

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA

FACULTAD DE CIENCIAS Y FILOSOFÍA



DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA PROXIMAL,
CARBOHIDRATOS TOTALES, AZÚCARES LIBRES Y FRUCTANOS DEL TIPO
INULINA – FRUCTOOLIGOSACÁRIDOS DEL YACÓN (*Smallanthus sonchifolius*
(Poepp. et Endl.) H. Robinson)

DOMITILA SALVATIERRA HURTADO

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADO EN QUÍMICA
LIMA-PERÚ

2015

ASESORA

MSc. Graciela Untiveros Bermúdez

Sección Química

Departamento de Ciencias Exactas

MIEMBROS DEL JURADO

Presidente: MSc. Lily Chang Fang

Secretaria: MSc. María Salas Arruz

Vocal: MSc. Holger Maldonado.

**A Ruth y José
por su infinito amor.**

AGRADECIMIENTOS

La realización de esta tesis fue posible gracias a la ayuda de muchas personas que confiaron y apostaron por mí, por eso les dedico estas líneas en forma de gratitud.

- A mis padres por su infinito amor y por confiar en mí pero sobre todo por ser el apoyo y sostén más importante de mi vida.
- A MSc. Graciela Untiveros Bermúdez, mi asesora de tesis, por su constante apoyo, guía y sabios consejos antes y durante la tesis y por ser mi gran amiga.
- Al Biólogo Camilo Díaz, profesor de la sección de Ciencias Farmacéuticas, por los conocimientos botánicos que aprendí de la planta de yacón.
- A los técnicos de laboratorio Teresa Huacachino y Raúl Meza por todas las facilidades técnicas brindadas durante el desarrollo de la tesis, a la Bach. en Química Nataly Ayres y al Ing. Quispe por todo el apoyo brindado.
- Al Ing. Wellinton Tello Sandoval, Jefe del laboratorio Central Aduana Marítima Del Callao-SUNAT, por todas las facilidades técnicas brindadas y por ser un gran profesor durante mi estadía en el laboratorio.
- Al Lic. Álvaro Sponza, por su apoyo, motivación y gran amistad. A todos mis amigos en general.
- Finalmente a Liz, Pelón, Scott y Rex por hacerme los días más dulces.

ÍNDICE

RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISION DE LA LITERATURA.....	3
2.1 Descripcion Botánica.....	3
2.1.1 La planta.....	3
2.1.2 Raiz tuberosa.....	4
2.1.3 Los tallos.....	4
2.1.4 Las hojas.....	4
2.1.5 Las cepas.....	5
2.1.6 La inflorescencia.....	5
2.2 Distribución geográfica y zonas de cultivo.....	5
2.2.1 Distribución geográfica.....	5
2.2.2 Zonas de cultivo en el Perú.....	6
2.3 Composición química y propiedades nutricionales del yacón.....	7
2.3.1 Composición química.....	7
2.3.2 Fructanos tipo inulina-fructooligosacáridos.....	9
2.3.2.1 Introducción: fructanos.....	9
2.3.2.2 Fructooligosacáridos: inulinas de bajo grado de polimerización.....	11
2.3.2.3 Síntesis de inulina y/o fructooligosacaridos.....	14
2.3.2.4 Propiedades Fisicoquímicas de la inulina y fructooligosacáridos.....	16
2.3.2.5 Fuentes de inulina y Fructooligosacáridos.....	18
2.3.2.6 Análisis de Fructooligosacáridos e inulina.....	19
2.3.3 fructooligosacáridos e inulina: posibles efectos en la salud.....	26
2.3.3.1 Fibra dietética, prebiótico y bajo valor calórico.....	27
2.3.3.2 Posibles efectos en la salud.....	29
2.3.3.3 Alimentos funcionales: el caso de la inulina y oligofructuosas.....	31

2.4 El yacón en la industria alimentaria.....	32
III. OBJETIVOS.....	34
3.1 Objetivo General.....	34
3.2 Objetivo Específico.....	34
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	35
4.1 Material Vegetal.....	35
4.1.1 Obtención e identificación de la muestra.....	35
4.1.2 Elaboración de la harina de yacón.....	37
4.1.3 Obtención del extracto fresco de yacón.....	40
4.2 Material y equipos de laboratorio.....	42
4.2.1 Reactivos.....	42
4.2.2 Materiales.....	42
4.2.3 Equipos e instrumentos.....	43
4.3 Método de análisis.....	44
4.3.1 Análisis proximal.....	44
4.3.1.1 Determinación de humedad.....	44
4.3.1.2 Determinación de cenizas.....	44
4.3.1.3 Determinación de fibra cruda	44
4.3.1.4 Determinación de grasas.....	45
4.3.1.5 Determinación de proteínas.....	45
4.3.1.6 Determinación de carbohidratos.....	47
4.3.2 Determinación de pH.....	47
4.3.3 Determinación de sólidos solubles.....	47
4.3.4 Determinación de acidez.....	47
4.3.5 Determinación de minerales por fluorescencia de rayos X.....	47
4.3.6 Determinación de carbohidratos.....	47
4.3.6.1 Determinación de carbohidratos totales.....	48
4.3.6.2 Determinación de azúcares reductores.....	49
4.3.6.3 Determinación de sacarosa por HPLC.....	50
4.3.6.4 Determinación de fructanos tipo inulina- FOS.....	51
4.3.6.5 Cromatografía de capa fina.....	52
V. RESULTADOS.....	54
5.1 Análisis proximal del Yacón	54
5.2 pH, sólidos solubles y acidez.....	55
5.3 Determinación de minerales por fluorescencia de rayos X	55

5.4	Determinación de carbohidratos	56
5.4.1	Determinación de carbohidratos totales.....	56
5.4.2	Determinación de azúcares reductores libres.....	58
5.4.3	Determinación de sacarosa por HPLC.....	60
5.4.4	Determinación de fructanos tipo inulina-FOS.....	60
5.4.5	Cromatografía de capa fina.....	62
VI.	DISCUSIÓN.....	65
VII.	CONCLUSIONES.....	76
VIII.	RECOMENDACIONES.....	77
IX.	BILBIOGRAFIA.....	78
X.	ANEXOS.....	88

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

DP	Degree of Polimerization (grado de polimerización)
ABS	absorbancia
FOS	Fructooligosacáridos
DNS	Ácido 3,5 dinitrosalisílico
1-FFT	fructano: fructano fructosil transferasa
1-SST	1 sacarosa: sacarosa fructosil transferasa
b.s	base seca
HPLC	High Performance Liquid Cromatography
PAD	Pulse Amperometric Detector

LISTA DE FIGURAS

Figura 01	Estructura de los tres tipos de fructanos	10
Figura 02	Estructura química de la inulina	11
Figura 03	Biosíntesis y degradación de fructooligosacáridos	15
Figura 04	Estructura química de los fructooligosacáridos más simples.	16
Figura 05	Esquema resumen del método AOAC 997.08 “Determinación de fructanos por HPAEC-PAD”	23
Figura 06	Flujo del proceso para la obtención de harina de Yacón	39
Figura 07	Flujo del proceso para la obtención del extracto fresco de Yacón	41
Figura 08	Método 1: Fase móvil isopropanol-agua (70:30 v/v)	62
Figura 09	Método 2 : fase móvil cloroformo- ácido acético y agua (3:3.5:0.5 v/v)	62
Figura 10	Método 3 : fase móvil n-butanol-isopropanol-agua (3:12:4 v/v)	63
Figura 11	Método 4: fase móvil n-butanol-isopropanol-agua- ácido acético (7:5:4:2 v/v)	63
Figura 12	Método 5: fase móvil acetonitrilo: agua (85:15 v/v)	64
Figura 13	Método 6: fase móvil acetonitrilo – isopropanol - agua (12:4:6 v/v)	64
Figura 14	Planta entera de Yacón	95
Figura 15	Raíz y cepas	96
Figura 16	Planta, tallos e inflorescencia	97
Figura 17	Mapa de distribución del Yacón	98
Figura 18	Curva de calibración de carbohidratos totales	56
Figura 19	Curva de calibración de azúcares reductores	58

LISTA DE CUADROS

Cuadro 01	Composición química del Yacón.	8
Cuadro 02	Composición de los carbohidratos del yacón en diferentes estadios de maduración.	9
Cuadro 03	Contenido de azúcares libres y oligofructanos en raíces tuberosas de yacón.	13
Cuadro 04	Propiedades físicas de la inulina y oligofructuosa	17
Cuadro 05	Contenido promedio de inulina en diferentes especies vegetales	19
Cuadro 06	Comparación del contenido de calorías por gramo del los FOS y poder edulcorante.	28
Cuadro 07	Lista de métodos de separación de FOS e inulinas por TLC	53
Cuadro 08	Análisis proximal del yacón	54
Cuadro 09	pH- sólidos solubles y acidez	55
Cuadro 10	Contenido de minerales en Yacón	55
Cuadro 11	Contenido carbohidratos totales determinado por el método fenol-sulfúrico.	57
Cuadro 12	Contenido de azúcares libres en diferentes tiempos de extracción	59
Cuadro 13	Porcentaje de sacarosa en harina de Yacón.	60
Cuadro 14	Porcentaje de recuperación del estándar de inulina en los tres métodos de hidrólisis.	60
Cuadro 15	Contenido de fructanos tipo inulina-fructooligosacáridos en yacón	61
Cuadro 16	Composición química del yacón de diferentes estudios.	65

RESUMEN

El yacón es una raíz tuberosa, con alto contenido de agua, que se caracteriza por su sabor dulce que se debe, en gran parte, al alto contenido de carbohidratos de reserva, siendo los fructooligosacáridos (FOS) los más representativos, seguidos de los azúcares simples como glucosa, fructuosa y sacarosa. Los fructooligosacáridos son oligómeros de fructuosa que se encuentran unidos por el enlace característico tipo β (2 \rightarrow 1) fructosil fructosas, y enlazados con una molécula de glucosa por el enlace α (1 \rightarrow 2), siendo del tipo GF_n, estos oligómeros de fructuosa se caracterizan por tener bajo grado de polimerización (DP: 2-10) por lo que son muy solubles en agua. El objetivo principal de esta investigación fue determinar la composición química proximal, carbohidratos totales, azúcares libres y fructanos del tipo inulina – fructooligosacáridos del yacón variedad amarilla que fueron trabajados al tercer día después de ser cosechados, estas raíces provienen de la Provincia de San Miguel, Departamento de Cajamarca.

Los resultados del análisis químico proximal; humedad, carbohidratos, proteínas, grasas, cenizas, fibras, pH, sólidos solubles y acidez son 83.53%, 88.55%, 2.94%, 0.4%, 2.03%, 6.08%, 6.14, 15.3 y 0.206 % respectivamente en base seca. Se determinó los minerales por fluorescencia de rayos X, se encontró que los minerales que se encuentra en mayor cantidad son potasio (554 mg/100 g), fósforo (270 mg/100g) y calcio (144 mg/100 g). La cantidad de carbohidratos totales encontrado, realizado por el método fenol-sulfúrico, fue de 80.0% en base seca. Los tiempos de extracción para la determinación de los azúcares libres reductores son equivalentes, por lo que a los 10 minutos se han extraído la mayor cantidad de azúcares (8.49%) en base seca. El método más adecuado para hidrolizar los fructanos es el método 2 (HCl al 5%, tiempo 2 horas y temperatura 65°C-70°C) ya que es el que más porcentaje recuperó del estándar de inulina (95.62%). Se reportó la cantidad de 65.33 % de fructanos tipo inulina – fructooligosacáridos expresados en base seca. Se encontró que la fase móvil que mejor separó a los FOS fue acetonitrilo – isopropanol - agua (12:4:6 v/v).

Palabras clave: yacón (*Smallanthus sonchifolius*), inulina, fructooligosacáridos, carbohidratos totales, azúcares libres reductores, análisis proximal, hidrólisis.

ABSTRACT

Yacon is a tuberose roots ,with high content of water, which is characterized for its sweet flavor because of the high content of storage carbohydrates like fructooligosacharides (FOS), the most representatives, follow by simple sugars like glucose, fructose and sucrose. Fructooligosacharides (FOS) are oligomers of fructose which are attached by β (2 \rightarrow 1) fructuosyl fructose linkage and one molecule of glucose is attached by α (1 \rightarrow 2) linkage; FOS are the type of GF_n , these oligomers of fructose has low degree of polimerization (DP: 2-10) and makes the component water soluble. The aim of this study was the determination of the proximal chemical composition, total carbohydrates, free sugars and inulin type fructans of yacón roots, yellow type and it came from San Miguel, Cajamarca. The results of proximal chemical composition: water content, carbohydrates, protein, fat, ash, fiber, pH, soluble solids, and acidity are 83.53%, 88.55%, 2.94%, 0.4%, 2.03%, 6.08%, 6.14, 15.3 y 0.206 % on dry basis respectively the mineral was determinated by X ray fluorescence , The study found that minerals content like potasium is high (554 mg/100 g), follow by phosporus (270 mg/100g) and calcium (144 mg/100 g). The content of total carbohydrates, according to phenol-sulfuric method, was 80.0% on dry basis. The extraction times for the determination of free reducing sugars are equivalent, so at 10 minutes of extracción time, it had been extracted the majority of free sugars (8.49%). The most adequate method for hydrolysis of fructans was the second method (HCl 5%, time: 2 hours and temperature 65°C-70°C) because it recovered the highest conten of inulin standar (95.62%). The estudy reported 65.33% of inulin-fructooligosacharides type fructans on dry basis. The best movile phase to separate FOS was acetonitrile-isopropanol-water (12:4:6 v/v).

Key words: yacón (Smallanthus sonchifolius), inulin, fructooligosacharides, total carbohydrates , free reducing sugars, proximal chemical composition, hydrolysis.

I. INTRODUCCIÓN

El yacón es una raíz oriunda de los Andes que fue domesticada por los pobladores en épocas preincaicas. Hasta hace un tiempo el yacón se cultivaba en huertos y jardines para el consumo local, ahora esto ha cambiado; a pesar de lo poco que se ha investigado al yacón, se ha empezado a difundir los efectos nutricionales y medicinales, generando interés por parte de la población. Debido a la gran adaptación a diferentes suelos y climas se está impulsando el cultivo de yacón en varias zonas del país, así como la demanda va en aumento, los estudios sobre este también (*Manrique, I.; A. Párraga y M. Hermann. 2005*).

El yacón se caracteriza por ser una raíz tuberosa, con sabor dulce y por ser muy fresca, por lo que se acostumbra a consumirlo crudo, por esta razón el habitante andino lo considera una fruta. El yacón, está compuesto mayormente por agua, (70% a 90% de agua) y carbohidratos, que en su mayoría son los fructooligosacáridos (FOS), un tipo de fructano que no puede ser digerido por las enzimas del estómago, por lo que se le considera fibra dietética que además le confiere una gran variedad de efectos positivos sobre la salud debido a sus efectos prebióticos y bajo contenido calórico (*J. Seminario, M. Valderrama And I. Manrique, 2003*); las raíces también contienen compuestos con poder antioxidantes, polifenoles como el ácido clorogénico y varios fenoles derivados del ácido cafeico (*A. Muñoz 2009*). Otros compuestos reportados con actividad antioxidante son la quercetina, el ácido ferúlico y el ácido gálico, aunque encontramos concentraciones de polifenoles en la raíz, la concentración es mucho mayor en las hojas. (*Manrique, I.; A. Párraga y M. Hermann. 2005*)

La gran mayoría de estudios sobre FOS e inulina han sido efectuados en animales de laboratorio donde se han obtenido resultados como la disminución de lípidos en la sangre, glucosa sérica, colesterol y triglicéridos; asimismo la reducción del riesgo de padecer diabetes; se han observado el incremento en la

asimilación de calcio y magnesio por lo que se le podría considerar como un complemento en los tratamientos de osteoporosis. Si bien se han hecho pruebas en humanos, aún se necesitan hacer más ensayos ya que frecuentemente los resultados son diferentes y hasta en algunos casos son contradictorios. Los estudios comprobados tanto en animales como en humanos han demostrado que contribuyen a mejorar la función gastrointestinal y aliviar desordenes digestivos ya que son reconocidos como fibra dietética soluble por lo que reducen el tiempo de tránsito intestinal y contribuye al balance saludable de la microflora intestinal, previniendo y controlando el estreñimiento, por lo tanto reduce el riesgo de cáncer de colon. Se ha comprobado que la inulina y los FOS no aumentan el nivel de glucosa en la sangre pero tampoco la disminuye, aún se siguen haciendo estudios sobre los efectos que podría tener el consumo de inulina y/o FOS en la glucosa sanguínea ya que no hay nada comprobado al respecto. *(Manrique, I.; A. Párraga Y M. Hermann. 2005)(Nordic Council Of Ministres, 2000)*

En cuanto a su consumo, existen diversas formas de consumir el yacón, la forma más común de consumo es el fruto fresco; debido a la reciente difusión de sus bondades se consumen en jugos y extractos. La industria del yacón va en aumento ya que se producen jarabes, hojuelas, pasas, miel, harina de yacón y hasta bolsas de té. Hay mucho más potencial para su explotación ya que al ser una rica fuente de FOS, se podrían extraer estos componentes en mayor escala y usarlos en la industria panadera y pastelera ya que mejoran las características organolépticas y nutricionales del producto; se pueden usar los FOS como sustitutos del azúcar para reducir el valor calórico y elaboración de productos dietéticos debido a su sabor dulce, también como prebióticos en la elaboración de yogures y quesos. Si bien sus homólogos como la chicoria y la dalia ya siguen esta línea en la industria, el yacón tiene mucho potencial para desarrollarse y competir con sus homólogos. *(Franck A. y Levecke B., ORAFTI)*

II. REVISION DE LA LITERATURA

2.1 Descripción botánica

El yacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson) pertenece a la familia de las asteráceas o también llamada compositae (compuestas). Antiguamente se le clasificó dentro del genero *polymnia* (Asteraceae, Heliantheae, Melampodinae) sin embargo, Robinson las reordenaría dentro del género *Smallanthus* (Asteraceae y Heliantheae) debido a la diferencia al patrón de las estrías en la superficie del fruto. Esta nueva clasificación es actualmente preferido por los taxónomos, aunque el nombre antiguo *Polymnia sonchifolia* Poepp. & Endl. Se le considera sinónimo. Los nombres comunes o vernaculares que recibe el yacón varían según la zona, tanto en lengua quechua como aimara, Aricoma y Aricama son términos aymaras y se usan en ciertas zonas de Bolivia. Llaqon, Llacum, Llacuma, Yacumpi, son en quechua. El término yacón vino ya después con la conquista española y en Ecuador se le conoce como Jicama, Chicama, Jiquima y Jiquimilla. (Hermann and Heller, 1999)

Según lo que citan Manrique et al (2003), el género *Smallanthus* comprende 21 especies, de las cuales siete han sido encontradas en el Perú, están son: *S. fruticosus* (Benth) H. Robinson, *S. glabratus* (DC) H. Robinson, *S. jelksy* (Hieron.) H. Robinson, *S. parviceps* (Blake) H. Robinson, *S. riparus* (H.B.K) H. Robinson, *S. siegesbeckius* (DC) H. Robinson, *S. Sanchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson.

2.1.1 La planta

Es una planta perenne que puede llegar a medir entre 0.7- 2.5 metros de altura. Si esta proviene de la semilla consta de un solo tallo principal, en cambio, si proviene de propágulos consta de varios tallos.

Normalmente la planta puede producir entre 2-3 kilogramos de raíces, pero con buenas prácticas de cultivo como el uso de fertilizantes, riego adecuado y control de plagas puede rendir hasta 5 kilogramos por planta. (Ver figura 14 Anexo F.)

2.1.2 Raíz tuberosa

El yacón cuenta con dos tipos de raíces: raíces fibrosas y reservantes. Las raíces fibrosas son siempre delgadas y su función es fijar la planta al sustrato (suelo) y absorber nutrientes. Las raíces reservantes son engrosadas, fusiformes, de color blanco, crema o con manchas purpuras.

La forma de la raíz tiene una apariencia muy parecida a la del camote, esta puede variar desde ovada o esférica hasta alargadas ya que diferentes factores pueden afectar la forma y el tamaño como la variedad, tipo de suelo, localidad entre otros. La superficie es lisa en su mayoría pero con algunas hendiduras. La cáscara es delgada y se encuentra muy bien adherida a la pulpa.

Los tejidos internos de la raíz son blandos ya que acumulan grandes cantidades de agua (entre 80 y 90% del peso total) siendo variable el peso, fluctuando entre 50-1000 gramos, aunque el promedio es de 200-500 gramos. (Ver figura 15 Anexo F)

2.1.3 Los tallos

Los tallos son cilíndricos, pilosos y huecos. Los colores varían de verde y/o con pigmentos purpura. Pueden variar el número de tallos por planta, entre 4 y 12 según la variedad del cultivar. (Ver figura 16 Anexo F)

2.1.4 Las hojas

Generalmente las hojas son opuestas de lámina triangular, de base hastada o corazonada con bordes dentados. Hasta la floración en cada tallo se producen entre 13 y 16 pares de hojas. Después de la floración la planta solo produce hojas pequeñas y en menor cantidad. (Ver figura 16 Anexo F)

2.1.5 Las cepas

Las cepas se forman entre los tallos y raíces, es una masa de tejido de reserva con yemas que dar lugar a brotes que reciben el nombre de corona, a partir de este órgano se puede propagar y obtener plantaciones de yacón. (Ver figura 15 Anexo F)

2.1.6 La inflorescencia

La rama floral está compuesta por inflorescencias llamadas también capítulos o cabezuelas. Las flores femeninas o liguladas se ubican alrededor del capítulo, son de color amarillo intenso o anaranjado pálido; las flores masculinas están formadas por un manojo de estambres, producen semillas en pocas cantidades y de poco poder germinativo. (Ver figura 16 Anexo F)

2.2 Distribución geográfica y zonas de cultivo

2.2.1 Distribución geográfica

El yacón es una planta de origen andino y fue cultivada desde la época preincaica. Los cultivos de yacón se expandieron a lo largo de la cordillera de los andes debido a la gran adaptabilidad a diferentes climas templados-montañosos y suelos desde el nivel del mar hasta los 3500 m.s.n.m.

Según León y Cárdenas citados por Manrique (2003), indican que el yacón se encuentra en estado cultivado y silvestre desde Venezuela y Colombia hasta el norte de Argentina, siendo en este último cultivado para consumo familiar en las provincias de Salta y Jujuy. En Bolivia el cultivo de yacón es común las provincias de Tarija, Chuquisaca, Cochabamba y La Paz; en el caso de La Paz, particularmente en Camacho y Yungas se encuentran las áreas de mayor cultivo y diversidad de germoplasma. En Ecuador las áreas de cultivo se encuentran en las provincias de Loja, Azuay Cañar, Bolívar y Chimborazo. En Colombia, en menor grado, se encuentra presente en la provincia del Cauca. En el Perú se encuentra

la mayor variedad de germoplasma de yacón donde se encuentran esparcidos en 18 departamentos de las zonas andinas. (*Hermann y Heller, 1999*) (*Manrique et al, 2003*) (Ver figura 17 Anexo F)

El yacón al ser una planta muy adaptable también se cultiva en otros continentes, en las últimas tres décadas ha logrado extenderse en varios estados de U.S.A pero no un nivel comercial; en nueva Zelanda, se cultivan a nivel comercial las raíces mas no se ha alcanzado un nivel industrial significativo. En Japón, se iniciaron los estudios científicos que determinaron la composición química y es el país donde se han hechos más estudios sobre manejo agrícola, propiedades en la salud y desarrollo de producto. Luego se dispersó por Korea y Brasil. Según Hermann y Heller (1999) el cultivo de yacón ha fracasado en república checa y en el centro de Europa esto debido a las temporadas largas de invierno.

2.2.2 Zonas de cultivo en el Perú

El yacón se cultiva casi en la gran mayoría de departamentos del país. Las principales zonas de cultivo se encuentran en Amazonas (Utcubamba, Bongará y Chachapoyas) , Cajamarca (Cajamarca, Contumazá, San Marcos, San Ignacio y Jaén),Cerro De Pasco (Oxapampa) , Huánuco (Huánuco) y Puno (Sandía Y Carabaya) . Otras zonas de cultivo son: Ancash (Huaraz, Caraz y Yungay), Apurímac (Andahuaylas y Abancay) Arequipa (Arequipa), Ayacucho (Huanta y Huamanga), Cusco (Urubamba, Cusco, Calca, Paucartambo y La Convención), Junín (Huancayo, Concepción, Jauja y Tarma), La Libertad (Otuzco, Santiago De Chuco y Sánchez Carrión), Lambayeque (Incahuasi), Lima (Pachacamac y Yauyos), Piura (Ayabaca y Huancabamba). (*Hermnan and Heller, 1997*) (*Manrique et al, 2003*)(*Muñoz, 2009*)

El follaje puede de tolerar altas temperaturas sin síntomas de daño pero es sensible a las bajas temperatura, La helada destruye la planta siendo el

desarrollo óptimo entre 18-25°C. La planta puede sobrevivir a largos periodos de sequía, pero la demanda hídrica normalmente es significativa. El yacón se adapta a varios tipos de suelos, pero para su óptimo desarrollo los suelos ricos en minerales y moderadamente profundos a profundos sueltos (francos, arenosos) son más productivos. El pH de trabajo varía entre ácidos y ligeramente alcalinos. Los cultivos en ceja de selva y sierra interandina se dan durante todo el año donde la presencia de heladas no es muy intensa o se presentan al final del cultivo, por lo que se recomienda sembrar a inicios de setiembre y octubre en época de lluvia. En el caso de terrenos con riego y sin presencia de heladas la siembra se realiza en cualquier mes del año. La duración del ciclo de cultivo dura entre 6 y 12 meses.

