	79,537	0,000
<b>B:</b> Tiempo	14,399	3	4,800	4377,563	0,000
<b>A*B</b>	0,142	9	0,016	14,379	0,000
Error	0,018	16	0,001		
Total	87,310	32			
<b>Total corregida</b>	14,820	31			

Coficiente de determinación ( $R^2$ )=99,9%

### Comparación de medias de grupos homogéneos (DUNCAN)

Extractos antioxidantes	N	Grupos homogéneos	
		1	2
200 ppm-EaE(ARB 5241)	8	1,35	
Blanco	8		1,55
200 ppm-EM(ARB 5241)	8		1,56
200 ppm TBHQ	8		1,56
Sig.		1,00	0,42

Tiempo de almacenamiento	N	Grupos homogéneos		
		1	2	3
0	8	0,35		
1,5	8		1,80	
2,5	8			1,93
3,5	8			1,94
Sig.		1,00	1,00	0,57

## Anexo 4:

### Análisis de regresión lineal del efecto de extractos antioxidantes de mashua en la estabilidad oxidativa del aceite de soya durante la fritura

#### a. *Compuestos polares*

Modelo lineal:  $\text{Compuestos polares} = B_0 + B_1 * \text{tiempo}$

Extractos antioxidantes	Coeficientes		Resumen de modelo de regresión lineal				
	Intercepto (B <sub>0</sub> )	Pendiente (B <sub>1</sub> )	R*	R <sup>2</sup> (%)	Error típico	Cambios en F	Sig.
200 ppm- EM	4,178	5,116	0,972	94,5	2,2665	34,066	0,028
200 ppm -EaE	4,926	2,040	0,994	98,7	0,4266	152,861	0,006
200 ppm -TBHQ	3,788	4,864	0,984	96,9	1,5991	61,875	0,016
Blanco	4,745	6,525	0,997	99,5	0,8624	382,775	0,003

R<sup>2</sup> : Coeficiente de determinación

R\* : Coeficiente de correlación