En los últimos años los cultivos y el consumo de yacón se han incrementado en todo el país. El yacón ya no solamente se consume como fruta sino también se está comercializando como producto terminado, es decir, como mermeladas, jarabes, panes, chips de yacón, etc. Ahora lo que llama más la atención es que también se están comercializando las hojas de yacón secas, ricas en antioxidantes y una fuente interesante de estudio. (*Hermann and Heller, 1999*) (*Manrique et al , 2003*)(*Muñoz, 2009*)

2.3 Composición Química y Propiedades Nutricionales del Yacón

2.3.1 Composición Química

El yacón es una raíz tuberosa reservante con alto contenido de agua que varía entre 80 a 90% del peso fresco. Los carbohidratos son los componentes principales del yacón; acumula hasta el 90% en base seca, de los cuales los fructooligosacaridos (se incluye inulina) se encuentran entre 40 y 70% en base seca. Los otros carbohidratos que la conforman son glucosa (menos del 5%), fructuosa (5 a 15%) y sacarosa (hasta 15%). A diferencia de la gran mayoría de raíces comestibles, el yacón no almacena almidón (aunque se han encontrado trazas hasta 0.04% en base seca (Ver anexo Y)); los valores mencionados tienden

a variar ya que la composición de los diferentes azúcares dependen de varios factores como la época de siembra y cosecha, tipo de cultivo, nivel de maduración, almacenamiento, etc. El contenido de lípidos y proteínas es bajo representando de 2.4 % a 4.3% y 0.14 % a 0.43% del peso en materia seca respectivamente El mineral más abundante es el potasio, en promedio se puede encontrar 230mg por 100 g de materia fresca comestible, en menores cantidades se encuentran hierro y magnesio. Las raíces también contienen compuestos con alto poder antioxidantes como polifenoles entre ellos como el ácido clorogénico y varios fenoles derivados del ácido cafeico. Otros compuestos reportados con actividad antioxidante son la quercetina, el ácido ferúlico y el ácido gálico, aunque encontramos polifenoles en la raíz, la concentración mucho mayor en las hojas. (Manrique et al ,2003) (Manrique, 2005) (Hermann et al. 1999) (Muñoz 2009).

Variable	Promedio	Rango
Materia seca (g)	115	98-136
Carbohidratos totales (g)	106	89-127
Fructanos (g)	62	31-89
Glucosa libre (g)	3.4	2.3-5.9
Fructosa libre (g)	8.5	3.9-21.1
Sacarosa libre (g)	14	10-19
Proteína (g)	3.7	2.7-4.9
Fibra (g)	3.6	3.1-4.1
Lípidos (mg)	244	112-464
Calcio (mg)	87	56-131
Fósforo (mg)	240	182-309
Potasio (mg)	2282	1843-2946

Cuadro 01: Composición química del yacón.

Se muestra la composición química del promedio de 10 entradas de yacón procedentes de Perú, Bolivia, Ecuador y Argentina (en relación a 1 Kg de materia comestible de raíz fresca) Fuente: Manrique et al, 2003

Carbohidratos (b.s) %	Primera cosecha (A)	Segunda cosecha (B)	Tercera cosecha (C)
Glucosa	0.72	1.89	3.41
Fructosa	5.60	8.25	26.93
Sacarosa	4.81	6.11	2.90
Oligofruktanos	78.3	74.66	59.61

Cuadro 02: Composición de los carbohidratos del yacón en diferentes estadios de maduración.

Se muestra la composición de los carbohidratos del yacón en diferentes estadios de maduración. A: en floración, B: dos meses luego de la floración y C: cuatro meses luego de la floración. Fuente: Chirinos, 1999.

2.3.2 Fructanos tipo inulina- Fructooligosacáridos

2.3.2.1 Introducción : Fructanos

Los fructanos son un gran grupo de carbohidratos de reserva. Químicamente los fructanos son cadenas de fructuosa que pueden estar unidas a la molécula de glucosa, pero no necesariamente. La estructura de los fructanos y/o oligosacáridos es generalmente abreviado como GF_n o F_n donde G indica las unidades de glucosa y F las unidades de fructuosa. El número de unidades de glucosa/fructuosa es el grado de polimerización (DP) y pueden variar según de dónde provengan (plantas, hongos y bacterias).

Existen varios tipos de fructanos en la naturaleza; estos tipos de fructanos se pueden diferenciar por los tipos de enlaces característicos con la fructuosa. **Los tipo inulina**, son los más conocidos y comunes, son de cadena lineal donde las unidades de fructuosa están unidas por enlaces β -(2 \rightarrow 1) fructosil fructuosa. Este tipo de fructanos son muy comunes en plantas como agave, chicoria, raíces de dahlia, alcachofas y yacón. **Los tipo levanos** son cadenas lineales donde las

unidades de fructuosa se encuentran unidas por enlaces β -(2 \rightarrow 6)fructosil fructuosa. Este tipo de fructanos son muy comunes en algunas plantas monocotiledoneas (levanos de bajo peso molecular) y mayormente en bacterias (levanos de gran peso molecular); y finalmente **los gramíneos o mixtos**, este tipo de fructanos tienen ambos tipos de enlaces β -(2 \rightarrow 1) y β -(2 \rightarrow 6) fructosil fructuosa y pueden presentar ramificaciones. Este tipo de fructanos los podemos encontrar comúnmente en hongos. (Roberfroid, 2005)

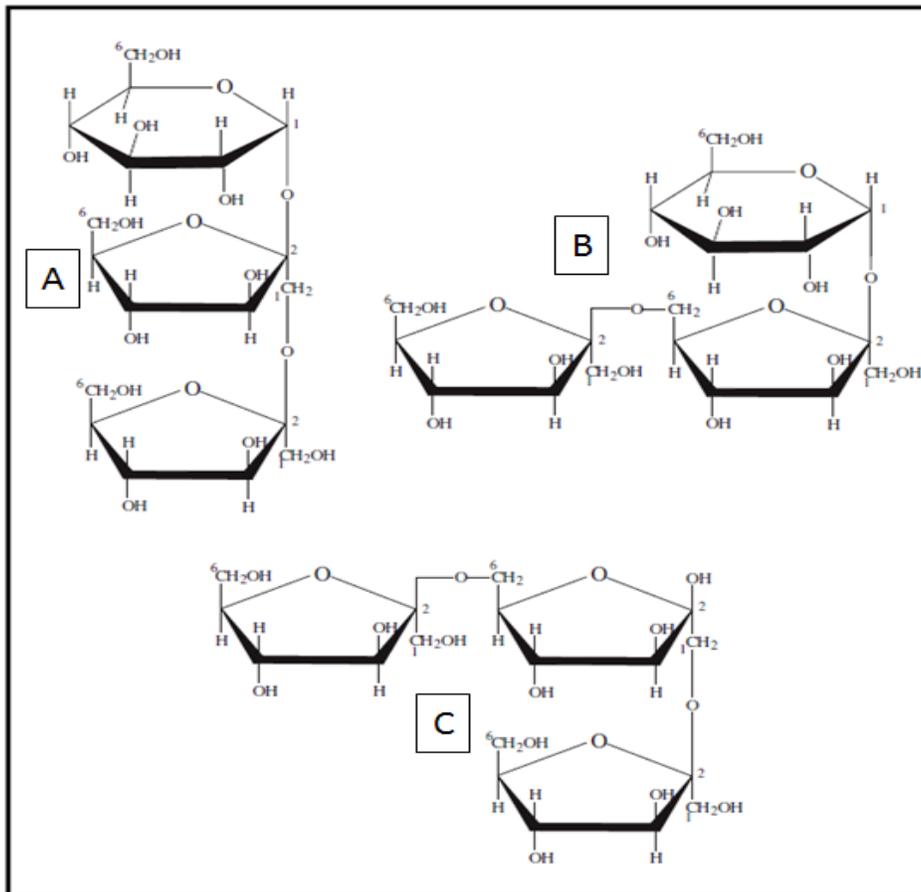


Figura 01: Estructura de los tres tipos de fructanos A) estructura 1-Kestosa (inulina).
 B) Estructura 6- Kestosa (levano).
 C) fructano tipo mixto

2.3.2.2 Fructooligosacáridos : Inulinas de bajo grado de polimerización

Como ya se había mencionando anteriormente, las inulinas son cadenas de fructuosas (β -D-fructofuranosas) que se encuentran unidas mediante enlaces β - $(2\rightarrow1)$ fructosil fructuosas. El primer monómero de la cadena puede ser la molécula de glucosa (α -D-glucopiranosil) o una molécula de fructuosa (β -D-fructopiranosil), aunque no necesariamente la molécula de glucosa se encuentra presente. (Roberfroid, 1999)

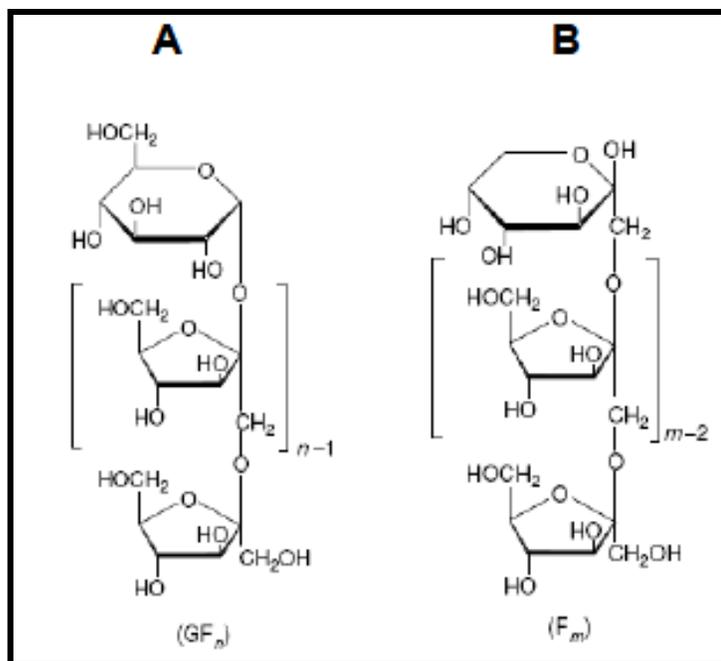


Figura 02: Estructura química de la inulina: con una molécula inicial de glucosa (α -D-glucopiranosil) (A) y con una molécula terminal de fructosa (β -D-fructopiranosil) (B)

Los oligofructosacáridos, oligofructuosas, fructooligosacáridos, comúnmente conocidos como FOS, son carbohidratos compuestos principalmente por cadenas de fructuosas unidas entre sí por el enlace β - $(2\rightarrow1)$ fructosil fructuosas (enlace característico de las inulinas). (Roberfroid, 2005). Se caracterizan por ser de

cadena corta y el grado de polimerización es de 2 hasta máximo 10 monómeros de fructuosa y pueden tener la configuración GF_n y F_n .

Los FOS e inulina se encuentran naturalmente en agave (*Agave spp.*), yacón (*Smallanthus sonchifolius*), alcachofas (*Helianthus tuberosus*), cebollas (*Allium cepa*), ajos (*Allium sativum*) y se también se pueden obtener a partir de la hidrólisis enzimática de la chicoria (*Cichorium intybus*) y raíces de dalias (*Dalia Imperialis*) ya que estas dos últimas son más ricas en inulina que en FOS. La planta que es más usada en la industria para la extracción de fructanos tipo inulina es la chicoria. El DP de la inulina proveniente de la chicoria varía de 2 hasta 60 monómeros de fructuosa con DP promedio de 12. Cerca del 10% de las cadenas de inulina de chicoria tienen DP entre 2 (F_2) y 5 (GF_4). La hidrólisis parcial enzimática usando inulinasa produce oligofruktosas, que son mezclas de los tipos GF_n y F_n , donde el DP varía de 2 a 7 y el DP promedio es 4. Las oligofruktosas también se pueden obtener a partir de la síntesis enzimática usando β -fructosidasa (proveniente de *Aspergillus niger*), en este caso la sacarosa sirve como sustrato. En este producto sintético el DP varía de 2 a 4 y el DP promedio es 3.6 y todos los oligómeros presentes son del tipo GF_n . Aunque ambas oligofruktosas provengan de la hidrólisis parcial y otra de la síntesis, y tengan una ligera diferencia en el DP promedio, el término oligofruktosas se usa para identificar a ambas; es más las oligofruktosas y fructooligosacáridos son consideradas como sinónimos para referirse a mezclas de oligómeros de inulina con $DP_{max} < 10$. (Roberfroid, 2007). Cabe mencionar que comúnmente se utiliza el término oligofruktosa para referirse a los oligómeros de inulina proveniente de la hidrólisis y fructooligosacáridos provenientes de la síntesis, aunque ambas son consideradas sinónimos. (Madrigal y Sangronis, 2007)

En el caso del yacón, el estudio realizado por Ohyama (1990) encontró que los oligofruktanos característicos de las raíces de yacón eran del tipo GF_n donde los de bajo grado de polimerización se encontraban en mayor cantidad que la inulina (ver cuadro 03), asimismo el estudio de Goto et al (1995) confirma que los

oligofructanos característicos del yacón cuentan con los enlaces β -(2 \rightarrow 1) fructosil fructuosas y que estas unidades de fructuosas están unidas a una sacarosa terminal. Este tipo de carbohidratos es no reductor por lo que en la presente tesis se trató de determinar los fructanos tipo inulina – fructooligosacáridos a partir de la hidrólisis de estos para después restarse con los azúcares libres antes de la hidrólisis.

Sacárido	Contenido (mg/g de materia seca)
Fructuosa	350.1 \pm 42.0
Glucosa	158.3 \pm 28.6
sacarosa	74.5 \pm 19.0
GF ₂	60.1 \pm 12.6
GF ₃	47.4 \pm 8.2
GF ₄	33.6 \pm 9.3
GF ₅	20.6 \pm 5.2
GF ₆	15.8 \pm 4.0
GF ₇	12.7 \pm 4.0
GF ₈	9.6 \pm 7.2
GF ₉	6.6 \pm 2.3
Inulina	13.5 \pm 0.4

Cuadro 03: Contenido de azúcares libres y oligofructanos en raíces tuberosas de yacón.
(Tomada de Valentová et al. 2001)

2.3.2.3 Síntesis de inulina y/o fructooligosacáridos

La síntesis y degradación de la inulina y/o fructooligosacáridos se encuentra bajo control enzimático. Debido a que la composición de los FOS en yacón es variable, se hace necesario mencionar cómo es que se lleva a cabo la síntesis y degradación y cuáles son las enzimas que participan en dicho proceso.

(Fukai, 1993).

El contenido de FOS va aumentando a medida que la raíces van madurando y se alcanza un valor máximo un poco antes de la cosecha, después de ocurre lo contrario, el contenido de FOS va disminuyendo mientras que la de los azúcares simples va aumentando (glucosa y fructuosa). En los primeros días de desarrollo de las raíces la concentración de azúcares como glucosa, fructuosa y sacarosa es considerable y la de FOS es baja. Mientras van transcurriendo los días la concentración de FOS va aumentando ya que la enzima que se encarga de formar el precursor de los FOS es la sacarosa: sacarosa fructosil transferasa (1-SST), esta enzima se encarga de catalizar la unión de dos moléculas de sacarosa para producir, el FOS más simple, 1-kestosa más glucosa. La 1-kestosa (ver figura 08) es el intermediario importante para que se formen los demás FOS de mayor grado de polimerización e inulina. La segunda enzima que se encarga de aumentar las cadenas de fructuosas es la fructano: fructano fructosil transferasa (1-FFT) y su función es catalizar la unión de la fructuosa proveniente de un oligofructano para transferirla a otro oligofructano para producir otro de mayor grado de polimerización. *(Fukai, 1993) (Roberfroid, 2005). (Ver figura 07)*

A determinado tiempo, condiciones y temperatura, los FOS comienzan a hidrolizarse en su monómero más simple como fructosa y glucosa; este proceso es realizado por la enzima fructano hidrolasa (FH) que se encarga de liberar las moléculas de fructuosas que se encuentra en la posición terminal de la cadena.

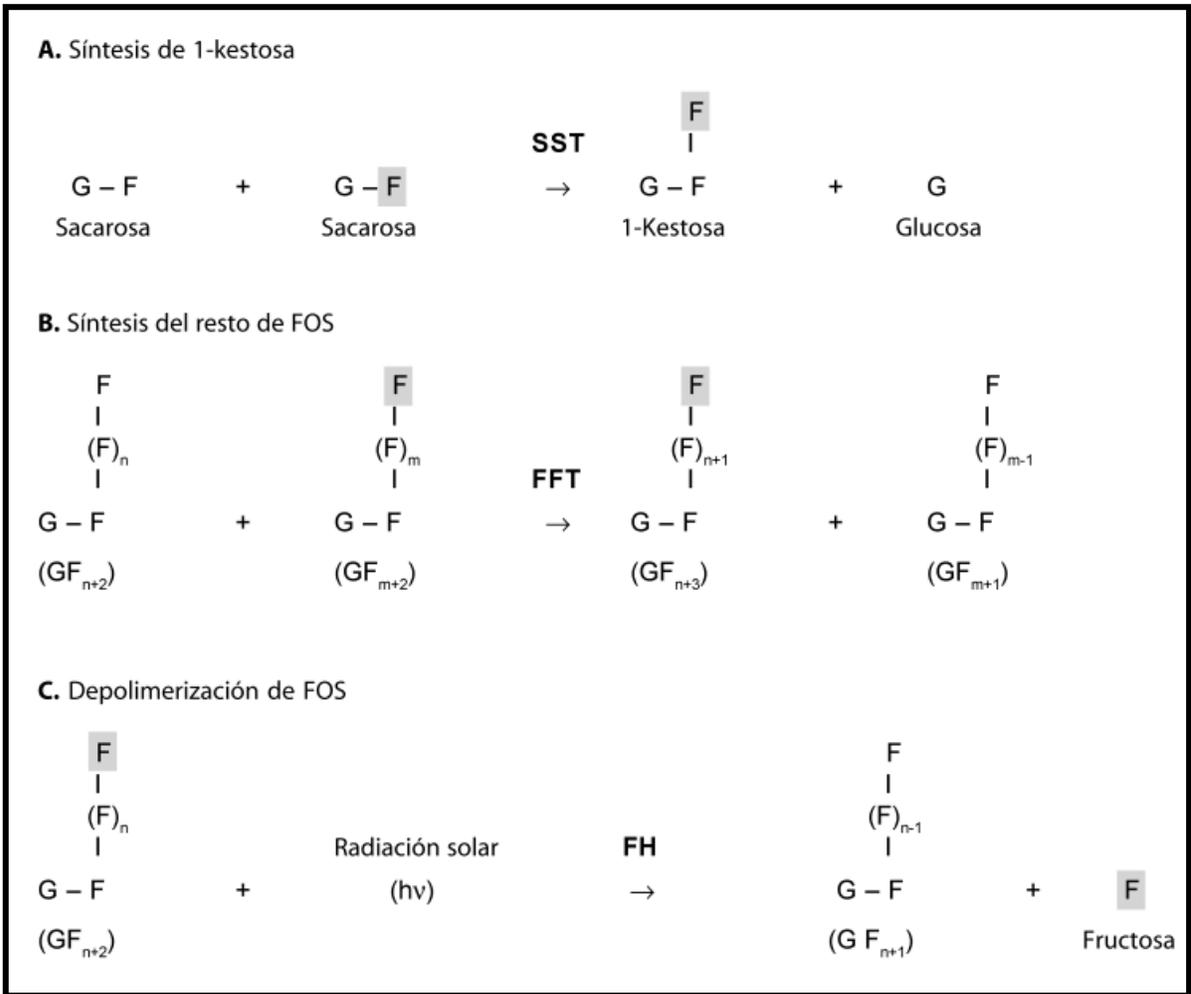


Figura 03: Biosíntesis y degradación de fructooligosacáridos
Fuente: *Manrique et al, 2003*

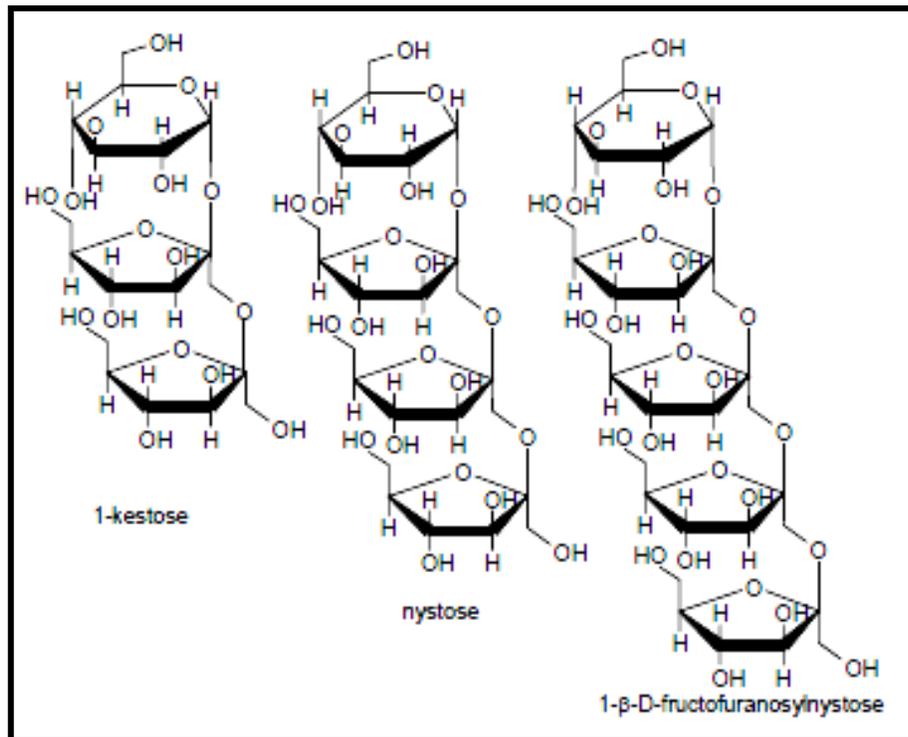


Figura 04: Estructura química de los Fructooligosacáridos más simples.

1-kestosa (**GF₂**)

Nystosa (**GF₃**)

1-β-D-fructofuranosylnystosa (**GF₄**)

2.3.2.4 Propiedades fisicoquímicas de la inulina y fructooligosacáridos

La inulina y sus derivados están siendo estudiados para ser aplicados en el ámbito de la industria alimentaria. Se ha comprobado que sus características físicas son muy diferentes a pesar de poseer el mismo tipo de enlace β-(2→1) fructosil fructosas. La inulina, oligofruktosas o FOS difieren en el grado de polimerización lo que les confiere ciertas características a la hora de ser aplicados en industria.

A nivel industrial la inulina de chicoria se presenta como polvo blanco, sin olor y sabor neutral. La oligofruktosa se presenta en polvo blanco, sin olor y ligero

sabor dulce. La inulina nativa (DP 2 a 60) incluye en su composición a los azúcares libres como glucosa, fructuosa y sacarosa lo que le confiere algo de dulzor. La inulina de alta performance es casi libre de azúcares libres y el DP está comprendido entre 10 y 60, por lo que es menos soluble en agua. Ambas inulinas tienen la capacidad de formar geles por lo que se les utiliza como sustituto de grasas en helados; se usan como estabilizantes para emulsiones y espumas en productos alimenticios como helados, gelatinas y gomas; aunque la inulina de alto performance presenta mejores niveles de desempeño que la inulina nativa. Con respecto a la oligofruktosa, al poseer oligofruktanos de menor grado de polimerización le confiere propiedades como mayor solubilidad en agua, tienen mayor dulzor que la inulina por lo que se les utilizan como sustitutos de azúcar. Se le confiere propiedades humectantes, reduce la actividad del agua y propicia la estabilidad microbiológica. (Ver cuadro 03)

Tanto la inulina como las oligofruktosas bajo condiciones ácidas, puede hidrolizarse liberando moléculas de fructuosa, a pH bajos, la hidrólisis de inulina es hasta un 10%. Por esta razón, estos compuestos no pueden ser usados en alimentos muy ácidos. (Madrigal y Sangronis, 2007)(Franck y Levecke, 2012)

Característica	Inulina	Inulina HP	Oligofruktosa
Estructura química(*)	GF _n (2 = n = 60)	GF _n (10 = n = 60)	GF _n + F _n (2 = n = 7)
GP _{prom}	12	25	4
Materia seca (g/100g)	95	95	95
Pureza(g/100g)	92	99,5	95
Azúcares (g/100g)	8	0,5	5
pH	5 – 7	5 - 7	5 – 7
Cenizas (g/100g)	< 0,2	< 0,2	< 0,2
Metales pesados (g/100g secos)	< 0,2	< 0,2	< 0,2
Apariencia	Polvo blanco	Polvo blanco	Polvo blanco o jarabe viscoso
Sabor	Neutral	Neutral	Moderadamente dulce
Dulzor % (vs. sacarosa=100%)	10	Ninguno	35
Solubilidad en agua a 25°C (g/L)	120	25	> 750
Viscosidad en agua (5% p/p sol. acuosa) a 10 °C (mPa.s)	1,6	2,4	< 1,0
Funcionalidad en alimentos	Sustituto de grasas	Sustituto de grasas	Sustituto de azúcar
Sinergismo	Con agentes gelificantes	Con agentes gelificantes	Con edulcorantes intensos

Cuadro 04: Propiedades físicas de la inulina y oligofruktosa

Fuente: Madrigal y Sangronis, 2007

2.3.2.5 Fuentes de inulina y fructooligosacáridos

Los fructanos son los carbohidratos no estructurales más abundantes que se encuentran en la naturaleza después del almidón. Estos se encuentran presentes en una gran variedad de plantas y bacterias, por lo que el tipo de fructano va a depender, no necesariamente, de la fuente de obtención.

Los fructanos presentes en plantas se encuentran dispersos entre las familias como Liliaceae (agave azul, apio, cebollas, ajos y espárragos) y más frecuentes en las asteráceas (yacón, alcachofas, chicoria y dalia). Tanto la chicoria como dalia son considerados como potenciales candidatos para la industria ya que de todas las mencionadas, los fructanos que contienen son de mayor grado de polimerización y el rendimiento en la extracción de inulina es mayor. (Ver cuadro 04) (Franck y Levecke, 2012)

Los fructanos también se acumulan en especies de *Aspergillus*, pero algunas especies también sintetizan fructanos extracelularmente a partir de sacarosa. Se ha reportado que *Aspergillus Sydowi* sintetiza inulina de alto grado de polimerización, mucho mayor que encontradas en plantas. Por otro lado no se ha demostrado que la *Penicillium*, *Pestalotiopsis*, *Myrothecium*, y *Trichoderma* sinteticen fructanos.

Los fructanos provenientes de bacterias, acumulan fructanos del tipo levanos de alto peso molecular, entre ellos tenemos *Streptococcus mutans*. Se ha encontrado que ciertas familias de bacterias producen fructanos como Pseudomonadaceae, Enterobacteraceae, Bacillaceae y Actinomycetaceae. De todas las familias mencionadas no todos pueden sintetizar o procesar fructanos. Las especies de *Pseudomonas* hasta 10% y *Bacillus* hasta 40 % tienen la capacidad de sintetizar levanos. (Roberfroid, 2005).

Especie vegetal	Inulina (g/100g base seca)
Pataca (<i>Helianthus tuberosus</i>)	89
Achicoria (<i>Cichorium intybus</i>)	79
Raíz de Dalia (<i>Dahlia spp.</i>)	59
Cebolla (<i>Allium cepa</i> L.)	48
Ajoporro (<i>Allium porrum</i> L.)	37
Ajo (<i>Allium sativum</i>)	29
Yacon (<i>Smallanthus sonchifolius</i>)	27
Espárrago (<i>Asparragus officinalis</i> L.)	4
Cambur (<i>Musa cavendishii</i>)	2
Centeno (<i>Secale cereale</i>)	1

Cuadro 05: Contenido promedio de inulina en diferentes especies vegetales

Fuente: Madrigal y Sangronis, 2007

2.3.2.6 Análisis de fructooligosacáridos e Inulina

Existen muchas técnicas analíticas disponibles para la determinación de inulina y fructooligosacáridos, pero no todos los métodos da una cuantificación de todo los componentes presentes (grados de polimerización), por eso se hace necesario la combinación de técnicas para su determinación. (Franck y Levecke, 2012)

Las técnicas por HPLC son efectivas para la separación de oligómeros de bajo peso molecular hasta un DP máximo de 5, aunque a partir de este la separación no es precisa. La mayoría de estos análisis usan columnas específicas para azúcares libres y oligosacáridos, como por ejemplo el uso de las columnas con grupos aminos incrustados. El problema que presentan este tipo de técnicas es en la separación de los picos, en algunos casos se superponen o las fracciones consecutivas tienden a eluir en el mismo tiempo. En general muchas técnicas por HPLC son capaces de separar polímeros de bajo peso molecular y el resto de polímeros eluyen juntos por lo que no se puede cuantificar todas las fracciones de inulina.

Por otro lado existe la variante de HPAEC (Cromatografía de intercambio aniónico) que provee mayor sensibilidad y resolución para el análisis de polisacáridos ya que permite no solo diferenciar inulinas del tipo GF_n sino también del tipo F_n . Usualmente el detector de pulsos amperométricos es el más usado, ya que se ha comprobado que es el mejor para separar oligómeros de inulina y la resolución de polímeros de cadenas largas es mejor que en un HPLC estándar pero sigue sin poder mejorar la separación de polímeros debido a la falta de sensibilidad del detector y por otro lado la falta de estándares para cuantificar fracciones de inulina con alto DP.

Otro método preciso y específico es la determinación por cromatografía de gases; este método consiste en la oximación y silación de los azúcares extraídos. El método puede determinar inulinas de bajo grado de polimerización hasta $DP < 10$, puede diferenciar inulinas del tipo GF_n y F_n y otra característica importante es que puede diferenciar fructanos tipo inulina y levanos. (*Franck y Levecke, 2012*) (*Barclay et al, 2010*)

Debido a que las técnicas mencionadas no pueden separar y cuantificar inulinas de mayor grado de polimerización y por lo que sólo se podría obtener información de inulinas de bajo grado de polimerización (FOS), se hace necesario buscar otros métodos que puedan cuantificar todas las fracciones sin importar cuánto exista de cada una. La desventaja de estos métodos es que no se puede conocer que tan dispersa se encuentran las fracciones en la muestra.

Los métodos más usados para la determinación de FOS e inulina son a partir de la hidrólisis enzimática y/o ácida, cuantificándose a partir de la cantidad de glucosa y fructuosa liberada. Para cuantificar los azúcares liberados se usan gran variedad de equipos como HPLC, GC-MS, métodos colorimétricos por UV-VIS y otros por cromatografía de capa fina –densitómetro.

El método por hidrólisis consiste primero extraer la muestra con agua hirviendo, cuantificar los azúcares libres antes de la hidrólisis, luego hidrolizar los fructanos tipo inulina-FOS (enzimática o química), cuantificar los azúcares liberados, restar la cantidad de azúcares que se obtuvieron antes de la hidrólisis y luego determinar el grado de polimerización promedio basado en el ratio glucosa: fructuosa. Básicamente este es el procedimiento general que siguen los métodos que se basan en la hidrólisis de FOS e inulina. (Barclay et al , 2010)

Existen varios métodos enzimáticos reconocidos por la AOAC, el método 997.08 "Determinación de fructanos en productos alimenticios por HPAEC-PAD". Brevemente consiste en la extracción de los fructanos tipo inulina con agua hirviendo a 85°C por 10 min (tiempo de extracción es variable). Parte de este extracto es para determinar la cantidad de azúcares libres, que después se restarán del total después de la hidrólisis, la otra parte se somete a hidrólisis enzimática con amyloglucosidasa para degradar el almidón y las maltodextrinas , luego se determina la cantidad de glucosa liberada para evitar sobreestimaciones en la determinación de los fructanos. Luego se realiza el tratamiento con inulinasa y se determina la cantidad de glucosa y fructuosa liberada por cromatografía. La cantidad de inulina se determina a partir del resultado obtenido por la diferencia de glucosa y fructosa después de la hidrólisis menos la glucosa, fructuosa y sacarosa inicial. A partir de la siguiente ecuación 1, se obtiene la glucosa proveniente de la inulina (G_i) a partir de la resta de la glucosa total (G_t) menos la cantidad de sacarosa (S) y menos la cantidad de glucosa libre (G_f) mas la cantidad de glucosa proveniente del almidón (G_m) si estuviese presente. (Ver figura 09)

$$G_i = G_t - S/1.9 - (G_f + G_m) \quad \text{Ecuación 1}$$

En la ecuación dos, lo mismo ocurre con la fructuosa dónde (F_t) es la fructuosa proveniente de la hidrólisis con inulinasa, menos la cantidad de sacarosa (S) y la fructuosa libre (F_f).

$$F_i = F_t - S/1.9 - F_f \quad \text{Ecuación 2}$$

Luego de determinar los valores de glucosa y fructosa ambos valores se suman y se multiplica por una constante, que es un factor de corrección por la cantidad de agua perdida después de la hidrólisis que depende del grado de polimerización de la inulina o FOS si es el caso.

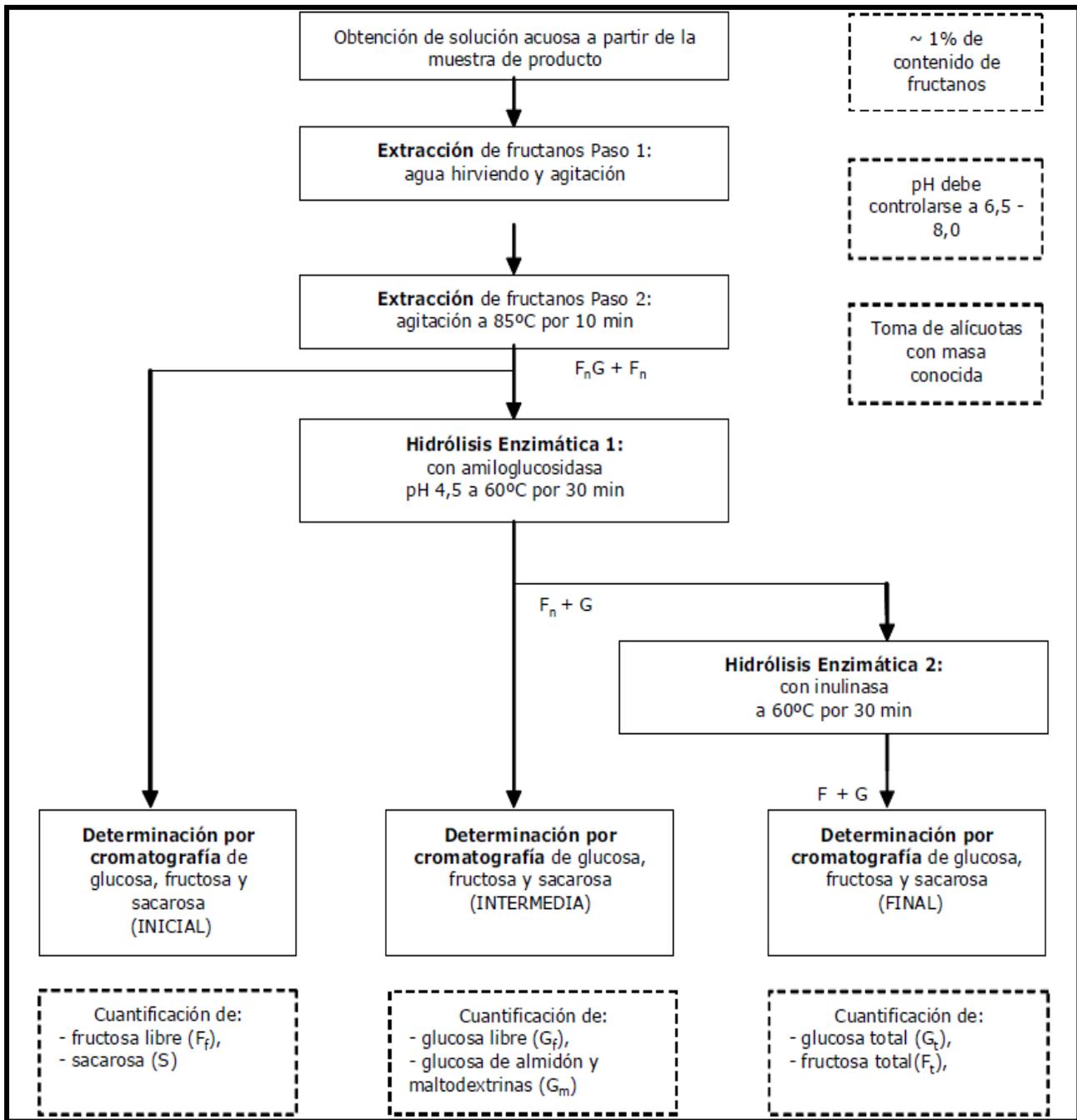
$$i = k(G_i + F_i) \quad \text{Ecuación 3}$$

En la ecuación 4 se explica cómo se halla k , En donde n representa el grado de polimerización promedio. En particular para la inulina proveniente de la achicoria se puede usar n promedio = 10 ($k=0,91$) y para la oligofruktuosa n promedio = 4 ($k = 0,925$).

(AOAC, 2012) (Franck y Levecke, 2012)(Madrigal y Sangronis, 2007)

$$k = \frac{180 + 162(n-1)}{180n} \quad \text{Ecuación 4}$$

El método AOAC 999.03 “Determinación de fructanos en alimentos por el método enzimático espectrofotométrico” también se basa en la hidrólisis enzimática de la inulina y de los azúcares, solo requiere un espectrofotómetro para su determinación. Este método es confiable, exacto pero no puede ser usado para la determinación de inulina del tipo F_n . (AOAC, 2012) (Franck y Levecke, 2012)



**Figura 5: Esquema resumen del método 997.08
 “Determinación de fructanos por HPAEC-PAD”
 Fuente: Madrigal y Sangronis, 2007**

Los métodos enzimáticos son muy seguros, al ser oficiales tienen validez por lo que son precisos, veraces y por lo tanto exactos. El problema con estos métodos es que el costo es elevado y requiere de algunos equipos sofisticados, reactivos no muy comunes y sobre todo enzimas que elevan el costo del análisis, es por eso que se han desarrollado métodos colorimétricos que permiten estimar la cantidad de inulina y FOS utilizando reactivos simples, equipos como un espectrofotómetro lo que abarata el costo del análisis pero con la desventaja de que la exactitud no es la misma comparación a los métodos ya mencionados.

La inulina y los FOS se pueden hidrolizar en medio ácido, a condiciones específicas. La inulina es relativamente estable porque depende de los enlaces glicosídicos; en particular el enlace glucosil-fructosil es más resistente a la hidrólisis que los enlaces fructosil-fructosil, además la fructuosa terminal es más fácil de hidrolizar que la fructuosa interna. Por lo que se necesita trabajar con pH menor a 4 y a temperaturas medianamente altas. En condiciones extremas de temperatura y pH se puede generar la descomposición de los monosacáridos hidrolizados por lo que es importante establecer parámetros de trabajo para evitar descomponer el analito que se desea cuantificar. (*Barclay et al, 2010*)

Se han realizado estudios sobre la estabilidad de la inulina y FOS en diferentes condiciones de temperatura y pH. Según el estudio realizado por Denglin Luo et al (2011) encontró que la inulina es estable a pH = 7, y aumentando la temperatura a este pH la inulina no mostraba signo de degradación. La inulina es fácilmente hidrolizada en condiciones ácidas, a menor pH, más rápido ocurre la degradación de la inulina. Asimismo al aumentar la temperatura promueve que la hidrólisis de la inulina sea más rápida. Cuando el $\text{pH} > 5.0$, la inulina se mantenía estable inclusive en un rango de temperatura de 20-100 °C; por otro lado en el rango $3.0 < \text{pH} < 5.0$ la degradación solo empieza cuando la temperatura se encuentra por arriba de 50°C, mientras que a $\text{pH} < 3$ se daba la hidrólisis incluso a temperatura ambiente. Asimismo, Glibowsky (2011) concuerda con los resultados reportados por Luo et al (2011).

Es así como se ha estudiado la estabilidad de la inulina para poder establecer los parámetros de hidrólisis. Por lo que la hidrólisis ácida es una buena alternativa para cuantificar inulinas por otros medios más económicos. Se puede determinar inulina y FOS por espectrofotometría a partir de que son azúcares no reductores. El reactivo más usado para la determinación colorimétrica (UV-VIS) es el ácido 3,5 dinitrosalisílico (DNS); en este caso el DNS es usado para determinar el contenido de azúcares reductores libres antes de la hidrólisis de la inulina. Luego se determina la cantidad de carbohidratos totales en la muestra por el método fenol- sulfúrico. Para calcular la cantidad de inulina se restan los azúcares libres de la cantidad de carbohidratos totales. Cabe recalcar que la cantidad de sacarosa se encuentra incluida dentro del resultado. *(Barclay et al , 2010) (Hao Wang, 2010)*

Se ha hecho comparaciones entre los métodos colorimétricos y HPLC, según el estudio realizado por Hao Wang (2010) reportó que el método más preciso y exacto es la determinación por HPLC debido a que tiene menos interferencias que en el método colorimétrico; aunque cabe resaltar que el método por HPLC usa inulinasa, enzima que se encarga de la hidrólisis de la inulina, por efecto la exactitud y precisión del método de por sí ya es mejor que la colorimétrica. *(Barclay et al, 2010)*

Existen otras técnicas para cuantificar inulina a partir de la hidrólisis de esta; una de ella es la determinación de los azúcares reductores libres por DNS (u otro método colorimétrico para determinar azúcares reductores) antes de la hidrólisis, luego se realiza la hidrólisis de la muestra y se determina los azúcares libres por DNS. Para calcular inulina se resta la cantidad de azucares reductores después de la hidrólisis menos la cantidad de azucares reductores antes de la hidrólisis. A este resultado se le multiplica por k, que es un factor de corrección por la cantidad de agua perdida después de la hidrólisis y que depende del grado de polimerización de la inulina o FOS si es el caso. *(Chirinos ,1999) (P. Álvarez, 2008).*

Otra técnica muy interesante que usa la hidrólisis de la inulina es la de Simonovska (2000), que se basa en la cuantificación de la inulina-FOS a partir de cromatografía de capa fina-método densitométrico. Esta técnica extrae, separa e identifica los azúcares libres antes de la hidrólisis de la inulina, luego se realiza la hidrólisis de la muestra y se corren los azúcares liberados a partir de la hidrólisis. La cantidad de inulina se calcula a partir de la fructuosa liberada, es decir que se obtiene a partir de la diferencia entre la fructuosa final (después de la hidrólisis) y la fructuosa inicial, a este resultado se le multiplica por un factor para corregir el valor debido a la pérdida de agua durante la hidrólisis. La fructuosa proveniente de la sacarosa también se encuentra incluida dentro del resultado. En la presente tesis se realizará la identificación cualitativa de los FOS e inulina por cromatografía de capa fina del doble desarrollo pero la cuantificación será por hidrólisis de la inulina.

Los métodos colorimétricos mencionados son más usados y aceptados debido a que son simples de ejecutar y más económicos; con estos métodos se trata de aproximar el valor de la inulina y FOS a pesar de que la sacarosa se incluya dentro del cálculo. Es por esto que se siguen desarrollando métodos económicos y menos complejos que permitan la cuantificación de inulina y FOS con la menor cantidad posible de interferentes.

2.3.3 Fructooligosacáridos e inulina: Posibles Efectos en la salud

El yacón viene despertando el interés público debido a sus potenciales efectos benéficos con respecto al contenido de fructooligosacáridos, un tipo de fructano no digerible por el estómago, considerado fibra dietética, prebiótico, bajo aporte calórico y porque no elevan la glucosa en la sangre. Se han realizado diferentes estudios con respecto a la inulina y FOS purificados de plantas como la chicoria y topinambur, y estas han sido empleados para estudios clínicos para identificar cuáles son sus efectos en animales de laboratorio y humanos, encontrándose

efectos fisiológicos positivos para la salud, por lo que al yacón se le confiere este tipo de efectos por contener el mismo tipo de fructanos pero se debe recalcar que aun se no he han hecho estudios directos con yacón. Es por eso muy importante presentar mediante evidencias científicas las propiedades del yacón, por lo que mencionaremos cuáles son los efectos del consumo de inulina y FOS pero no del consumo a partir del yacón. (Hermann, 2003)

2.3.3.1 Fibra dietética, prebiótico y bajo valor calórico.

La definición de fibra dietética es: parte de plantas o carbohidratos análogos que son resistentes a la digestión por enzimas humanas y a la absorción en el intestino grueso pero se fermentan parcial o totalmente en el intestino delgado. La fibra dietética incluye polisacáridos, oligosacáridos y ligninas. La fibra dietética promueve efectos fisiológicos beneficiosos para la salud como laxación, atenuación del colesterol y/o glucosa en la sangre. Sin embargo no existe una lista oficial de los efectos fisiológicos que debería tener la fibra dietética a parte de la función intestinal y disminución de lípidos en la sangre. (Definición por AACC. Devries 2003) (K. Niness, 1999).

La inulina como la oligofruktuosa pasa a través del tracto digestivo sin ser digeridos por las enzimas del estómago, luego ambas escapan de la hidrólisis de la parte alta del intestino, llegando intactas al colon, donde son fermentadas selectivamente por bacterias. Esta selectividad de la fermentación por *bifidobacterias* y *lactobacillus* propone los beneficios asociados a los fructanos tipo inulina. (K. Niness, 1999) (Gibson y Delzenne, 2008).

Los prebióticos se definen como ingredientes alimenticios no digeribles de los alimentos que afectan de manera positiva al huésped, estimulando de forma selectiva el crecimiento o la actividad metabólica de un número limitado de cepas de bacterias colónicas. Estos compuestos se caracterizan por ser moléculas de

gran tamaño que no pueden ser digeridas por las enzimas del tracto gastrointestinal alto, alcanzando el intestino grueso donde son degradados por la microflora bacteriana, principalmente por *bifidobacterias* y *lactobacillus*, formando una biomasa bacteriana saludable y pH óptimo. Esta capacidad de estimular el crecimiento en el colon de bacterias específicas consideradas beneficiosas, y desestimular y hasta anular el crecimiento de bacterias patógenas proponen los beneficios asociados al consumo de FOS en inulinas. (Gibson y Delzenne, 2008) (Roberfroid, 2007)

Otro aspecto muy importante y quizás el más interesante de todos es el bajo aporte calórico. Ambas son usadas como reemplazo de grasas o azúcares para reducir las calorías en alimentos preparados; al contener los enlaces tipo β -(2 \rightarrow 1) fructosil fructosas y al no ser digerido por las enzimas en el estomago, llegan al colon intactas, donde se produce la fermentación por la microflora. La energía producida a partir de la fermentación es el resultado de la producción de ácidos grasos de cadena corta y lactato contribuyendo con 1.5 Kcal/g, por lo que es una buena alternativa para diabéticos ya que se usan como sustitutos del azúcar. (K. Niness, 1999)

Azúcar	Origen	Contenido calorías (Kcal/g)	Poder edulcorante
FOS	Natural	1-1.5	0.3
Glucosa	Natural	4	0.7
Fructosa	Natural	4	1.7
Sacarosa	Natural	4	1
Esteviosidos	Natural	0	30-320
Aspartame	Sintético	0	200
Sacarina	Sintético	0	300-500
Sucralosa	Sintético	0	600

Cuadro 06: Comparación del contenido de calorías por gramo del los FOS y poder edulcorante.
Fuente: Manrique et al ,2003

2.3.3.2 Posibles Efectos en la salud

Como ya se mencionó anteriormente, la inulina y los FOS al no ser digeridos por las enzimas, llegan a la última porción del intestino grueso (colon) sin ser modificados y son fermentados por un grupo de bacterias que forman parte de la microflora intestinal. En el colon también se encuentran bacterias del tipo putrefactivas, que al proliferar, se genera el desarrollo de bacterias patógenas como la *Escherichia Coli*, responsable de la producción de toxinas potencialmente cancerígenas. La fermentación de los FOS produce ácido láctico y ácidos grasos de cadena corta (butirato, propionato, y acetato principalmente) los cuales generan una baja en el pH, impidiendo el crecimiento de las bacterias putrefactivas. (K. Niness, 1999) (Gibson y Delzenne, 2008) (Roberfroid, 2007)

Los estudios en animales de laboratorio demuestran que reducen el nivel de lípidos en la sangre, pero cuando se ha querido verificar estos resultados en humanos, no tienen el mismo efecto que en los ensayos en animales. Algunos estudios revelan que el consumo de FOS e inulina reducen de modo significativo el nivel de colesterol, sin embargo otros sugieren que no provocan la disminución de los lípidos. Se requiere más estudios para determinar el verdadero efecto tanto de la inulina y FOS en la reducción de triglicéridos y colesterol. (Manrique et al, 2003)

Se ha demostrado, en animales de laboratorio, que el consumo de inulina mejora la asimilación de calcio, sin embargo el estudio realizado en humanos se han obtenido diferentes resultados. Se ha evidenciado que el consumo de FOS produce el incremento de la densidad ósea y absorción de calcio, pero también se ha reportado que el consumo crónico produce la pérdida de masa ósea. (Manrique et al, 2003)

Como ya se mencionó anteriormente, el efecto que tiene en la proliferación de bacterias en la microflora intestinal que son beneficiosas, ensayos realizados en

animales han demostrado que reducen el riesgo de desarrollar lesiones precancerosas en el colon, ya que las bacterias que producen este tipo de metabolitos asociados al cáncer de colon, se producen en menor cantidad cuando se incluye FOS en su alimentación (Gibson y Delzenne, 2008). Aun no existen estudios concretos en humanos que evidencien que disminuyen el riesgo de padecer cáncer al colon, pero es un tema importante a investigar ya que el cáncer al colon es el segundo tipo de cáncer que causa muerte en USA. *(Roberfroid, 2007)*

Algunos estudios en humanos han demostrado que el consumo de fructanos tipo inulina incrementa la frecuencia de las deposiciones y el volumen de la masa fecal, ligados directamente con la disminución del estreñimiento, generando así un efecto laxante. Aunque el consumo en exceso genera efectos indeseables como flatulencias, presión abdominal y diarreas, estas van desapareciendo debido a que el organismo se va acostumbrando al consume de FOS. *(Manrique et al ,2003)*

Anteriormente mencionamos el bajo aporte calórico de los FOS y el poder edulcorante que contiene. Por lo que se le considera como sustituto hipocalórico de varios azúcares y pueden ser incluidos en el régimen dietético para personas obesas. Otro tema que va ligado con la obesidad es la diabetes, si bien se ha comprobado en animales que la cantidad de glucosa en la sangre disminuye; en ensayos con humanos no se ha tenido el mismo beneficio, pues se ha reportado que no disminuye ni aumenta la glucosa en sangre. Aun se siguen haciendo estudios con respecto al consumo de FOS e inulina para diabéticos, que ser beneficioso sería un aporte importante para poder controlar la enfermedad. *(Manrique et al ,2003)*

2.3.4 Alimentos Funcionales : el caso de la inulina y oligofruktosas

Hoy en día la búsqueda de nuevas fuentes de alimentación y/o ingredientes que contengan efectos nutricionales positivos en la salud se ha hecho un tema de investigación muy importante, ya que debido a las evidencias, el tipo de alimentación puede modular varias funciones en el organismo que tienen un efecto positivo o negativo. Es por esto que el consumidor de ahora se preocupa en buscar nuevas alternativas alimenticias, que de alguna u otra forma, a parte del aporte nutricional, disminuya los riesgos de padecer alguna enfermedad pero sobre todo mejore ciertos aspectos fisiológicos. Finalmente, los avances en ciencia y tecnología de los alimentos están buscando nuevas técnicas de control que mejoren la composición química de los productos, sea reemplazando y/o agregando ciertos componentes que hacen que el producto final sea considerado “alimento funcional”.

“Un alimento se puede decir que es funcional si sigue los siguientes criterios: 1. Los componentes (nutriente o no) afecten un número limitado de funciones en el organismo y que tenga un efecto positivo; 2. Tener efecto fisiológico y psicológico más allá de los efectos nutricionales tradicionales. Un alimento funcional debe tener efecto relevante en el bienestar y salud del individuo como resultado de la reducción de las enfermedades riesgosas.” *(Texto extraído de Roberfroid, 1999)*

Un alimento natural puede ser funcional si es que contiene componentes que modulen las funciones en el organismo y que sean relevantes para la salud. Un producto alimenticio se puede hacer funcional por muchas formas, una de ella es incrementando la concentración del componente que tenga más probabilidad de causar efectos positivos (fortificación), otra forma es agregar un componente que no se encuentre presente en la mayoría de alimentos pero que los efectos sea beneficiosos y que hayan sido demostrados, por ejemplo el caso de los fructanos tipo inulina considerados como prebióticos. Otra forma de dar “funcionalidad” es reemplazando un componente, usualmente macronutriente, cuya ingesta es

usualmente excesiva, por otro componente que sea beneficioso, por ejemplo el reemplazo de las grasas por inulina de chicoria. (*Roberfroid, 1999*)

Como se ha mencionado anteriormente acerca de los efectos beneficiosos de la inulina y fructooligosacáridos en la salud, el desarrollo de los alimentos funcionales contribuye al mejoramiento de la calidad de los alimentos, sobre todo a la salud y bienestar del consumidor; es así como la inulina y los FOS al provenir de fuentes naturales, se le pueda considerar en un futuro un ingrediente alimenticio funcional. (*Roberfroid, 1999*).

Es aquí donde el yacón podría ser considerado como una fuente de ingredientes para alimentos funcionales, ya que al ser rico en fructooligosacáridos es un buen candidato para competir con la chicoria y dalia, pues como se sabe, estos dos últimos son los más usados para la extracción y comercialización de inulina, que a su vez, se degrada con inulinasa para obtener oligofruktosas. En el caso del yacón ya no sería necesaria la degradación con inulinasa para obtener oligómeros de bajo grado de polimerización, convirtiéndola así en potencial fuente de extracción.

2.4 El yacón en la industria alimentaria

Existen varias formas de consumo del yacón. Tradicionalmente se consume en forma cruda o como fruta fresca; debido a que se han difundido las posibles bondades del yacón, ha despertado el interés de los consumidores y, sobre todo, en industrializar la raíz para crear nuevos productos, mayormente de bajo valor calórico.

Existen productos como pasas de yacón, que son pequeños pedazos deshidratados que se consumen como golosina o como ingredientes en repostería. Otra variante son las hojuelas de yacón, que son rodajas de yacón que

se deshidratan a temperatura controlada, estos chips u hojuelas se consumen como snacks o bocaditos y tienen sabor agradable, similar al de una manzana deshidratada. Otra presentación es el jarabe de yacón, es un concentrado del extracto que se obtiene al evaporar el agua, de tal modo que la concentración de azúcares es aproximadamente el 70%; al ser de bajo contenido calórico debido al contenido de FOS, se le puede considerar como sustituto hipocalórico del azúcar, además de la ventaja de ser nutraceutico. Otra variante es el jarabe de yacón de alta contenido de fructuosa, se obtiene mediante la hidrólisis (enzimática o ácida) de los FOS y que es similar a los jarabes de maíz de alto contenido de fructuosa; esta última se usa como edulcorante en el mercado Americano habiendo sustituido a la sacarosa, por lo que se le puede considerar como una alternativa al jarabe de maíz. Otra manera, no muy común de consumirlo, es como té; esta forma de consumo se inventó en Japón y se recomienda el consumo de la infusión como tratamiento de la diabetes, aunque no exista evidencia científica. En la actualidad Japón y Brasil son los países que producen mayor cantidad de té de yacón. *(Manrique et al ,2003)*

El yacón, al ser una materia accesible en el país, se sigue buscando nuevas formas de procesamiento. El interés sobre los beneficios que se pueden obtener van incrementado y el consumidor de ahora está buscando nuevas fuentes de alimentación que a parte del contenido nutricional del alimento, otorgue otros beneficios a al organismo. Es por esto que es muy importante seguir investigando los beneficios del consumo de yacón para evitar especulaciones, confusiones y malentendidos y así también aplicar tecnologías en el procesamiento que salvaguarden la integridad de los FOS para poder brindar así un producto de calidad y sobre todo funcional.

III. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Determinar la composición química proximal y carbohidratos totales, azúcares libres y carbohidratos como fructanos tipo inulina – fructooligosacáridos del yacón.

3.2 Objetivos Específicos

- Determinar la composición química proximal del yacón (humedad, ceniza, grasa, proteínas, fibras y carbohidratos)
- Determinar la cantidad de minerales por fluorescencia de rayos X
- Determinar los carbohidratos totales por el método fenol-sulfúrico.
- Determinar azúcares libres reductores, mediante técnicas de espectrofotometría UV-VIS previa extracción (evaluando el mejor tiempo de extracción).
- Determinación de fructanos tipo inulina, evaluando la mejor recuperación en tres métodos de hidrólisis ácida.
- Determinar los carbohidratos como fructanos tipo inulina por el método de Miller a partir de la óxido – reducción de los azúcares con el ácido 3,5 dinitrosalisílico (DNS).
- Identificar cualitativamente a los fructooligosacáridos e inulina por TLC de doble desarrollo.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 MATERIAL VEGETAL

4.1.1 OBTENCION E IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA

La presente tesis se desarrolló en el laboratorio de Química, Departamento de Ciencias Exactas, Sección Química, Facultad de Ciencias y Filosofía de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Las raíces de yacón fueron obtenidas de los cultivos del Caserío de Montegrande, Distrito de San Silvestre de Cochán, Provincia de San Miguel, Departamento de Cajamarca. Las raíces no fueron cultivadas bajo ningún tipo de uso de fertilizantes ni pesticidas; los cultivos son orgánicos. Las raíces fueron cosechadas aproximadamente a los 9 meses después de su siembra. La elaboración de la harina a partir de la raíces de yacón se llevó a cabo dentro de los tres días subsiguientes después de su cosecha a fin de evitar la descomposición de la raíz. Las raíces de yacón que se trabajaron en este estudio se caracterizaron por ser de forma variada (fusiformes y/o ovaladas), con cáscara delgada color marrón. El tamaño fue entre 20 y 25 centímetros y de peso variable entre 300 y 500 gramos por raíz. El color de la pulpa se caracterizó por ser amarilla libre de manchas moradas y de sabor dulce; por las características antes mencionada los de la zona la denominan como variedad amarilla.

Las raíces fueron identificadas por el Biólogo Camilo Díaz, profesor de la sección de Ciencias Farmacéuticas de la Facultad de Ciencias y Filosofía (ver Anexo XX).

CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: Smallanthus

Especie: Smallanthus sonchifolius (Poepp. & Endl.) H. Robinson

Sinonimia: Polymnia sonchifolia Poepp. & Endl.

4.1.2 ELABORACIÓN DE LA HARINA DE YACÓN

1. Selección

Se seleccionaron raíces en buen estado de conservación

2. Lavado

Las raíces de yacón fueron lavadas con agua de caño para eliminar impurezas.

3. Remojado

Se remojaron en agua destilada a temperatura ambiente y se le agregó 2g de ácido ascórbico. El tiempo fue de 15 minutos; este paso es importante para evitar el pardeamiento enzimático. Nótese que se usa un ácido débil para no hidrolizar a los fructanos.

4. Pelado y picado

Se le retiró la cascara y se cortaron en rodajas de 0.5 cm de espesor

5. Inactivación enzimática

Se hicieron pruebas preliminares para poder determinar los parámetros de la cocción de la fruta entre ellos el tiempo y la cantidad de ácido ascórbico a usar. Se colocó 300 g de la muestra en rodajas en agua hirviendo durante 5 minutos para inactivar las enzimas causantes de la oxidación (polifeniloxidasas) y de la degradación de los fructanos (fructosil hidrolasas). Se debe recalcar que los fructanos típicos del yacón son solubles en agua caliente por lo que se puede perder hasta 5% en este proceso.

6. Filtrado y Enfriado

Terminado el paso anterior, se procedió a filtrar y se enfrió a temperatura ambiente para facilitar la manipulación en la operación próxima.

7. Secado

Las rodajas se colocaron en bandejas y se dejaron secar en una estufa a 70 °C toda la noche. (*)

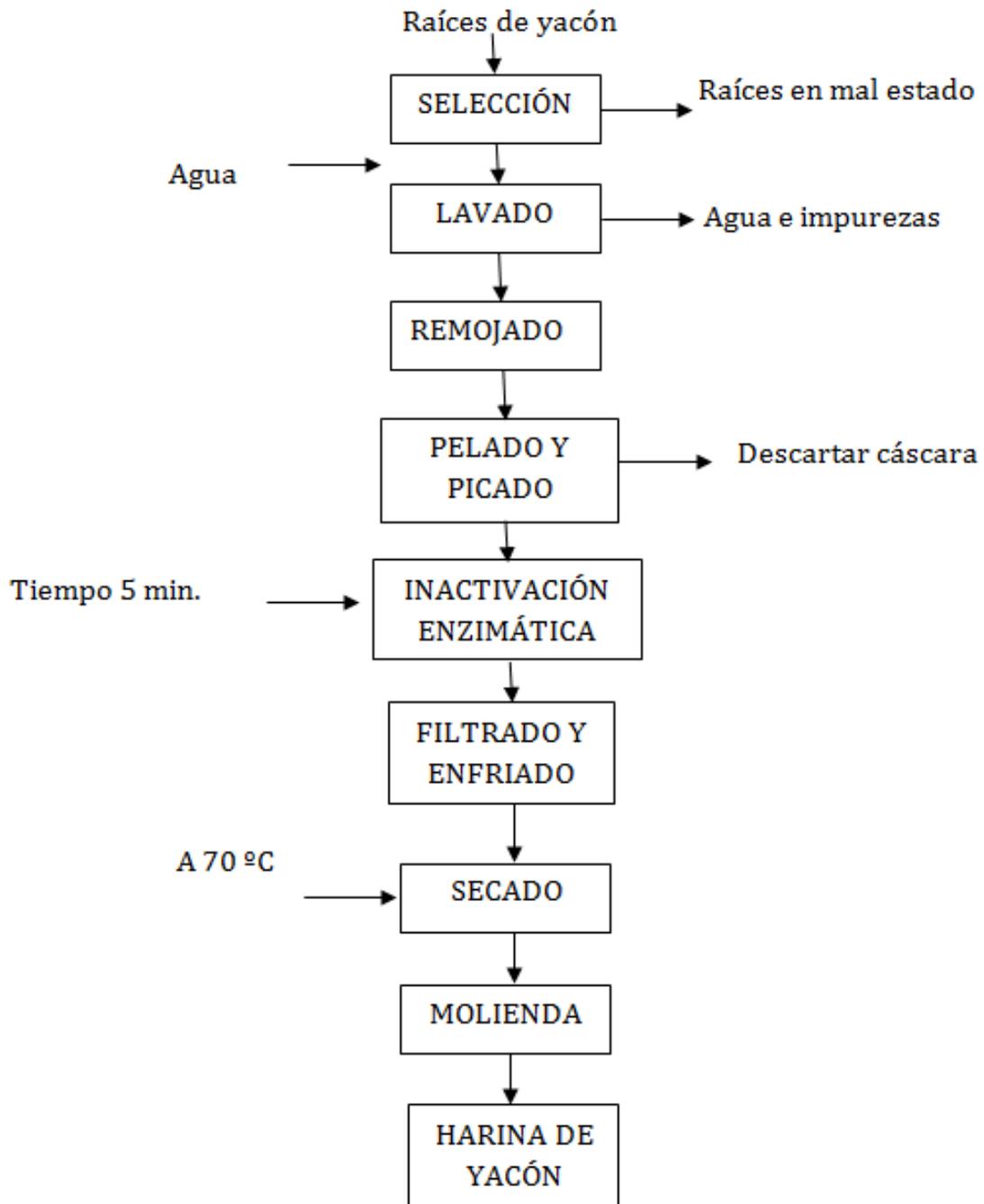
8. Molienda

El producto seco, se trituró con un molino casero a una velocidad máxima para obtener la harina de yacón.

La harina de yacón obtenida se guardó en viales ámbar y se almacenaron en un desecador. La harina se usó para los análisis de ceniza, proteína, grasa, fibra, carbohidratos totales, minerales, azúcares libres y fructanos tipo inulina.

* El yacón al ser una raíz rica en carbohidratos de reserva (glucosa, fructuosa, sacarosa, FOS e inulina) se secó a 70 °C para evitar la descomposición de los mismos, siendo recomendado por la AOAC.

FIGURA 6 : Flujo del proceso para la obtención de harina de Yacón



4.1.3 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO FRESCO DE YACÓN

1. Selección

Se seleccionaron raíces en buen estado de conservación

2. Lavado y desinfectado

Las raíces de yacón fueron lavadas con agua de caño para eliminar impurezas.

3. Pelado y trozado

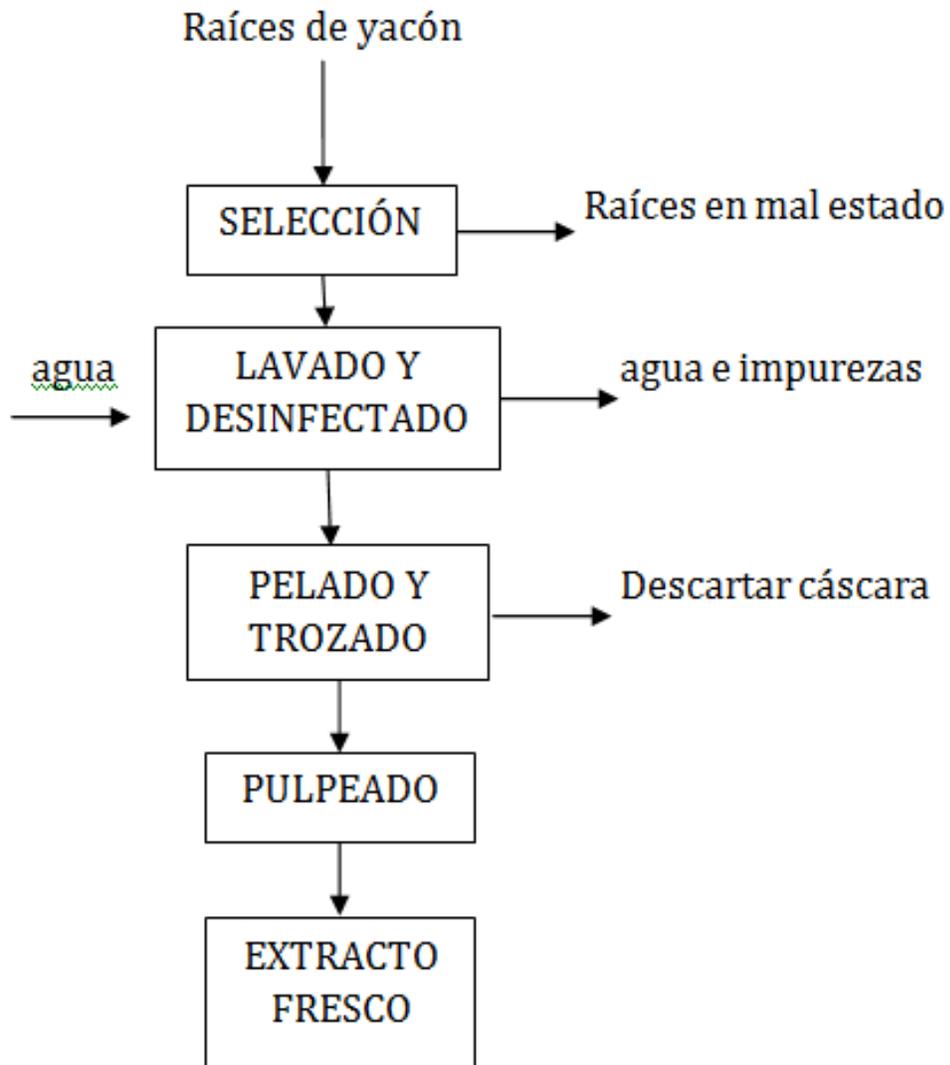
Se le retiró la cascara y se cortaron en trozos de 2.0 cm de espesor

4. Pulpeado

Los trozos se pasaron por una maquina extractora de jugos e inmediatamente se procedió a realizar los ensayos pertinentes.

El extracto fresco de yacón obtenido se usó para los análisis de pH, sólidos solubles y acidez.

FIGURA 7: Flujo del proceso para la obtención del extracto fresco de Yacón



4.2 MATERIAL Y EQUIPOS DE LABORATORIO

4.2.1 Reactivos

- Hidróxido de sodio en pellets (Merck) P.A.
- Ácido sulfúrico al 99% (Merck) P.A.
- Ácido clorhídrico al 37% (Merck) P.A.
- Ácido 3,5 Dinitrosalisílico (DNS) (Merck) P.A.
- Tartrato de sodio y potasio (Merck) P.A.
- Ácido ascórbico (Merck) P.A.
- Bisulfito De Sodio (Riedel – de Haen) P.A.
- Fenol (Merck) P.A.
- Estándar De Glucosa (J.T. Backer)
- Estándar De Fructuosa (Sigma Aldrich)
- Estándar De Sacarosa extrapura (Scharlau)
- Estándar De Inulina (Sigma Aldrich)
- Carbonato De Sodio Sólido (Riedel – de Haen) P.A.
- Acetonitrilo grado HPLC
- Agua ultrapura

4.2.2 Materiales

- Crisoles porcelana
- Capsulas porcelana
- Tubos de ensayo
- Sistema de extracción Soxhlet
- Equipo de reflujo
- Balones de digestión
- Vasos de precipitación
- Bureta de 25 ml
- Probeta de 500 ml
- Equipo de reflujo

- Matraces de 250 ml
- matraces aforados de 100 ml
- Cubetas de cuarzo

4.2.3 Equipos e instrumentos

- Potenciómetro Orion 525A+
- Refractómetro Reichart Technologies-Ametek
- Plancha de calentamiento
- Balanza analítica SARTORIOUS
- Molinillo
- Campana extractora de gases
- Estufa Memmert
- Mufla Memmert
- Extractora de jugos
- UHPLC Dionex ultimate 3000 - Thermo Scientific
- Espectrofotómetro UV-VIS Mini 1240 Shimadzu.
- Espectroscopia de fluorescencia de rayos X PAN-ANALITICAL AXIOS MINERALS.

4.3 MÉTODO DE ANÁLISIS

4.3.1 Análisis Proximal

4.3.1.1 **Determinación de Humedad:** Método gravimétrico.

Se pesaron aproximadamente 2 gramos de muestra fresca sin cáscara en una cápsula previamente acondicionada y pesada; se secó en la estufa a 105°C. Se enfrió y pesó hasta peso constante. El ensayo se realizó por triplicado.

$$\% \text{ HUMEDAD} = \frac{P_{inicial} - P_{final}}{P_{inicial}} * 100$$

- *P_{inicial}*: peso inicial de la muestra fresca
- *P_{final}*: peso final de la muestra deshidratada.

4.3.1.2 **Determinación de Cenizas:** Método gravimétrico.

Se pesó 1 gramo de muestra seca en un crisol previamente acondicionado y pesado. Se quemó parcialmente en una plancha a 300°C y luego se colocó en la mufla a 600°C aprox. dos horas hasta encontrarse libre de carbón. Se enfrió y pesó hasta peso constante. El ensayo se realizó por triplicado.

$$\% \text{ CENIZAS} = \frac{\text{Peso cenizas}}{P_{i \text{ seca}}} * 100$$

- *P_{i seca}*: peso inicial de la muestra seca.

4.3.1.3 **Determinación de Fibra cruda:** Método gravimétrico, que se fundamenta en la obtención del residuo indigerible (celulosa, hemicelulosa, lignina y pentosanos resistentes) resistente a ácidos y bases diluidas.

Se pesó 1g de muestra seca y desengrasada y se colocó en un vaso de 400 mL, se añadieron 100 mL de ácido sulfúrico al 1.25% y se dejó hervir por 30 min a

100°C (en caso de vaporización se procedió a completar el volumen con agua destilada). Terminado el proceso de hidrólisis la solución se filtro con papel whatman #40 se lavó con agua hirviendo hasta que el último lavado sea neutro. El residuo se transfirió a un vaso de 400 mL y se le agregó 100 mL de hidróxido de sodio al 1.25%, se dejo hervir por 30 min a 100°C. Terminada la hidrólisis la solución y se filtro en papel whatman #40 tarado, se lavo con agua hirviendo hasta que el último lavado sea neutro. Se secó por tres horas a 105°C en una estufa hasta peso constante. El ensayo se realizo por triplicado.

$$\% FIBRA = \frac{\text{Peso fibra}}{\text{Pi seca}} * 100$$

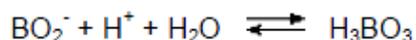
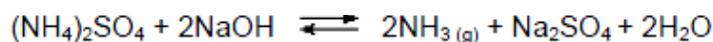
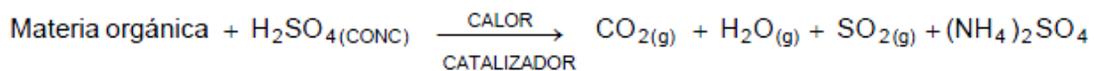
- Pi seca: peso inicial de la muestra seca.

4.3.1.4 Determinación de Grasas: Se empleó el método Soxhlet que se basa en la extracción continua con solvente orgánico (éter). Se pesó 1 gramo de muestra seca y se colocó en un dedal de celulosa con porosidad para que permitiera el paso rápido de éter por la muestra. El periodo de extracción fue de 6 horas con un ratio de 5 -6 gotas por segundo; luego de completarse las 6 horas se recupera el éter y se seca el balón (previamente acondicionado y pesado) en una estufa a 100°C por 30 min. Se enfrió y se pesó hasta que los pesos fueron constantes.

$$\% GRASA = \frac{\text{Peso grasa}}{\text{Pi seca}} * 100$$

- Pi seca: peso inicial de la muestra seca.

4.3.1.5 Determinación de Proteína: Método de Kjeldahl. Se basa en la destrucción de la materia orgánica con acido sulfúrico concentrado, formándose sulfato de amonio que al agregarse hidróxido de sodio libera amoniaco. Este amoniaco liberado es recogido en una solución de acido bórico, formándose el borato, el cual se determina en la valoración con ácido clorhídrico.



Se pesaron entre 0.5 y 1.0 gramos de muestra seca en papel glassine y se colocó en un balón de Kjeldahl, luego se pesaron 10 gramos de sulfato de potasio y 0.5 de sulfato de cobre y se colocaron en el balón que contenía la muestra, finalmente se agregó 15 ml de ácido sulfúrico concentrado y se calentó en el mechero hasta que la solución se torne clara, a partir de esta coloración se tomó el tiempo y se digestó por dos horas. Se realizó un blanco siguiendo el procedimiento mencionado pero sin agregar muestra. Se enfrió a temperatura ambiente para el siguiente paso.

Para destilar el amoniaco, se procedió a agregar 150 mL de agua destilada y 40 mL de NaOH al 50% a los balones. Se homogenizó y se agregaron perlas de vidrio para evitar la formación de burbujas e inmediatamente se colocó en un sistema de destilación, se controló la ebullición de la solución para que la destilación sea continua. Por otro lado el matraz receptor del destilado contenía una solución de ácido bórico al 4% con 5 gotas de indicador de verde de bromocresol. La destilación concluye cuando obtenemos 150 a 200 mL de solución de color verde azulado.

Se valoraron las soluciones con HCl 0.1N y se tituló hasta que la solución vire de verde azulado a amarillo. Las pruebas se realizaron por triplicado más un blanco.

$$\% \text{ PROTEINAS} = \frac{PM * N * (Vm - Vb) * F}{\text{Peso muestra}} * 100$$

- PM: peso molecular del nitrógeno (14.007)

- Vm: volumen gastado de la muestra.
- Vb: volumen gastado del blanco.
- N: normalidad del ácido (0.0981)
- F: factor de conversión (6.25)

4.3.1.6 **Determinación de Carbohidratos:** Se obtuvo por diferencia después que se completaron los análisis de ceniza, proteína, grasa y fibra.

$$\% \text{ CARBOHIDRATOS} = 100 - (\%P + \%F + \%C + \%G)$$

%P: porcentaje de proteínas

%F: porcentaje de fibras.

%C: porcentaje de cenizas.

%G: porcentaje de grasas.

4.3.2 **Determinación de pH:** Se empleó método potenciométrico. En un vaso se colocaron 10 ml del extracto fresco de yacón y se procedió a la lectura. El ensayo se realizó por triplicado.

4.3.3 **Determinación de sólidos solubles:** Se empleó método del refractómetro. Se tomó una alícuota del extracto fresco de yacón y se procedió a la lectura en el refractómetro. El ensayo se realizó por triplicado.

4.3.4 **Determinación de Acidez:** Se tomó 10mL de pulpa recién extraída y se agregaron 20 mL de agua destilada. La acidez se determinó por titulación con hidróxido de sodio 0.1N. Se utilizó fenolftaleína como indicador. La acidez se expresó como % de ácido cítrico.

4.3.5 **Determinación de Minerales por fluorescencia de rayos X:** Esta técnica se basa en la formación del disco (borato de litio + ceniza de la muestra) que se funde a altas temperaturas (1000°C), usando yoduro de amonio como agente

desmoldante. El producto de la fundición (disco) es analizado por fluorescencia de rayos X.

En un crisol se pesó 1 gramo de muestra incinerada libre de carbón (cenizas) y se le agregó 9 gramos del fundente (50% metaborato de litio – 50% tetraborato de litio), se homogenizó y se agregaron 25 gotas de la solución del yoduro de amonio al 25%. Se colocó en el fundidor automatizado por una hora a 1000°C. Cumplido el tiempo se retiró y se enfrió a temperatura ambiente y se procedió a la lectura del disco en el equipo AXIOS MINERALS PAN ANALYTICAL. (ISO 9516). Se realizaron dos lecturas.

4.3.6 **Determinación de carbohidratos**

4.3.6.1 **Determinación de carbohidratos totales:** Se empleó el método fenol - sulfúrico para la determinación de carbohidratos totales (*Dubois ,1956*) que consiste en la deshidratación de la glucosa y fructuosa en medio ácido (concentrado) para formar 5-hidroximetilfurfural. Esta reacción forma un producto coloreado marrón -amarillo con el fenol que tiene máxima absorción a 490nm.

4.3.6.1.1 **Curva de calibración:** Para la determinación de azúcares totales primero se procedió a preparar la curva de calibración usando glucosa como patrón (*Suzanne Nielsen ,2010*). Se prepararon soluciones de glucosa de concentraciones que van de 0.01 - 1 mg/mL, en cada tubo se colocó 1ml de solución estándar y se le adicionó 1 ml de fenol al 5% más 5 ml de ácido sulfúrico concentrado. Se agitaron por 10 minutos y luego se le colocó en un baño de agua entre 25 y 30°C por 20 min. La reacción da coloración amarillo-marrón, luego se procedió a leer en un espectrofotómetro UV-VIS a 490 nm. Se usó agua destilada como blanco.

4.3.6.1.2 **Extracción e Hidrólisis:** Se pesó 1 gramo de muestra y se le agregó 15 mL de agua destilada y se calentó a hervor por 15 minutos. (*Milani et al 2011*). Se filtró y a la solución obtenida se le agregó 5 ml de HCl 1M, se colocó en un baño maría hirviendo por 1 hora. Se retiró y enfrió a temperatura ambiente. Se neutralizó con carbonato de sodio sólido hasta que desaparezca la efervescencia

(R.J Henry, 1989). Luego en un tubo de ensayo se colocó 1ml de muestra hidrolizada y se le agregó 1 ml de fenol al 5% mas 5 ml de ácido sulfúrico concentrado y se repitió el mismo procedimiento descrito anteriormente. En caso necesario se realizaron las diluciones respectivas.

Los ensayos fueron realizados por triplicado y el contenido de carbohidratos totales fueron obtenidos de la curva de calibración. Los resultados fueron expresados en porcentaje de glucosa por 100 gramos de muestra seca.

4.3.6.2 **Determinación de Azúcares Reductores Libres:**

La determinación de azúcares reductores se realizó por el método del ácido 3,5 dinitrosalisílico (DNS) (Miller, 1959) que consiste en la óxido- reducción en medio alcalino del ácido 3,5 dinitrosalisílico con los azúcares reductores. El DNS reacciona con el grupo reductor de la glucosa y fructuosa para formar un compuesto rojo-marrón que tiene máxima absorción a 550nm.

4.3.6.2.1 **Preparación del reactivo ácido 3,5 dinitrosalisílico:** disolver 10 gr de DNS, 2 gr de fenol y 0.5 gr de bisulfito de sodio y llevar a un litro con hidróxido de sodio al 1%. Conservar en botella oscura y refrigerar. Por otro lado se preparó solución de sal de Rochelle al 40% y se refrigeró.

4.3.6.2.2 **Curva de calibración:** Para la determinación de azúcares reductores se procedió a preparar la curva de calibración usando fructuosa como patrón. Se prepararon soluciones estándar de fructuosa de rangos de 0.1-3 mg/ml. En un tubo de ensayo se agregó 1 mL de cada solución estándar y se le adicionó 3ml de DNS y se calentaron en un baño de agua hirviendo por 5 minutos, se retiraron del baño de agua y se le , de agua destilada, se enfrió a temperatura ambiente, la reacción da coloración rojo-naranja y se leyó a 550nm. Se usó agua destilada como blanco.

4.3.6.2.3 **Extracción de los azúcares:** se pesó 1 gramo de muestra seca y se le agregó 25 mL de agua destilada y se calentó hasta hervor. Se hicieron tres pruebas diferentes en los tiempos de extracción de los azúcares libres para establecer el tiempo de extracción necesario; los tiempos empleados fueron 10, 15 y 20 minutos. Se tomó el tiempo desde el primer hervor. Luego de la extracción se tomó el pH de la solución, en caso necesario se le agregó hidróxido de sodio 0.1N hasta pH neutro. Las soluciones se filtraron y se realizó el ensayo de azúcares reductores descrito en el punto 4.3.6.2.2. En caso necesario se realizaron las diluciones respectivas.

Los ensayos fueron realizados por triplicado y el contenido de Azúcares Reductores fueron obtenidos de la curva de calibración. Los resultados fueron expresados en porcentaje de fructuosa por 100 gramos de muestra seca.

4.3.6.3 **Determinación de sacarosa por HPLC:** Para la determinación de sacarosa se mandó la muestra de harina de yacón al laboratorio de ensayo **CERPER** (ver anexo H). Se empleó el método AACC 80.04-01. 11th Ed 2009. Brevemente, se pesó 5 gramos de muestra seca y se le agregó 100 mL de etanol al 60 % (v/v). Los azúcares se extrajeron en un shaker con baño de agua caliente a 83°C por 20 minutos, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se filtro en papel whatman N° 4. Adicionalmente, la solución se filtro en cartuchos Sep-pak C 18 para limpiar la muestra y dejarla libre de interferencias, luego se pasó por filtros de membrana de 0.22 µm antes de la inyección. Los ensayos fueron realizados por triplicado y el contenido de sacarosa fue obtenido a partir de la curva de calibración.

Las condiciones de la corrida fueron las siguientes:

Fase móvil: acetonitrilo:agua (75:25)

Flujo: 1 mL/ min.

Volumen de inyección: 10 uL

Columna: Luna NH₂

Temperatura del horno: 50°C

Detector: Índice de Refracción (IR)

Elución: isocrática

4.3.6.4 Determinación de Fructanos tipo inulina - FOS

Para la determinación de fructanos se procedió a realizar la hidrólisis de la muestra, para esto se probaron tres diferentes métodos y se escogió el método con el que se obtuvo mayor porcentaje de recuperación. Luego se realizó el ensayo de azúcares reductores por el método de Miller.

- **Método 1** (*N. A. Ananina, 2009*): Se pesó 1 gramo de muestra seca y se le agregó 15 mL de agua destilada y se calentó a hervor por 15 minutos. Se filtró y a la solución obtenida, en un balón de fondo plano, se agregó 25 mL de HCl al 5%. Se llevó a reflujo en un baño de agua hirviendo por 2.5h, se enfrió a temperatura ambiente y se neutralizó con NaOH al 10%. Se filtro y se llevó a un volumen de 100 mL con agua destilada. Se realizó el ensayo de azucares reductores.
Por otro lado se pesó 1 gramo de estándar de inulina y se realizó el mismo procedimiento descrito anteriormente. Se realizaron las diluciones necesarias en caso de lecturas altas.
- **Método 2** (*Chirinos, 1999*): Se pesó 1 gramo de muestra seca y se le agregó 15 mL de agua destilada y se calentó a hervor por 15 minutos. Se filtró y a la solución obtenida, sobre un balón de fondo plano, se le agregó 50 ml de HCl al 5% y se colocó en un sistema de reflujo por dos horas a una temperatura entre 65-70°C en baño maría. Se enfrió y se neutralizó con NaOH al 10%, la solución se filtró y se llevó a un volumen de 100 mL con agua destilada. Se realizó el ensayo de azúcares reductores.
Por otro lado se pesó 1 gramo de estándar de inulina y se realizó el mismo procedimiento descrito anteriormente. Se realizaron las diluciones necesarias en caso de lecturas altas.
- **Método 3** (*Ebrahim Eskandari, 2009*): Se pesó 1 gramo de muestra seca y se le agregó 15 mL de agua destilada y se calentó a hervor por 15 minutos. Se filtró y a la solución obtenida, en un balón de fondo plano, se le agregó 25 mL de HCl al

5%. Se llevo a reflujo en un baño de agua a una temperatura mayor a 90°C por una hora. Se enfrió y se neutralizó con NaOH al 10%, la solución se filtró y se llevó a un volumen de 100 mL con agua destilada. Se realizó el ensayo de azúcares reductores.

Por otro lado se pesó 1 gramo de estándar de inulina y se realizó el mismo procedimiento descrito anteriormente. Se realizaron las diluciones necesarias en caso de lecturas altas.

Los fructanos se calcularon por la diferencia entre los azúcares reductores producto de la hidrólisis y los azúcares reductores antes de la hidrólisis (azúcares libres). A este resultado se le multiplicó por el factor 0.925 (para oligosacáridos DP promedio 4) debido a la pérdida de agua durante la hidrólisis. (*Prosky and Hoebregs, 1999*) (*Simonovska, 2000*).

Los resultados obtenidos fueron expresados en porcentaje de fructuosa por 100 gramos de muestra seca.

4.3.6.5 Cromatografía en Capa Fina

La identificación cualitativa de los fructanos tipo inulina se realizó por cromatografía en capa fina de doble desarrollo.

A partir de la muestra seca, se extrajeron los azúcares con agua caliente y se sembraron en una lámina de sílica GEL 60 F₂₅₄, se colocó en una cámara de vidrio y se dejó ascender la fase móvil con la siguiente composición: acetonitrilo – isopropanol - agua (12:4:6 v/v) dos veces; como solución reveladora se usó una solución de difenilamina-anilina en ácido fosfórico. Para evidenciar los fructanos tipo inulina se prepararon soluciones de los estándares de glucosa, fructuosa, sacarosa e inulina.

Se realizaron varias pruebas cromatográficas en capa fina según los métodos de separación que se describen en el **Cuadro 07: Lista de métodos de separación de FOS e inulinas por TLC** Pero ningún método pudo lograr la separación del

estándar de inulina. Por lo que se trató de desarrollar un método que tratara de separar el estándar de inulina y los azúcares en la muestra.

Cuadro 07: Lista de métodos de separación de FOS e inulinas por TLC

AUTORES	FASE MÓVIL	v/v	MÉTODO
<i>Monika Waksmundzka-Hajnos</i>	isopropanol-agua	70:30	1
<i>Souly Farag</i>	cloroformo- ácido acético y agua	3:3.5:0.5	2
<i>Kanaya et al</i>	n-butanol- isopropanol-agua	3:12:4	3
<i>Deivev et al</i>	n-butanol- isopropanol-agua- ácido acético	7:5:4:2	4
<i>Carlos H. Herrera R</i>	acetonitrilo: agua	85:15	5

V. RESULTADOS

5.1 Análisis proximal del Yacón

El cuadro 08 resume la composición química proximal del yacón. Se observa que el mayor porcentaje corresponde a los carbohidratos, seguido de fibras, proteínas, cenizas y grasas.

Cuadro 08: Análisis proximal del yacón

Parámetro	Contenido % p/p	DS
Humedad	83.53	1.30
Proteínas*	2.94	0.19
Grasas*	0.4 0	0.05
Cenizas*	2.03	0.23
Fibra*	6.08	0.53
Carbohidratos**	88.55	0.76

* Ensayos realizados en base seca. (b.s).

** valor determinado por cálculo matemático.

- Los resultados son el promedio de tres repeticiones.

5.2 pH, Sólidos solubles y acidez.

El cuadro 09 resume el contenido de pH, sólidos solubles y acidez. Los ensayos se trabajaron con el extracto fresco de yacón.

Cuadro 09 pH- sólidos solubles y acidez

Parámetro	Resultado
pH	6.14
Sólidos Solubles (°Brix)	15.3
% Acidez	0.2069

5.3 Determinación de Minerales por fluorescencia de Rayos X.

Cuadro 10: Contenido de minerales en yacón

Minerales	mg/100 g de muestra seca
K	554
P	270
Ca	144
Mg	64
Fe	10
Cu	1
Zn	1

* promedio de dos determinaciones

5.4 Determinación de Carbohidratos

5.4.1 Determinación de carbohidratos totales

La Figura 18 muestra la curva de calibración de Carbohidratos Totales con la respectiva ecuación: **Absorbancia = 0.1984 + 0.6739 C (mg/ml)** y $r^2=99.5\%$. El análisis estadístico de la curva de calibración determinó que el 99.5% de los datos se ajustan al modelo lineal. En el anexo A se detalla el análisis estadístico.

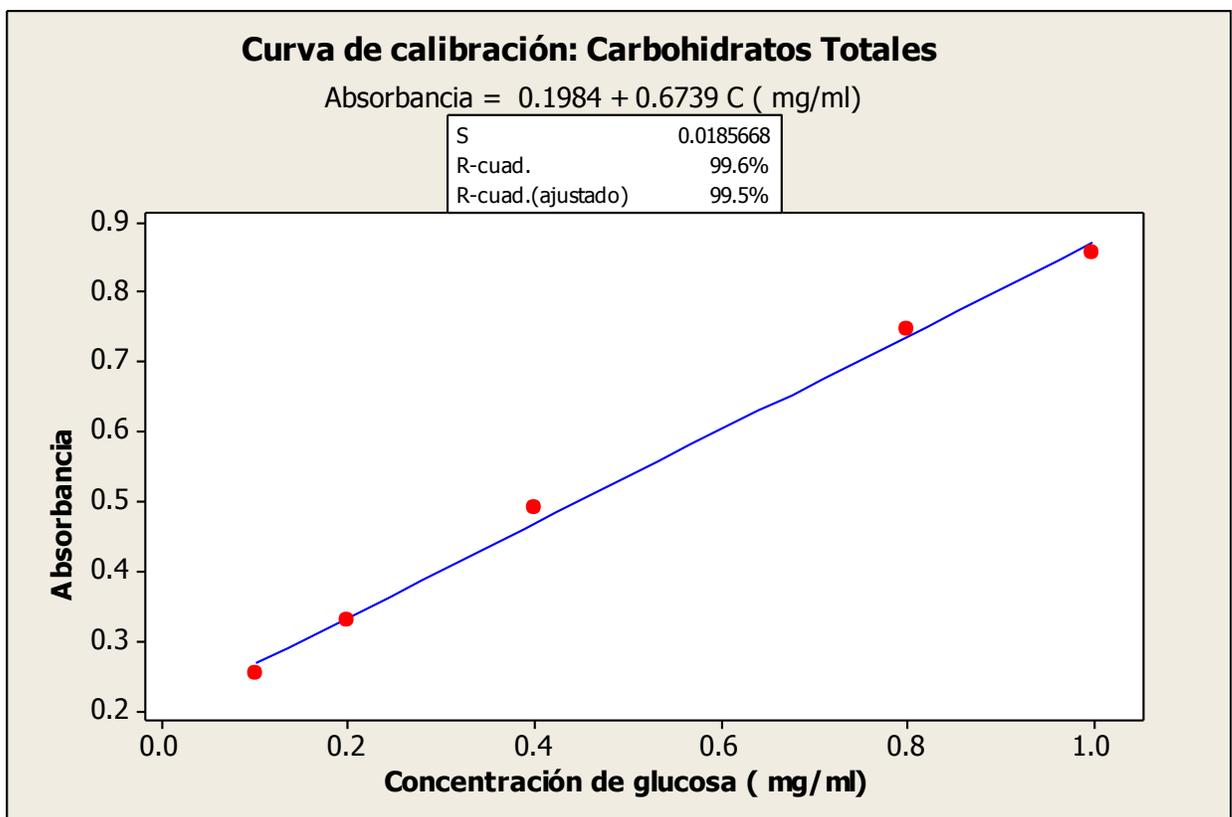


Figura 18: Curva de calibración de carbohidratos totales

El cuadro 11 muestra el resultado del ensayo del carbohidratos totales, se observa que el contenido de carbohidratos es alto, pero menor que el contenido determinado matemáticamente (ver cuadro 08)

Cuadro 11: Contenido carbohidratos totales determinado por el método fenol-sulfúrico.

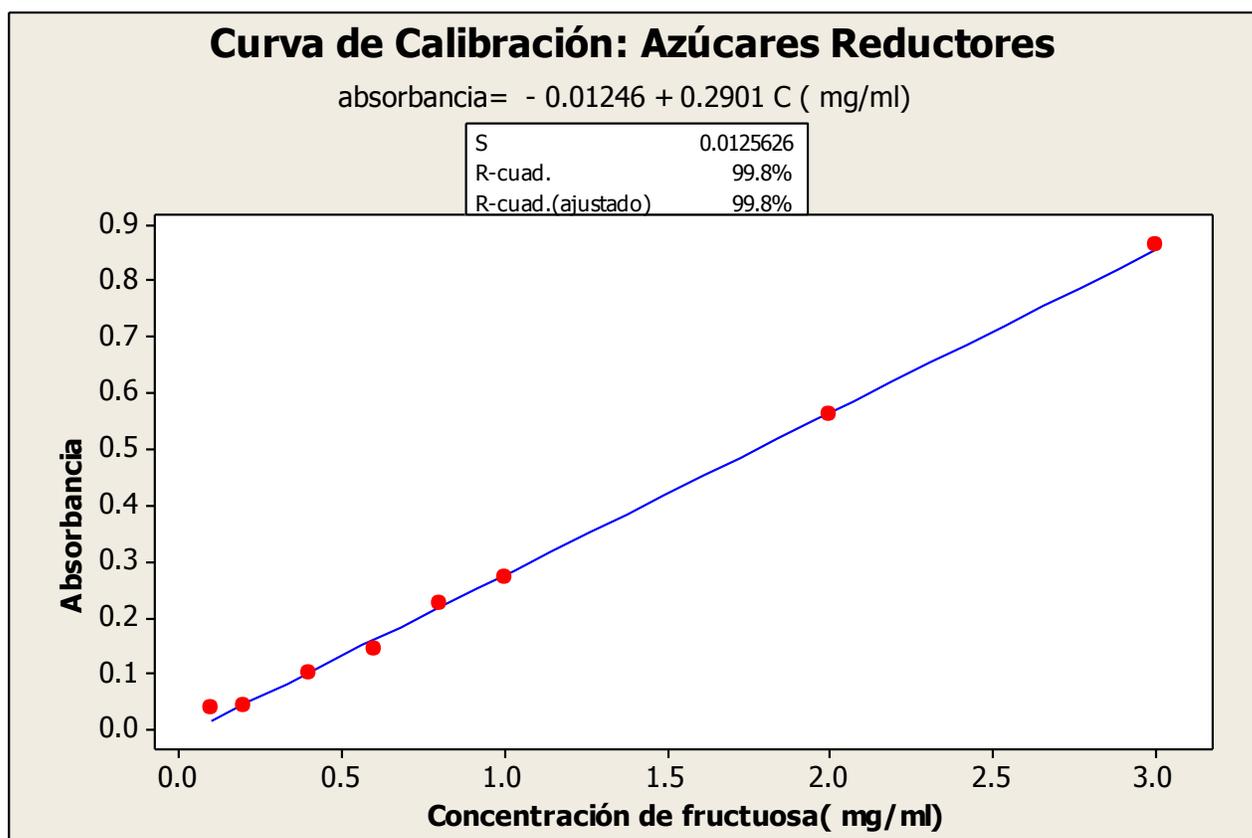
Parámetro	Contenido % (b.s)	D.S
Carbohidratos Totales*	80.00	1.17

* Resultado expresado en porcentaje de glucosa por 100 gramos de muestra seca.

- Los resultados son el promedio de tres repeticiones.

5.4.2 Determinación de azúcares reductores libres

La figura 19 muestra la curva de calibración de Azúcares reductores con la respectiva ecuación **Absorbancia = - 0.01246 + 0.2901 C (mg/ml)** y $r^2=99.8\%$. El análisis estadístico de la curva de calibración determinó que el 99.8% de los datos se ajustan al modelo lineal. En el anexo A se detalla el análisis estadístico.



La figura 19: Curva de calibración de azúcares reductores

El cuadro 12 muestra los resultados de los azúcares libres (glucosa y fructuosa) en los diferentes tiempos de extracción.

Cuadro 12: Contenido de azúcares libres en diferentes tiempos de extracción

Parámetro	Tiempo de Extracción	Contenido %	D.S	promedio
Azúcares libres	Tiempo 1: 10 min.	8.16	0.27	8.49
	Tiempo 2: 15 min.	8.67	0.84	
	Tiempo 3: 20 min.	8.64	0.29	

* Resultado expresado en porcentaje de fructuosa por 100 gramos de muestra seca.

*Se realizó el análisis estadístico de las equivalencias en los tiempos de extracción. (Ver anexo A).

- Los resultados son el promedio de tres repeticiones.

5.4.3 Determinación de sacarosa por HPLC.

En el cuadro 13 se muestra el resultado del contenido de sacarosa en harina de yacón.

Cuadro 13: Porcentaje de sacarosa en harina de yacón.

Parámetro	Contenido % (b.s)
Sacarosa	4.2%

* Resultado expresado en base seca.

* Método referencia: AACC 80.04-01. 11th Ed 2009. Determination of simple sugar in cereal products. HPLC-IR.

* ver anexo H.

5.4.4 Determinación de fructanos tipo inulina-FOS

El cuadro 14 muestra los resultados del porcentaje de recuperación de inulina en los tres tipos de hidrólisis

Cuadro 14: Porcentaje de recuperación del estándar de inulina en los tres métodos de hidrólisis.

Ensayo	Método	Porcentaje de recuperación	D.S
Hidrólisis	Método 1	55.15	0.83
	Método 2	95.62	0.42
	Método 3	87.59	0.50

* Resultado promedio de tres repeticiones expresados en base seca.

**Resultado expresado en porcentaje de fructuosa

El cuadro 15 muestra el contenido de fructanos tipo inulina – FOS. El resultado es la resta de los azúcares libres presentes antes de la hidrólisis menos los azúcares presentes después de la hidrólisis, dicho resultado se multiplicó por 0.925 para obtener el promedio de fructooligosacáridos en la muestra.

Cuadro 15: Contenido de fructanos tipo inulina-fructooligosacáridos en yacón

Parámetro	Contenido %	D.S
Fructanos (inulina + FOS) *	65.33	1.4

* Resultado expresado en porcentaje de fructuosa por 100 gramos de muestra seca.

* Resultado obtenido a partir de la hidrólisis del método 2 (HCl al 5%, tiempo 2 horas y temperatura 65°C-70°C)

5.4.5 Cromatografía de Capa Fina

De los 6 métodos ensayados, no se observó resolución alguna con los métodos 1, 2 3, 4 y 5 como se puede observar en las figuras que se muestran a continuación el estándar de Inulina (que contiene al fructooligosacárido) no logra desplazamiento alguno en las fases móviles ensayadas.

Con el método 6 se logró observar una banda no definida para inulina, la misma que presenta la muestra en forma similar y en la que no fue posible obtener el RF, no obstante con este método se logro identificar las bandas par Glucosa, fructosa y sacarosa.

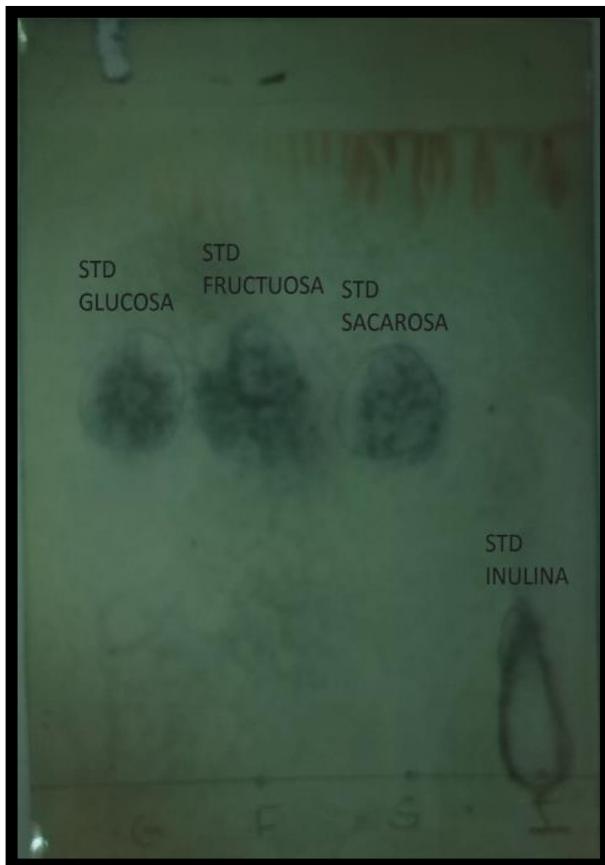


Figura 08 : Método 1 fase móvil isopropanol-agua (70:30 v/v)

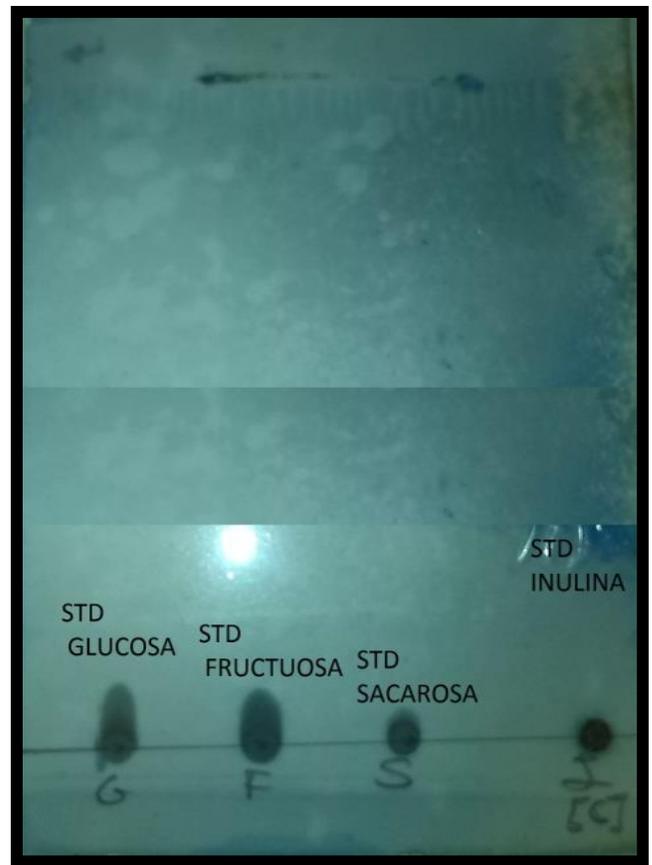


Figura 09: Método 2 fase móvil cloroformo- ácido acético y agua (3:3.5:0.5 v/v)

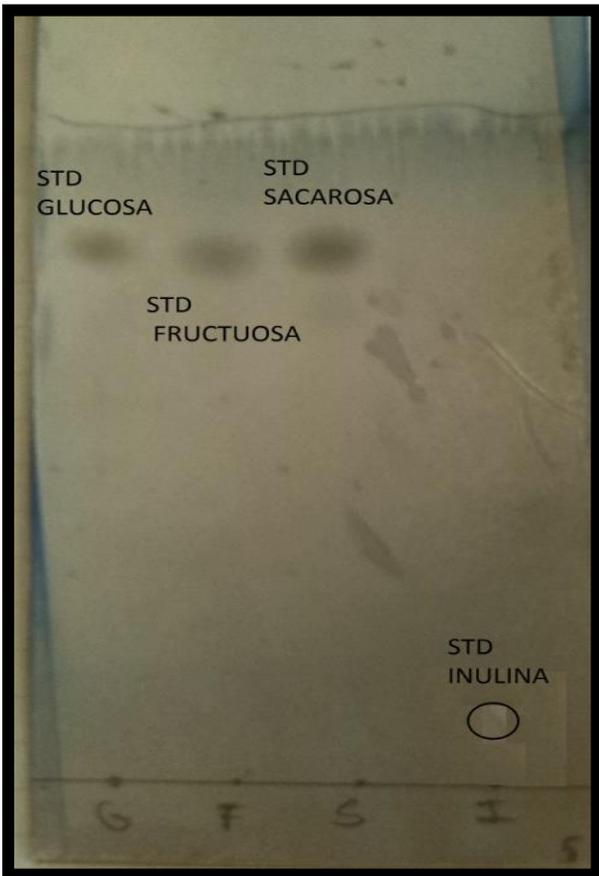


Figura 10: Método 3 fase móvil n-butanol-isopropanol-agua (3:12:4 v/v)

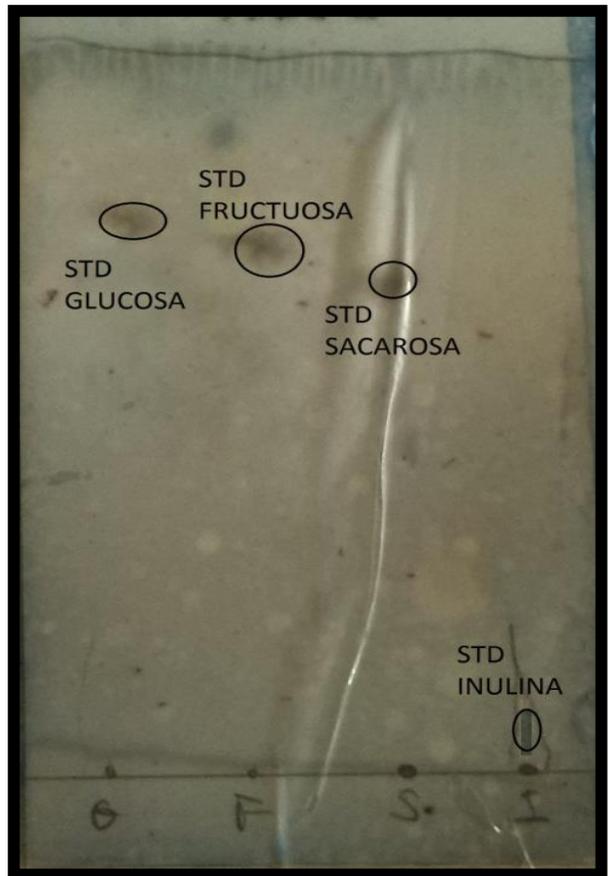


Figura 11 : Método 4 fase móvil n-butanol-isopropanol-agua-acido acético (7:5:4:2 v/v)

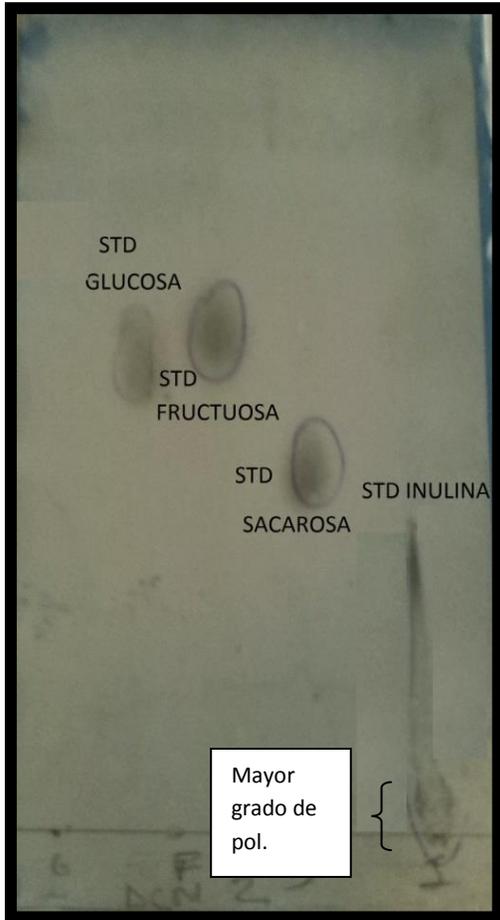


Figura 12: Método 5 fase móvil acetonitrilo: agua (85:15 v/v)



Figura 13: Método 6 fase móvil acetonitrilo – isopropanol - agua (12:4:6 v/v)

VI. DISCUSIÓN

En los diversos estudios de yacón solo algunos describen la variedad y otros solo hacen referencia al color de la pulpa. En nuestro caso la materia prima procede del Caserío de Montegrande, Distrito de San Silvestre de Cochán, Provincia de San Miguel, Departamento de Cajamarca y según los recolectores de la zona la denominan variedad amarilla, por el color de la pulpa del yacón. En el caso de los estudios de Coronado (2013) y Mindani (2008); el primero describe en su estudio la variedad amarilla y el segundo como pulpa de color amarilla, por lo que a continuación en el cuadro 16 realizamos comparaciones de nuestros resultados con otros estudios.

Parámetro	Salvatierra (2015) variedad amarilla	Coronado (2013) pulpa amarilla	Mindani (2008) variedad amarilla	Hermann (1999) no específica variedad
% Humedad (b.s)	83.53	88.45	86.46	70 - 93
% Grasa (b.s)	0.4	0.95	0.07	0.4 - 1.3
% Proteína (b.s)	2.94	5.5	7.66	1.3 - 7.3
% Carbohidratos (b.s)	88.55	87.5	83.06	N.D
% Cenizas (b.s)	2.03	3.02	2.87	1.1 - 6.7
% Fibra (b.s)	6.08	0.85	6.34	1 - 5.7
% Sólidos solubles (°Brix)	15.3	8.6	12	N.D
pH	6.14	6.58	6.2	N.D
% Acidez	0.2069	N.D	0.03	N.D
% Azúcares reductores libres (b.s)	8.49	8.34	5.5	N.D
% Carbohidratos totales	80	87.03 - 88.15	88.13	N.D
% Sacarosa (b.s)	4	N.D	N.D	N.D
% FOS e inulina (b.s)	65.33	N.D	45.91	N.D

* resultado expresado en porcentaje por 100 gramos de muestra seca.

Cuadro 16: Composición química del yacón de diferentes estudios.

En el cuadro 08 se muestran los resultados de la composición química del yacón. Se encontró 83.53% de humedad valor cercano al hallado por *Mindani (2008)* 86.46 % pero relativamente bajo a los valores reportados por *Coronado (2013)* 88.45%. Según las recopilaciones de *Hermann (1999)* el contenido de agua en raíces de yacón fluctúan entre 70% y 93%. Como se sabe este resultado podría estar relacionado con el estado de maduración, lugar de procedencia, condiciones de almacenamiento así también como el método de secado para su determinación. El contenido de proteínas 2.94%, es bajo al reportado por *Mindani (2008)* y *Coronado (2013)* cuyo valor es 7.66% y 5.5% respectivamente; los valores que presenta *Hermann (1999)*, que son compilaciones de diferentes fuentes de estudio, el rango reportado varía entre 1.3% y 7.3 % en base seca. El contenido de grasa 0.40%, un valor intermedio comparado con *Coronado (2013)* 0.95% y alto en comparación con el reportado por *Mindani (2008)* 0.07%. *Hermann* reporta valores entre 0.4%-1.3% en base seca. El contenido de ceniza 2.03% es bajo en comparación a los valores reportados por *Mindani (2008)* y *Coronado (2013)* siendo 2.87% y 3.02%. *Hermann* reporta valores entre 1.1%-6.7% en base seca. El contenido de fibra cruda 6.08%, cercano al reportado por *Mindani (2008)* 6.34% y muy alto al reportado por *Coronado (2013)* 0.85%. *Hermann (1997)* reporta valores entre 1%-5.7% en base seca.

El contenido de carbohidratos 88.55%, el valor es cercano en ambos casos a los reportados por *Mindani (2008)* y *Coronado (2013)* siendo 83.06% y 87.5% respectivamente. Como se observa el yacón se destaca por su alto contenido de carbohidratos siendo en su mayoría los fructooligosacáridos que pueden encontrarse entre 50 y 70% en base seca, seguido de glucosa , fructuosa y sacarosa . El contenido de inulina en las raíces de yacón es bajo en comparación a las raíces de *Dalias* y *alcachofas*. (*Ohyama y Asami ,1990*). El contenido de estos componentes está sujeto a depender de varios parámetros, entre ellos el estado de maduración, procedencia, condiciones ambientales como las épocas de siembra y cosecha, proceso de transporte y almacenamiento entre otros. (*J. Lachman et al, 2004*) y (*Hermann et al, 1999*)

La determinación de carbohidratos se realizó por diferencia al restar el total de 100% menos los macro nutrientes restantes (fibras, proteínas, cenizas y grasas); este método nos puede dar una aproximación de la cantidad de carbohidratos presentes pero algunos componentes como restos de azúcares neutros provenientes de la celulosa y/o hemicelulosa y otros componentes que no son estrictamente carbohidratos como por ejemplo algunos ácidos orgánicos y/o restos de lignina de se pueden incluir en el resultado por diferencia. (*Merrill and Watt, 1973*). El valor obtenido por diferencia no debería ser muy usado ya que estos incluyen los errores acumulativos provenientes de las determinaciones previas por lo que si se determinara directamente estos errores no estarían incluidos en el análisis (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*). En el presente estudio, se realizó el ensayo de carbohidratos totales por el método fenol - sulfúrico para determinar un valor más exacto que se discutirá más adelante.

El pH encontrado fue de 6.14, valor aproximado al reportado por Mindani (2008) 6.2 y ligeramente bajo al reportado por Coronado (2013) 6.58. El porcentaje de acidez determinado fue de 0.207, valor alto con el reportado por Mindani (2008) que fue de 0.03%.

Los grados brix ó Sólidos solubles, son muy usados en la industria alimentaria y sirven para determinar el contenido de azúcares en las frutas y de alguna manera poder establecer la maduración del fruto; Si bien en la escala Brix cada grado equivale a 1 gramo de sacarosa por 100 gramos de solución, esto es siempre y cuando sea la sacarosa como componente principal, en este caso el valor se entenderá como un aproximado puesto que también en el extracto se encuentra otros azúcares como la glucosa, fructuosa y FOS. En nuestro caso los sólidos solubles, fueron expresados en °Brix siendo el valor de 15.3, valor ligeramente alto con respecto al reportado por Mindani (2008) siendo 12 °Brix; y el estudio realizado por Coronado (2013) reporta 8.6. Según el estudio realizado por *Hermann et al (2003)* para el yacón de variedad amarilla, los sólidos solubles tienden a aumentar dependiendo según el tiempo de exposición de secado al sol encontrándose hasta 17.6 °Brix por dicho efecto (después de seis días de exposición al sol), el estudio encontró que existe una relación inversa entre los

grados brix y el contenido de fructooligosacáridos en base húmeda, es decir que a mayor grados brix, menor es el contenido de los fructooligosacáridos debido a la descomposición de estos. En nuestro caso, podemos decir que el estado de maduración de la raíz de yacón era óptima.

El contenido de magnesio encontrado fue de 64 mg/100 gramos en base seca, es elevado comparado con el estudio realizado por *Muñoz (2006)* quien reporta para el yacón proveniente de Cajamarca (sin especificar variedad) 48.88 mg/100g. Seguidamente de hierro 2.83 mg/100g y cobre 0.71 mg/100g, en el presente estudio se reportaron hierro 10 mg/100g y 1 mg/100g para cobre.

En cuanto al estudio realizado por *Pereira (2012)* compara la cantidad de minerales en base seca de la pulpa y cáscara de yacón, siendo así para el potasio, fósforo y calcio 1487 mg/100g, 213 mg/100g y 25 mg/100g respectivamente para la pulpa y 2035 mg/100g, 224.1 mg/100g y 150.8 mg/100g respectivamente para la cáscara de yacón. Mientras los valores más bajos son de cobre 1.6 mg/100g y zinc 1.1 mg/100g para la pulpa y 2.2 mg/100g y 1.4 mg/100g para la cáscara. En este estudio los valores de potasio, fósforo y calcio no coinciden numéricamente pero son los que se encuentran en mayor proporción, siendo 554 mg/100g, 270 mg/100g y 144 mg/100g respectivamente, pero si coinciden con los valores más bajos como cobre 1 mg/100g y zinc 1 mg/100g. Cabe resaltar que la muestra de yacón es un cultivo orgánico libre de fertilizantes por lo que probablemente se deba a la baja cantidad de minerales reportada en comparación con otros estudios.

Existen varios métodos para la determinación de carbohidratos totales, en este estudio se decidió por el método fenol- sulfúrico debido a su simplicidad, rapidez y exactitud. (*Nielsen, 2010*). Para la determinación de carbohidratos totales previamente se realizó la hidrólisis de la muestra debido a que al realizar directamente el ensayo las lecturas hechas en el espectrofotómetro no guardaban algún tipo de relación (para una misma muestra y 3 lecturas por muestra) esto puede explicarse a partir de la velocidad de reacción para deshidratar la glucosa

no es la misma que para deshidratar a los fructooligosacáridos e inulina debido a su mayor grado de polimerización. Debido a esta falta de concordancia se realizó una previa hidrólisis para liberar los monosacáridos (glucosa y fructuosa) para obtener mejores resultados. Según lo descrito por *Nielsen (2010)* el método es aplicable para polisacáridos y oligosacáridos ya que la presencia de calor y sobre todo de ácido concentrado provocan que se liberen los monosacáridos; en la práctica esto no sucedió por lo que se tuvo que realizar la hidrólisis previa al ensayo.

El contenido de carbohidratos totales determinado por el método fenol-sulfúrico fue de 80.00%, y el determinado por diferencia matemática fue de 88.55%. Esta diferencia puede explicarse primero, por lo mencionado anteriormente, que la determinación por diferencia aritmética arrastra los errores de las determinaciones previas y segundo, el valor se sobreestima ya que otras sustancias como algunos ácidos orgánicos, restos de lignina, azúcares neutros provenientes de la celulosa y/o hemicelulosa pueden incluirse en el cálculo. Es por esto que en el presente estudio se determinó los carbohidratos totales directamente. *Coronado (2013)* realizó un estudio con harinas de yacón secadas a diferentes temperaturas en la estufa (40°C y 60°C). En este estudio se realizó la determinación de carbohidratos totales por el método fenol-sulfúrico obteniendo como resultado 87.03% y 88.15% para las temperaturas de secado de 40°C y 60°C respectivamente. *Mindani (2008)* reportó 88.13% utilizando un liofilizador para obtención de la porción de ensayo. El presente estudio se acogió a lo recomendado por la AOAC, ya que el yacón al ser una fuente rica en carbohidratos se trató de conservar la muestra y los analitos al máximo por lo que se secó a 70 °C para evitar la descomposición de los mismos.

En muchos otros estudios, determinan la cantidad de carbohidratos por el método de “diferenciación” o por la suma de los carbohidratos individuales presentes, en el caso del yacón los carbohidratos más representativos son los azúcares como la glucosa, fructuosa, sacarosa, FOS e inulina. Por lo tanto es importante determinar los carbohidratos totales en el yacón para así poder establecer un valor más certero.

Otro método que indirectamente establece la maduración de la raíz es la determinación de los azúcares reductores libres, a mayor cantidad de azúcares mayor es el grado de maduración de la raíz. Los métodos mencionados como determinación de grados brix y azúcares reductores libres son indicadores de la maduración del fruto.

Los azúcares libres que se encuentran en el yacón son la glucosa, fructuosa y sacarosa. Mediante el método de *Miller (1956)* se cuantificaron a los azúcares reductores libres como glucosa y fructuosa, presentes en la muestra seca. Los resultados se expresaron en porcentaje de fructuosa por cada 100 gramos de muestra. Según la literatura, para extraer a los fructanos característicos del yacón, se realiza en agua hirviendo y los tiempos varían según de la matriz, siendo como mínimo 20 minutos y como máximo 90 minutos. (*Elnaz Milani, 2011*), (*M.J Cabezas, 2012*), (*Saengkanuk, 2011*). En el presente estudio se ensayaron con tres tiempos de extracción de los azúcares libres estableciendo como mínimo 10 minutos y 20 minutos como máximo.

Según los resultados (ver cuadro 11) la cantidad de azúcares libres para el tiempo 1 (10 min), tiempo 2 (15 min) y tiempo 3 (20 min), son 8.16%, 8.67% y 8.64% respectivamente. Como se puede observar los valores son cercanos por lo que se realizó la equivalencia en los tiempos de extracción (ver anexo A, equivalencia en los tiempos de extracción). Se realizó la prueba estadística ANOVA-ONE WAY en el programa MINITAB 16. Se establecieron que los tres tiempos de extracción son equivalentes, por lo que a partir de los 10 minutos se obtiene la misma cantidad aproximada de azúcares libres que a los 20 minutos.

El contenido de azúcares libres reductores encontrado fue de 8.49% (promedio de los tres tiempos de extracción) es relativamente alto con respecto al reportado por *Mindani (2008)* 5.5 % y 8.34% el reportado por *Coronado (2013)*. El estudio de *Chirinos (1999)* reporta 7.54% (según el estado de maduración dos meses después de la floración); cabe recalcar que este estudio no especifica la variedad de la raíz. El contenido de azúcares reductores en yacón es muy variable y puede

verse afectado por varios motivos, entre ellos el estado de maduración de la raíz, según el estudio realizado por *Chirinos (1999)*, determinó la cantidad de azúcares reductores libres en tres estados de maduración del yacón, encontrando que en la tercera cosecha (cuatro meses luego de la floración) el porcentaje es mucho mayor en comparación de aquellas raíces que se encontraban en la primera y segunda cosecha (en floración y dos meses luego de la floración), esto quiere decir que en raíces maduras la cantidad de azúcares reductores se debe a la hidrólisis (por la enzima fructosil hidrolasa) de los fructooligosacáridos, por lo que la fructuosa al ser la unidad fundamental de los FOS se encuentra en mayor proporción seguido de la glucosa.

El contenido de sacarosa encontrado fue de 4.2%, valor ligeramente cercano al reportado por *Chirinos (1999)* para la primera cosecha, 4.81% (ver cuadro 02) y según este estudio el comportamiento de la sacarosa alcanza un máximo en una determinada madurez y empieza a decaer, como se puede observar alcanza un máximo en la segunda cosecha donde empieza a decaer ligeramente el contenido de fructanos, como se mencionó anteriormente el contenido de fructanos puede estar ligado al alto contenido del disacárido, como consecuencia, el contenido de FOS va disminuyendo progresivamente. Hermann (2003) reporta 16.7% para el yacón de variedad amarilla proveniente de Huánuco y va aumentando progresivamente mientras aumenta el tiempo de almacenamiento, reportan 21.1% y 22.4% para 6 y 12 días de almacenamiento respectivamente. El estudio realizado por *Fukai (1993)* analiza el contenido de azúcares en diferentes partes de la planta de yacón (hojas, tallos y raíces secundarias), el estudio reportó 5.1% de sacarosa (materia seca) en raíces de yacón, mientras que el valor más bajo se encontraba en las hojas reportando 1.9%; cabe resaltar que este estudio no menciona la variedad ni el estado de madurez del yacón.

Para la determinación de fructanos tipo inulina – fructooligosacáridos se procedió a determinar la cantidad de azúcares reductores antes de la hidrólisis y los azúcares reductores después de la hidrólisis; el contenido de inulina se calculó entre la diferencia de azúcares reductores después de la hidrólisis menos los

azúcares reductores presentes antes de la hidrólisis, la glucosa y fructuosa proveniente de la hidrólisis de las sacarosa también se incluye dentro del cálculo. El resultado obtenido se multiplicó por el factor $k = 0.925$ (para oligosacáridos DP promedio 4) debido a la pérdida de agua durante la hidrólisis. (Proskey and Hoebregs, 1999) (Simonovska, 2000).

Se realizaron pruebas con tres métodos diferentes para establecer cuál de ellos era el más adecuado para realizar la hidrólisis de la inulina-FOS. Según el **Cuadro 13: Porcentaje de recuperación del estándar de inulina en los tres métodos de hidrólisis**, El método 1 recupera 55.15 %, el método 2 recupera 95.62% y el método 3 recupera 87.59%. El porcentaje de recuperación del método 1 es muy bajo en comparación al método 2 y 3, este bajo porcentaje se debe a la prolongada exposición de la solución y a la temperatura (100°C) provocando así la hidrólisis de los monómeros de fructuosa y/o glucosa. El método 3 recupera un porcentaje relativamente alto debido a que las condiciones en que se realizó la hidrólisis varían en tiempo y temperatura, provocando que la hidrólisis de los azúcares libres sea menor. El método 2 es el que recupera mayor porcentaje de inulina (95.62%) ya que a una temperatura intermedia de 70 °C en baño maría la hidrólisis es más “suave” por lo que los monómeros de glucosa y/o fructuosa se mantienen estables durante el tiempo de reacción. Cabe resaltar que la AOAC (2012) trabaja con rangos de recuperación del analito, en este caso trabajamos al 1% de inulina, por lo que establece que el rango de recuperación es entre 97%-103%. Si bien no nos encontramos dentro del rango, por fines de estudio trabajaremos con el método que recupera mayor cantidad de estándar de inulina. Por lo consiguiente se trabajará con método el método 2 para hidrolizar los fructanos tipo inulina – FOS.

El contenido de fructanos tipo inulina-fructooligosacáridos es 65.33%, valor alto comparado con el reportado por Mindani (2008) 45.91% y Hermann (2003) reporta 49.8% para el yacón de variedad amarilla proveniente de Huánuco, el contenido de estas van disminuyendo mientras el tiempo de almacenamiento va

aumentando, se reportó 39.8% y 30.4% para 6 y 12 días de almacenamiento respectivamente. Según el estudio realizado por *Chirinos (1999)* (ver cuadro 02) reporta valores para la primera cosecha (en floración), segunda cosecha (dos meses luego de la floración) y tercera cosecha (cuatro meses luego de la floración) 78.30%, 74.66% y 59.61% respectivamente. Se observa que el contenido de fructooligosacáridos e inulina varían en función al tiempo de cosecha, es decir que dependen del grado de madurez de la raíz, por lo que a mayor madurez menor cantidad de fructooligosacáridos y eso es debido a que las enzimas empiezan a hidrolizar a los FOS liberando fructuosa y glucosa. El contenido de fructooligosacáridos depende de varios parámetros, entre ellos el estado de maduración, procedencia, condiciones ambientales, proceso de transporte, almacenamiento entre otros. En el caso del almacenamiento, el estudio realizado por *Hermann (2003)*, reporta que un tercio de los FOS presentes se pierde durante el almacenamiento debido a la hidrólisis enzimática y por ende incrementando progresivamente las concentraciones de fructuosa y glucosa. Las condiciones en las que se realizó este estudio fueron entre 15°C-25°C en cuarto oscuro bien ventilado de 0 a 12 días de almacenamiento. El estudio realizado por *Cisneros-Zevallos et al. (2002)*, citado por *Lachman (2004)*, sobre la variabilidad de los carbohidratos según el tiempo de almacenamiento de 0 a 90 días de almacenamiento a 4°C en tres accesiones de yacón en Huánuco, reportan valores de FOS como mínimo 2.1% y 70.8% como máximo en base seca; donde se establece que existe relación inversa entre los FOS y los azúcares reductores. Por otro lado *Ohyama (1999)* hace referencia que los carbohidratos solubles en base seca más representativos son glucosa, fructuosa, sacarosa y fructanos tipo inulina de bajo peso molecular (DP 3-10) ; el contenido de azúcares libres varía desde 29% hasta 58% expresado en base seca; esta variación está relacionada con el contenido de FOS, donde los valores de azúcares libres (glucosa, fructuosa y sacarosa) son mayores a los fructanos tipo inulina de bajo peso molecular (FOS), *Ohyama (1999)* reporta la cantidad de las fracciones de FOS (**ver cuadro 03: Contenido de azúcares libres y oligofructanos en raíces tuberosas de yacón.**) según el grado de polimerización (DP : 2-9), dónde la fracción GF₂ se

encuentra en mayor cantidad y va disminuyendo según va aumentando el grado de polimerización; este estudio propone que la acumulación de fructanos tipo inulina de bajo peso molecular (FOS) puede ser inducido por las altas concentraciones de monosacáridos y disacáridos trayendo como consecuencia que la presión osmótica de las células pueda ser regulada. También se detectó inulina pero el contenido es significativamente bajo; aunque se evidenció que el DP promedio es 14.5. Es por esto que el yacón pertenece al grupo que acumula fructanos de bajo grado de polimerización como el ajo y bulbos de tulipanes en comparación a la chicoria y dalia que se caracterizan por acumular fructanos de alto grado de polimerización asimismo, *Asami et al (1991)*, investigó la variación del contenido de glucosa, fructuosa, sacarosa y oligofructanos (DP: 2-9) durante el crecimiento y almacenamiento de las raíces. El promedio del grado de polimerización de los oligofructanos incrementa durante el tiempo de crecimiento DP máximo 4.3 hasta la cosecha y luego decrece durante el almacenamiento.

Ante todo lo mencionado anteriormente, debido a que existen muchos factores que afectan la concentración de fructooligosacáridos en el yacón, es necesario difundir los resultados de las investigaciones para entender la distribución de sus principales componentes y así realizar mejoras tanto en el sistema de cultivo, manipulación y almacenamiento para que la cantidad de fructooligosacáridos no se pierdan durante todo el proceso.

Para la separación de los fructanos tipo inulina-fructooligosacáridos fue necesario modificar el método que mejor separara el estándar de inulina. El método 5 desarrollado por Carlos H. Herrera et al cuya fase móvil consiste en acetonitrilo: agua (85:15 v/v), fue el que mejor logró difuminar el estándar de inulina (ver figura 18). Se probaron los métodos 1-4, pero con ninguno se logró observar separación del estándar de interés ya que el analito permanece en la base de siembra. (Ver figuras 08-12). El problema de la separación del estándar recae en la polaridad de la fase móvil de los métodos 1-4, en estos casos específicos la composición no es tan polar ya que contiene n-butanol, isopropanol y cloroformo que son solventes

medianamente polares si los comparamos con el agua. El estándar de inulina es una mezcla de varios polímeros de diferentes grados de polimerización con un DP promedio de 36; por lo que la solubilidad del estándar en la fase móvil es un factor a tomar en cuenta para la separación, entonces lo que se puede concluir a partir del resultado obtenido por el método 5 es que al aumentar se la polaridad de la fase móvil, van corriendo los polímeros menos polares (menor grado de polimerización) de la inulina pero no se puede observar una separación evidente entre los polímeros más polares (mayor grado de polimerización) de los menos polares (menor grado de polimerización). Al modificar el método 5 (fase móvil acetonitrilo: agua (85:15 v/v)) se tomaron dos puntos en cuenta: el primero fue que se necesitaba trabajar con una fase móvil lo suficientemente polar para que corriera el estándar pero no tan polar para que todo el estándar de inulina se separe de la base; el segundo fue aumentar la solubilidad de la fase móvil con respecto al estándar para que el analito no se retenga mucho en la base de siembra, esto quiere decir que se aumentó la proporción de agua para poder obtener mejor separación.

Los valores de R_f no son por lo general exactamente reproducibles pero se pueden considerar como una guía o referencia de la migración del analito. En cuanto a los R_f de los métodos 1-4 no se pudieron establecer puesto que no se observó separación de la inulina. En cuanto al método 5 si bien se observa un pequeño halo, el R_f de la inulina obtenido es 0.16; para el método 6 (acetonitrilo – isopropanol - agua (12:4:6 v/v)) el R_f obtenido para los estándares glucosa, fructuosa y sacarosa: 0.94 para el estándar de inulina no se pudo obtener el R_f ya que los polímeros de fructuosa corren en todo lo largo de la placa, ocurriendo lo mismo con la muestra. Para la muestra se obtuvo el mismo R_f para glucosa, fructuosa y sacarosa 0.94.

VII. CONCLUSIONES

- El análisis químico proximal ha logrado confirmar que la raíz tuberosa del yacón contiene alto contenido de agua 83.53%, seguido de carbohidratos 88.55%. Los valores promedios obtenidos para proteínas, grasas, cenizas y fibras son 2.94%, 0.4%, 2.03% y 6.08% respectivamente expresados en base seca. Los valores promedio para pH, sólidos solubles y acidez son 6.14, 15.3 y 0.206 % respectivamente.
- Se determinó la cantidad de minerales por fluorescencia de rayos X, encontrándose que los minerales que se encuentra en mayor cantidad son potasio (554 mg/100 g), fósforo (270 mg/100g) y calcio (144 mg/100 g) expresados en base seca.
- Se determinó la cantidad de carbohidratos totales por el método fenol-sulfúrico, reportándose 80.0% en base seca.
- Se estableció que los tiempos de extracción de 10, 15 y 20 minutos son equivalentes para la determinación de azúcares libres, por lo tanto a los 10 minutos ya se han extraído la mayor cantidad de azúcares libres reductores (8.49%).
- Se estableció que el método 2 es el más adecuado para hidrolizar los fructanos ya que es el que más porcentaje recuperó del estándar de inulina (95.62%) en comparación al método 1 (55.15%) y método 3 (87.59%).
- Se determinó 65.33 % en base seca de fructanos tipo inulina – fructooligosacáridos por el método del Miller a partir de la óxido – reducción de los azúcares con el ácido 3,5 dinitrosalisílico (DNS).
- Se identificaron los fructanos tipo inulina – fructooligosacáridos por TLC de doble desarrollo con la fase móvil acetonitrilo – isopropanol - agua (12:4:6 v/v).

VIII. RECOMENDACIONES

- Hacer un estudio comparativo de diferentes métodos de secado tanto en estufa (variando temperaturas), liofilizador u otros métodos alternativos para ver cuál es la variación de los carbohidratos totales en una misma muestra.
- Analizar el contenido de fibra dietaria mediante métodos enzimáticos u otros métodos convencionales pero que también se incluyan la cuantificación los fructooligosacáridos.
- Analizar el contenido de aminoácidos esenciales, ya que no existe una fuente fidedigna sobre el estudio de aminoácidos esenciales en yacón.
- Realizar un estudio de acuerdo a la madurez del yacón pero según la variedad amarilla para así obtener información más completa de acuerdo a la variabilidad de los fructooligosacáridos provenientes del departamento de Cajamarca.
- Hacer un estudio sobre sustancias tóxicas como residuos de pesticida clorados, fosforados y carbamatos por cromatografía de gases con detector acoplado masas, en cultivos de yacón ya que en el país no existe un ente oficial que certifique que ciertos cultivos y/o alimentos son orgánicos o libres de pesticidas.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALVAREZ P, JURADO B. CALIXTO M., INCIO N., SILVA J., 2008. Prebiótico Inulina/Oligofructuosa en la Raíz del Yacón (*Smallanthus sonchifolius*), Fitoquímica y Estandarización como Base de Estudios Preclínicos y Clínicos. *Rev Gastroenterol Perú*; 28: 22-27
2. ANANINA N., ANDREEVA O, MYCOTS L., y OGANESYAN E., 2009. Standardization Of Inulin Extracted From Dahlia Single Tubers And Some Physicochemical Properties Of Inulin. *Pharmaceutical Chemistry Journal* 43: 157-159.
3. ANTOSOVA M., POLAKOVIC M. y BALES V., 1999. Separation of fructooligosaccharides on a cation-exchange HPLC column in silver form with refractometric detection. *Kluwer Academic Publishers , Biotechnology Techniques* 13: 889–892.
4. AOAC (2012). *Official methods of analysis* Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
5. ASAMI T., MINAMISAWA K., TSUCHIYA T., KANO K., HORI I., OHYAMA T., KUBOTA M. Y TSUKIHASHI T., 1991. Fluctuation of oligofructan contents in tubers of yacón (*Polymnia sonchifolius*) during growth and storage. *Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.*, 65: 621–627.
6. BARCLAY T., GINIC-MARKOVIC M., COOPER P, PETROVSKY N., 2010. Inulin - a versatile polysaccharide with multiple pharmaceutical and food chemical uses. *J. Excipients and Food Chem.*, 1:7-50
7. BERNAL B., CALLE J., DUARTE E., PIZÓN R., VELÁSQUEZ M., 2005. Inulina a partir de *Dahlia imperialis* Roetz. *Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas*. 34: 122-125
8. BORNET F., 1994. Undigestible sugars in food products. *Am J Clin Nutr*, 59: 763S-769S.
9. BOUCHARD M. y NESS S , 2013 ISO 9516-1: Simplified Borate Fusion & WDXRF Analytical Method for Iron Ores Analysis Including Exploration Samples. *Corporation Scientifique Claisse*.

10. BRUMMER Y. AND CUI S., 2005. Understanding Carbohydrate Analysis. Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications. CRC Press.
11. CABEZAS M., RABERT C., BRAVO S. , AND SHENE C., 2002. Inulin and Sugar Contents in Helianthus tuberosus and Cichorium intybus Tubers: Effect of Postharvest Storage Temperature. Journal Of Food Science, 67: 2860 - 2865
12. CAMPOS D., BETALLELUZ, I., TAUQUINO, R., CHIRINOS, R., & PEDRESCHI, R., 2009. Nutritional and functional characterisation of Andean chicuru (*Stangea rhizanta*). Journal of Food Chemistry, 112: 63–70.
13. CAMPOS D., BETALLELUZ-PALLARDEL I., CHIRINOS R., AGUILAR-GALVEZ A., NORATTO G., PEDRESCHI R., 2012. Prebiotic effects of yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl), a source of fructooligosaccharides and phenolic compounds with antioxidant activity. Journal of Food Chemistry 135: 1592–1599.
14. CANCINO, K., 2003. Influencia del zumo concentrado en la deshidratación osmótica del yacón (*Smallanthus sonchifolia* Poepp & Endl.). Tesis para obtener el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria La Molina, Facultad de Industrias Alimentarias.
15. Carbohydrates Testing. Inulin and FOS analysis: which method to use in food and feed products. EUROFINS. Catálogo
16. CARLSSON N, KARLSSON H. y SANDBERG A. 1992.. Determination of Oligosaccharides in Foods, Diets, and Intestinal contents by High-Temperature Gas Chromatography and Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Journal of Food Chem., 40: 2404-2412.
17. CASTRO A., CESPEDES G., CARBALLO S., BERGENSTAHL B., THORNBERG E., 2013. Dietary fiber, fructooligosaccharides and physicochemical properties of homogenized aqueous suspensions of yacón (*smallanthus sanchifolius*). Food Research International, 50: 392-400

18. CHIRINOS R., 1999. Obtención y caracterización de los oligofruktanos a partir de la raíz del yacón (*Smallanthus sonchifolia* Poepp. & Endl.). Tesis para obtener el grado de Magister. Universidad Nacional Agraria La Molina, Escuela de Post-Grado.
19. Codex Alimentario Requisitos Generales. Segunda Edición. Organización De Las Naciones Unidas Para La Agricultura Y La Alimentación. OMS. Roma, 2000.
20. CORONADO A., 2013. Elaboración de la harina de yacón (*Smallanthus onchifolius*) y su influencia en el crecimiento de dos bacterias probióticas. Tesis de grado Para optar el Título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional Mayor De San Marcos , Facultad De Farmacia Y Bioquímica
21. DENEV P., PETKOVA N., IVANOV I., SIRAKOV B., VRANCHEVA R. y PAVLOV A., 2014. Determination Of Biologically Active Substances In Taproot Of Common Chicory . Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies, Vol. XVIII, 2014. 124-129
22. DEVRIES J., 2003. On defining dietary fibre. Proceedings of the Nutrition Society, 62: 37–43
23. DUBOIS, M., GILLES, K. A., HAMILTON, J. K., REBERS, P. A., & SMITH, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. Analytical Chemistry, 28: 350–356.
24. ERNST M., CHATTERTON N.J., HARRISON P.A., 1995. Carbohydrate changes in chicory (*Cichorium intybus* L. var. *foliosum*) during growth and storage. Journal of Sci. Horticult. 63: 251–261.
25. ESKANDARI E., MEHRAN N., REZAEI H., KHAKI A., BALVARDI M., 2009. Investigation on Acid Hydrolysis of Inulin: A Response Surface Methodology Approach. International Journal of Food Engineering. 5:1-8.
26. FARAG S., 1979. Separation and Analysis of Some Sugars by Using Thin Layer Chromatography. JOURNAL OF THE A.S.S.B.T., 20: 251-254
27. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2002 Food energy – methods of analysis and conversion factors Report of a technical workshop.

28. FRANCK A. y LEVECKE B., 2012. Inulin. ULLMANN'S encyclopedia of industrial chemistry. ORAFTI, Tienen, Belgium, 19: 425-435.
29. FRANCK A., 2002. Technological functionality of inulin and oligofructose. British Journal of Nutrition, 87: S287–S291
30. GIBSON G., DELZENNE N, 2008. Inulin and Oligofructose New Scientific Developments. Nutrition Today, 43: 54-59.
31. GLIBOWSKI P. AND WASKO A., 2008. Effect of thermochemical treatment on the structure of inulin and its gelling properties. International Journal of Food Science and Technology , 43: 2075–2082
32. GLIBOWSKI P. y BUKOWSKA A., 2011. The Effect of pH, Temperature and Heating Time On Inulin Chemical Stability. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment. 10: 189-196.
33. GOTO K., FUKAI K., HIKIDA J., NANJO F., y HARA Y., 1995. Isolation and Structural Analysis of Oligosaccharides from Yacón. Japan Society for Biosci .Biotech .Biochem., 59: 2346-2347
34. GRAEFE S., HERMANN M., MANRIQUE I., GOLOMBEKA S. y BUERKERTA A., 2004. Effects of post-harvest treatments on the carbohydrate composition of yacon roots in the Peruvian Andes. Field Crops Research 86: 157–165
35. HENRY R.J. y SAINI H.S., 1989. Characterization of cereal sugars and oligosaccharides. American Association of cereal chemist. Cereal chem. 66(5): 362-365
36. HERMANN M. AND J. HELLER., 1997. Andean roots and tubers: Ahipa, arracacha, maca and yacón. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 21. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/ International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
37. HERRERA C., BOLAÑOS N. Y GISELLE LUTZ C., 2003. Química de Alimentos: Manual de Laboratorio. Editorial de la Universidad de Costa Rica. 1ra edición. San José de Costa Rica. Capítulo II.

38. HIZUKURI S, TAKEDA Y, YASUDA M., 1981. Multi-branched nature of Amylose and the action of debranching enzymes. *Journal of Carbohydrate Research* 94: 205-13
39. HOGARTH J., HUNTER D., JACOBS W., GARLEB K., and WOLF B, 2000. Ion Chromatographic Determination of Three Fructooligosaccharide Oligomers in Prepared and Preserved Foods. *J. Agric. Food Chem.* 48: 5326-5330
40. HOLLANDER L., 1952. Differentiation of Carbohydrates by Anthrone Reaction Rate and Color Intensity. *Journal of Analytical Chemistry*, 24: 1576-1579.
41. KANAYA K., CHIBAA S. y SHIMOMURAA T. 1978 . Thin-layer Chromatography of Linear Oligosaccharides. *Agricultural and Biological Chemistry*, 42: 1947-1948
42. KORAKLI M., HINRICHS C., EHRMANN M., VOGEL F., 2003. Enzymatic determination of inulin and fructooligosaccharides in food . *Eur Food Res Technol* 217: 530–534.
43. LACHMAN J., HAVRLAND B., FERNÁNDEZ E., y DUDJAK J., 2004. Saccharides of yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] tubers and rhizomes and factors affecting their content. *Czech University of Agriculture in Prague. Plant Soil Environ.*, 50: 383–390
44. LINGYUN W., JIANHUA W., XIAODONG Z., DA T., YALIN Y., CHENGGANG C., TIANHUA F., FAN Z., 2007. Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers. *Journal of Food Engineering* 79: 1087–1093.
45. LIVINGSTON D., 1990. Fructan Precipitation from a Water/Ethanol Extract of Oats and Barley. *Journal of Plant Physiol.* 92: 767-769.
46. LOPEZ-MOLINA D., NAVARRO-MARTINEZ M., ROJAS F., HINER P., CHAZARRA S., RODRIGUEZ-LOPEZ J., 2005. Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Journal of Phytochemistry* 66 : 1476–1484.

47. LUO D., XU W., LIU J., LIU S., 2011. Acid-induced Degradation Behaviour of Inulin. International Conference on Agricultural and Biosystems Engineering, Advances in Biomedical Engineering, 1-2: 59-61.
48. MADRIGAL L. Y SANGRONIS E., 2007. La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos Funcionales. ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICIÓN, Organo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición, 57 : 387-396.
49. MANRIQUE I. Y HERMMAN M., 2003. El potencial de yacón en la salud y nutrición. XI Congreso Internacional de Cultivos Andinos. Cochabamba, Bolivia, 15 – 19 Octubre, 2003. Centro internacional de la papa.
50. MANRIQUE, I.; A. PÁRRAGA Y M. HERMANN. 2005. Jarabe de yacón: Principios y Procesamiento. Centro Internacional de la Papa, Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión, Fundación Erbacher, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación. Lima, Perú. 31 p.
51. MCCLEARY B., 2000. Importance of Enzyme Purity and Activity in the Measurement of Total Dietary Fiber and Dietary Fiber Components. Journal of AOAC International Vol. 83, 997-1005
52. MCCLEARY B., DEVRIES J., RADER J., COHEN G., PROSKY L. , MUGFORD D., CHAMP M. , OKUMA K. Determination of Total Dietary Fiber (CODEX Definition) by Enzymatic-Gravimetric Method and Liquid Chromatography: Collaborative Study.
53. MCCLEARY B., MURPHY A., MUGFORD D., 2000. Measurement of Total Fructan in Foods by Enzymatic/Spectrophotometric Method: Collaborative Study. Journal of AOAC International, 83: 356-364
54. MERRILL A.L. Y WATT B.K., 1973. Energy Value of Foods, Basis and Derivation (Revision). Agric. Handbook No. 74. US Department of Agriculture, Washington, DC.
55. MILANI E., KOOCHKEKI A. y GOLIMOVAHHED Q., 2011. Extraction of inulin from Burdock root (*Arctium lappa*) using high intensity ultrasound. International Journal of Food Science and Technology, 46: 1699–1704

56. MILLER G.L., 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. *Journal of Anal. Chem.* 31, 426-428.
57. MINDANI, C.G., 2008. Influencia de las condiciones de proceso en el secado por liofilización del yacón (*Smallanthus sanchifolius* Poepp. & Endl.). Tesis para obtener el grado de magister. Universidad Nacional Agraria La Molina, Escuela de Postgrado. Especialidad en Tecnología de Alimentos.
58. MOERMAN F., VAN LEEUWEN M. AND DELCOUR J., 2004. Enrichment of Higher Molecular Weight Fractions in Inulin. *J. Agric. Food Chem.*, 52: 3780-3783
59. MUIR J., SHEPHERD S., ROSELLA O., ROSE R., BARRETT J., y GIBSON P, 2007. Fructan and Free Fructose Content of Common Australian Vegetables and Fruit *J. Agric. Food Chem.*, 55: 6619-6627.
60. MUÑOZ A., 2009. Monografía del yacón *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.). Perúbiodiverso.
61. NASKAR B., DAN A. , GHOSH S., AND MOULIK S., 2010. Viscosity and Solubility Behavior of the Polysaccharide Inulin in Water, Water + Dimethyl Sulfoxide, and Water + Isopropanol Media. *J. Chem. Eng. Data* , 55: 2424–2427
62. NIELSEN S. , 2010. *Food Analysis*. Fourth Edition. SPRINGER. 152-154
63. NINESS K., 1999. Inulin and oligofructose. *J. Nutr.* 129: 1402-1406.
64. NINESS, K., 1999. Breakfast foods and the health benefits of inulin and oligofructose. *Cereal Foods World* 44: 79–81.
65. NINESS, K., 1999. Inulin and Oligofructose: What Are They? , Nutritional and Health Benefits of Inulin and Oligofructose. *Journal of nutrition supplement*. American Society for Nutritional Sciences.
66. OHYAMA T., ITO O., YASUYOSHI S., IKARASHI T., MINAMISAWA K., KUBOTA M., TSUKIHASHI T. AND ASAMI T., 1990. Composition of Storage Carbohydrate in Tubers of Yacon (*Polymnia sonchifolia*). *Soil ScL Plant Nutr.*, 36 (1), 167-171
67. PEDRESCHI R, CAMPOS D, NORATTO G, CHIRINOS R, CISNEROS-ZEVALLOS L., 2003 Andean yacón root (*Smallanthus sonchifolius* Poepp.

- Endl) fructooligosaccharides as a potential novel source of prebiotics. *J Agric Food Chem.* 51: 5278-84.
68. PEREIRA J., BARCELOS M., PEREIRA M, y FERREIRA E., 2013. Studies of chemical and enzymatic characteristics of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) and its flours. *Food Sci. Technol, Campinas*, 33(1): 75-83
69. PROSKY L. y HOEBREGS H. . 1999. Methods to Determine Food Inulin and Oligofructose. *The journal of nutrition, American Society for Nutritional Sciences.* 1418S-1423S.
70. RAMOS R., 2007. Estudio químico-bromatológico de algunas variedades de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) (Poepp & Endl) H. Robinson. De la provincia de Sandia-Puno. Tesis de grado Para optar el Título de Químico Farmacéutico Universidad Nacional Mayor De San Marcos , Facultad De Farmacia y Bioquímica.
71. REIFFOVA K., NEMCOVA R., 2006. Thin-layer chromatography analysis of fructooligosaccharides in biological samples. *Journal of Chromatography A*, 1110: 214–228
72. ROBERFROID M. 2007. Inulin-Type Fructans: Functional Food Ingredients. *The Journal of Nutrition, American Society for Nutrition supplement.* 2493S-2502S.
73. ROBERFROID M., 1999. Concepts in Functional Foods: The Case of Inulin and Oligofructose. *American Society for Nutritional Sciences. J. of Nutrition.* 129: 1398S–1401S
74. ROBERFROID M., 2005. Inulin type fructans: functional food ingredients. Boca Ratón, FL: CRC PRESS
75. ROBYT F. JHON., 1998. *Essentials Of Carbohydrate Chemistry.* Editorial Springer
76. SAENKANUK A., NUCHADOMRONG S., JOGLOY S., PATANOTHAI A. AND SRIJARANAI S. 2011. A simplified spectrophotometric method for the determination of inulin in jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers. *Euro food research tech.* 233: 609 -616.

77. Safety Evaluation Of Fructans. Nordic Council Of Ministers. Copenhagen, 2000.
78. SEMINARIO J., VALDERRAMA M., MANRIQUE I., 2003. El Yacón Fundamentos para el Aprovechamiento de un Recurso Promisorio. International Potato Center (CIP), Universidad Nacional de Cajamarca, COSUDE, Lima, Perú, 60 pg.
79. SIMONOVSKA B., 2000. Determination of Inulin in Foods. Journal of AOAC International VOL. 83, NO. 3, 675-678
80. VALDERRAMA M., 2005 . Manual del Cultivo de yacón. PRODUCTORES Y MERCADOS DEL AGRO DE LA SIERRA CONVENIO MINAG – COSUDE. Cajamarca-Perú
81. VAN DE WIELE T., BOON N, POSSEMIERS S., JACOBS H. y VERSTRAETE W., 2007. Inulin-type fructans of longer degree of polymerization exert more pronounced in vitro prebiotic effects. The Society for Applied Microbiology, Journal of Applied Microbiology 102: 452–460.
82. VANKOVA K. y POLAKOVI M., 2010. Optimization of single-column chromatographic separation of Fructooligosaccharides. Journal of Process Biochemistry, 45: 1325–1329.
83. VÁSQUEZ Y.M., 2009. Influencias de las condiciones de proceso en la calidad de zumo de yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp & ENDL). Tesis para obtener el Título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria La Molina, Facultad de Industrias Alimentarias.
84. VIJN I. y SMEEKENS S., 1999. Fructan: More Than a Reserve Carbohydrate. Journal of Plant Physiol., 120:351–359
85. WAKSMUNDZKA-HAJNOS M., SHERMA J y KOWALSKA T., 2008. Thin Layer Chromatography In Phytochemistry. Chromatographic Science series Volumen 99. CRC Press Taylor & Francis Group
86. WANG H., ZHANG Z., LIANG L., WEN S., LIU X., XU X., 2010. A comparative study of high-performance liquid chromatography and colorimetric method for inulin determination. Eur Food Res Technol, 230:701–706

87. WANG J., SPORNS P. y LOW N., 1999. Analysis of Food oligosaccharides Using MALDI-MS: Quantification of Fructooligosaccharides. *J. Agric. Food Chem.* 47: 1549-1557
88. WON YUN J., 1996. Fructooligosaccharides-Occurrence, preparation, and application. *elsevier Enzyme and Microbial Technology* 19:107-117
89. ZULETA A. AND SAMBUCETTI M., 2001. Inulin : Determination for Food Labeling. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 4570-4572.

ANEXOS

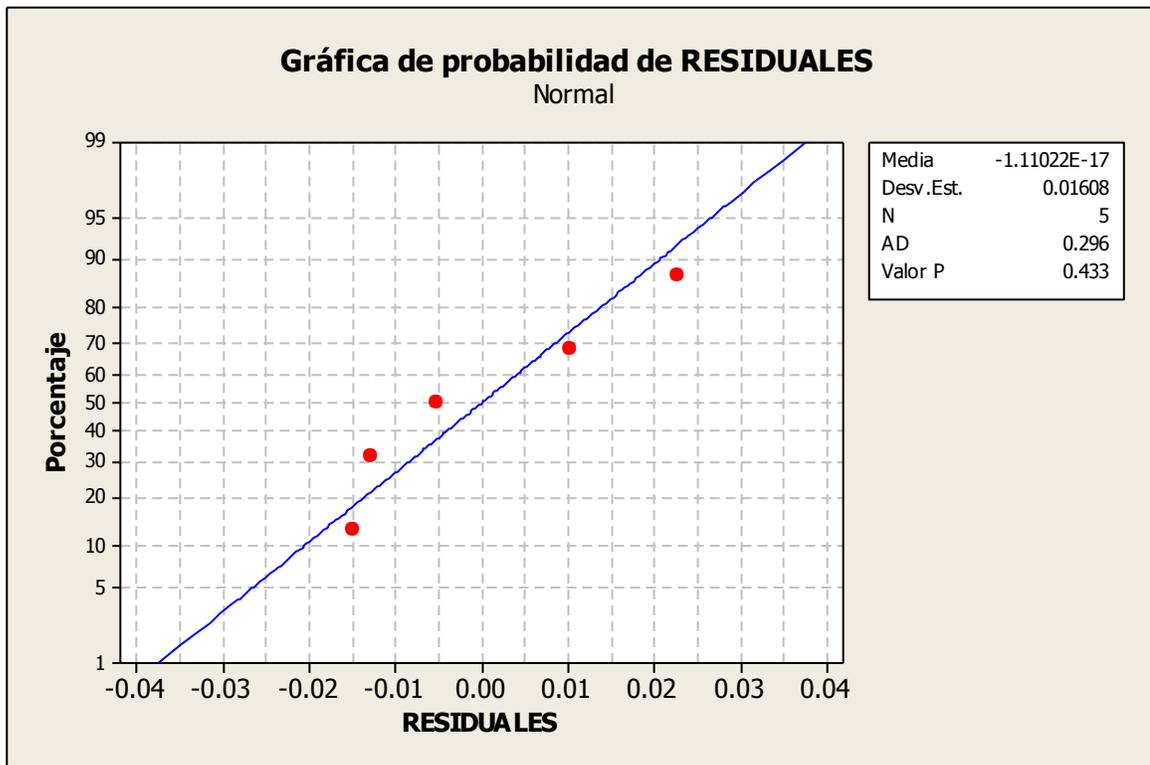
A. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

ANÁLISIS DE REGRESIÓN LINEAL

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Minitab 16.

A.1 CARBOHIDRATOS TOTALES

A.1.1 ANÁLISIS DE RESIDUALES



Hipótesis nula: Los residuales siguen distribución normal.

Hipótesis alterna: Los residuales no siguen distribución normal.

$P=0.433 \geq 0.05$, se acepta hipótesis nula.

Al 95% de confianza, se concluye que los residuales siguen distribución normal.

A.1.2 ANÁLISIS DE VARIANZA

$$\text{absorbancia} = 0.1984 + 0.6739 c \text{ (mg/ml)}$$

S = 0.0185668 R-cuad. = 99.6% R-cuad.(ajustado) = 99.5%

Análisis de varianza

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Regresión	1	0.272485	0.272485	790.44	0.000
Error	3	0.001034	0.000345		
Total	4	0.273519			

Hipótesis nula: modelo lineal no es adecuado

Hipótesis alterna: modelo lineal es adecuado.

$P = 0.0 \leq 0.05$ se rechaza Hipótesis nula.

Al 95% de confianza, se concluye que el modelo lineal es adecuado. El 99.5% de los datos se acomodan al modelo lineal.

A.1.3 ANÁLISIS DE CORRELACIÓN

Correlación de Pearson de c (mg/ml) y absorbancia = 0.998

Valor P = 0.000

Hipótesis nula: no existe correlación entre ambas variables

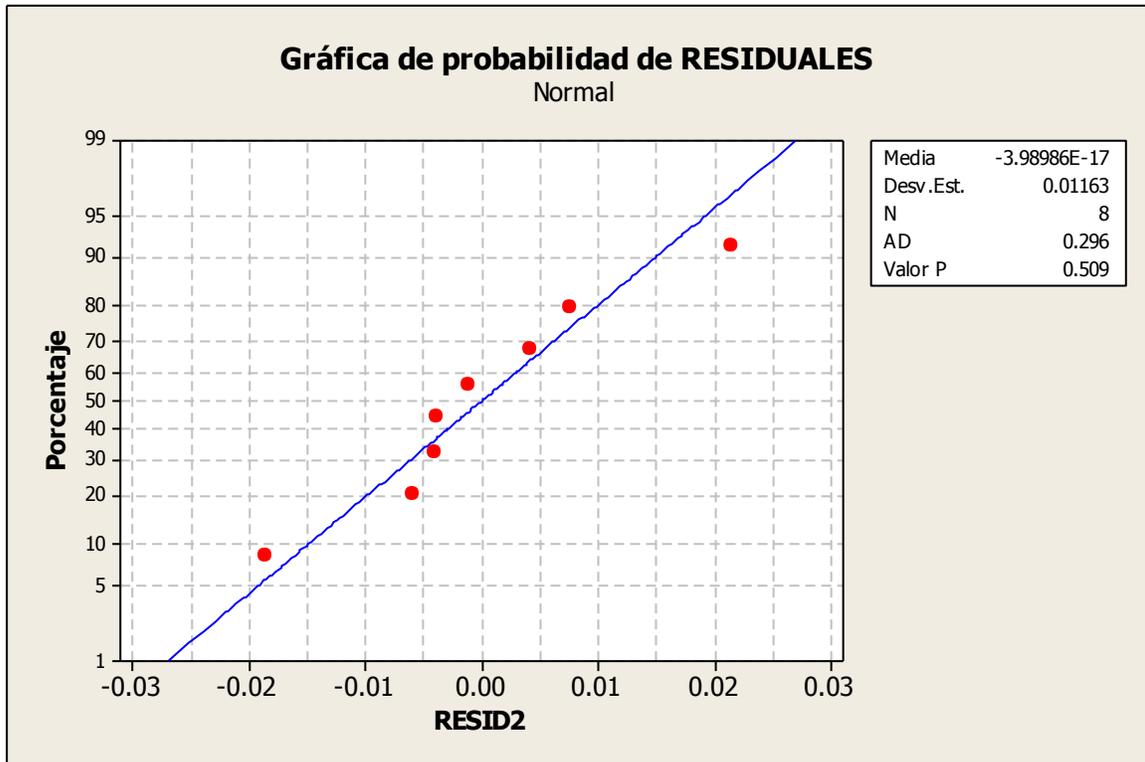
Hipótesis alterna: existe correlación entre ambas variables

$P = 0.0 \leq 0.05$ se rechaza Hipótesis nula.

Al 95% de confianza, se concluye que existe relación entre ambas variables

A.2 AZUCARES REDUCTORES

A.2.1 ANÁLISIS DE RESIDUALES



Hipótesis nula: Los residuales siguen distribución normal.

Hipótesis alterna: Los residuales no siguen distribución normal.

$P=0.509 \geq 0.05$, se acepta hipótesis nula.

Al 95% de confianza, se concluye que los residuales siguen distribución normal.

A.2.2 ANÁLISIS DE VARIANZA

absorbancia = - 0.01246 + 0.2901 C (mg/ml)

S = 0.0125626 R-cuad. = 99.8% R-cuad.(ajustado) = 99.8%

Análisis de varianza

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Regresión	1	0.589943	0.589943	3738.11	0.000
Error	6	0.000947	0.000158		
Total	7	0.590890			

Hipótesis nula: modelo lineal no es adecuado

Hipótesis alterna: modelo lineal es adecuado.

$P = 0.0 \leq 0.05$ se rechaza Hipótesis nula.

Al 95% de confianza, se concluye que el modelo lineal es adecuado. El 99.8% de los datos se acomodan al modelo lineal.

A.2.3 ANÁLISIS DE CORRELACIÓN

Correlaciones: absorbancia_1, C (mg/ml)_1

Correlación de Pearson de absorbancia_1 y C (mg/ml)_1 = 0.999

Valor P = 0.000

Hipótesis nula: no existe correlación entre ambas variables

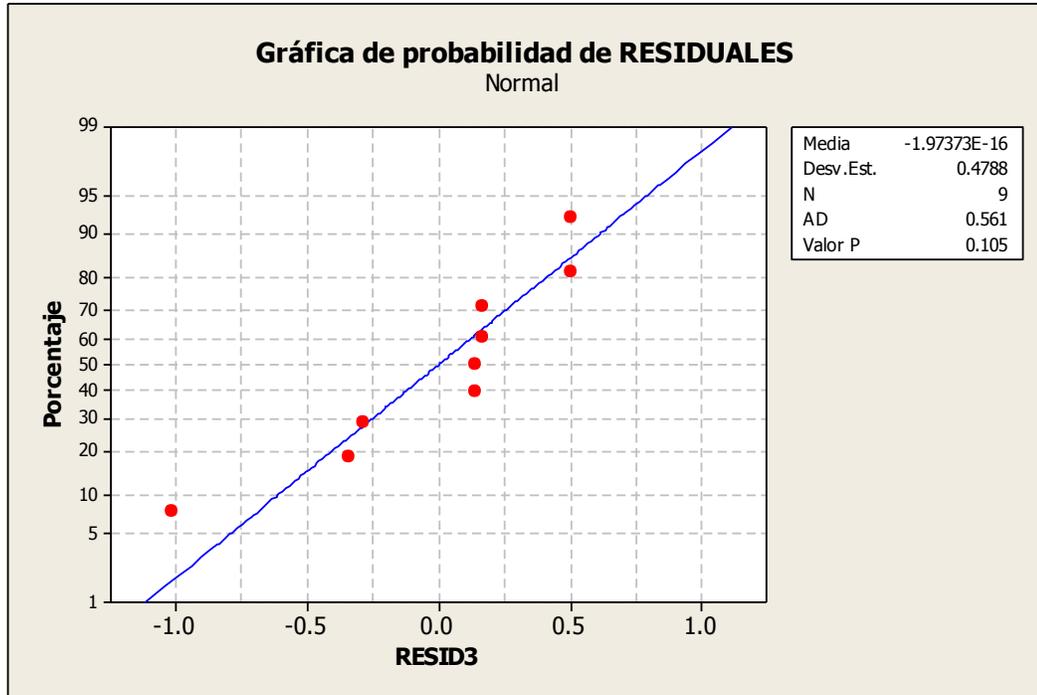
Hipótesis alterna: existe correlación entre ambas variables

$P = 0.0 \leq 0.05$ se rechaza Hipótesis nula.

Al 95% de confianza, se concluye que existe relación entre ambas variables

C. EQUIVALENCIA DE LOS TIEMPOS DE EXTRACCIÓN

C.1 DISTRIBUCIÓN DE LOS RESIDUALES



Hipótesis nula: Los residuales siguen distribución normal.

Hipótesis alterna: Los residuales no siguen distribución normal.

$P=0.105 \geq 0.05$, se acepta hipótesis nula.

Al 95% de confianza, se concluye que los residuales siguen distribución normal, por lo tanto los datos son paramétricos.

C.2 ANÁLISIS DE VARIANZA: comparación de más de dos medias entre sí.

ANOVA unidireccional: datos vs. tiempo

Fuente	GL	SC	CM	F	P
tiempo	2	0.490	0.245	0.80	0.492
Error	6	1.834	0.306		

Total 8 2.324

S = 0.5529 R-cuad. = 21.08% R-cuad.(ajustado) = 0.00%

ICs de 95% individuales para la media

basados en Desv.Est. agrupada

Nivel	N	Media	Desv.Est.	-----+-----+-----+-----+--
t1	3	8.1582	0.2477	(-----*-----)
t2	3	8.6667	0.8778	(-----*-----)
t3	3	8.6384	0.2920	(-----*-----)
				-----+-----+-----+-----+--
				7.80 8.40 9.00 9.60

Desv.Est. agrupada = 0.5529

Hipótesis nula: Los promedios de los tiempos de extracción son iguales.

Hipótesis alterna: Los promedios de los tiempos de extracción no son iguales.

$P=0.492 \geq 0.05$, se acepta hipótesis nula.

Al 95% de confianza, se concluye que los promedios de los tiempos de extracción son iguales.

C.3 PRUEBA DE VARIANZAS IGUALES

Prueba de varianzas iguales: datos vs. tiempo

Intervalos de confianza de Bonferroni de 95% para desviaciones estándar

tiempo	N	Inferior	Desv.Est.	Superior
t1	3	0.113196	0.247677	2.70750
t2	3	0.401191	0.877819	9.59594
t3	3	0.133434	0.291957	3.19155

Prueba de Bartlett (distribución normal)

Estadística de prueba = 3.21, valor p = 0.201

Hipótesis nula: Las varianzas de los tiempos de extracción son iguales.

Hipótesis alterna: Las varianzas de los tiempos de extracción no son iguales.

$P=0.201 \geq 0.05$, se acepta hipótesis nula.

Al 95% de confianza, se concluye que las varianzas los tiempos de extracción son iguales.

Entonces las medias y las varianzas de cada tiempo de extracción al ser equivalentes , Por lo tanto se concluye que los tres tiempos de extracción son equivalentes.

F. FIGURAS

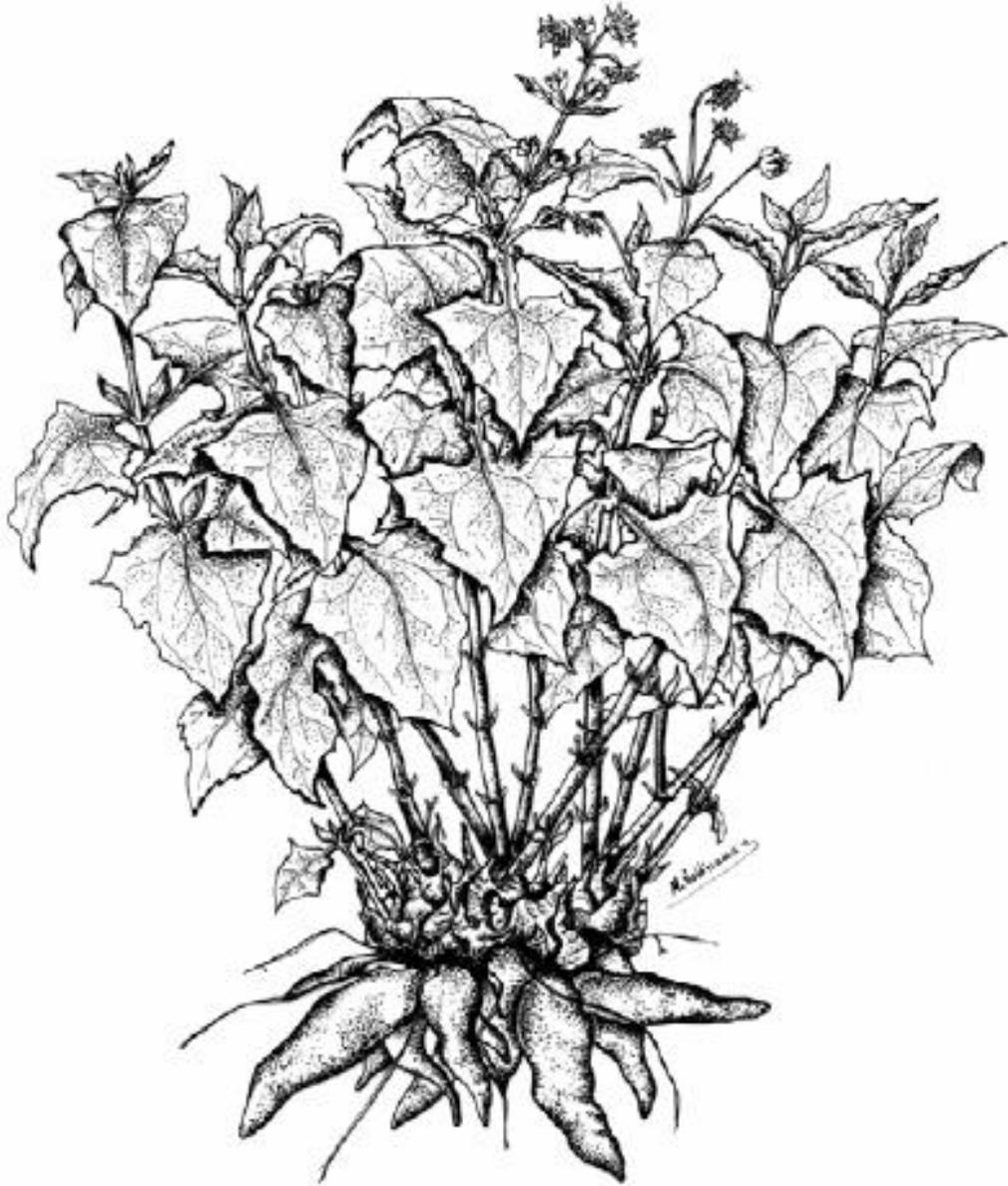


Figura 14: Planta entera de Yacón
(Imagen tomada de Manrique et al, 2003)



Raíces
Reservantes

Raíces
Fibrosas

Cepas

Figura 15: Raíz y cepas
parte subterránea de la planta, consta de raíces delgadas o fibrosas, raíces reservantes y cepas.

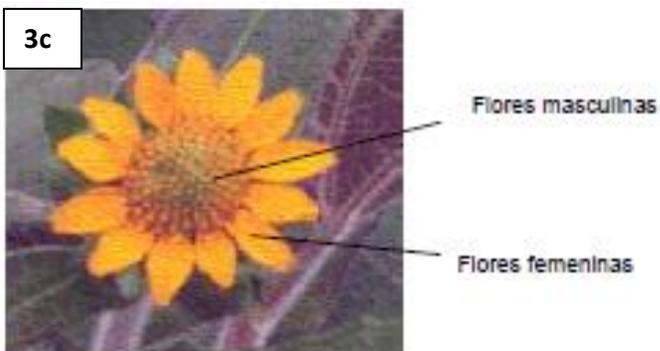


Figura 16: Planta, tallos e inflorescencia

3a : hojas de yacón, triangular con base truncada.

3b : Tallos cilíndricos de 0.7 a 2.5 metros de largo. (imagen tomada de manual de cultivo de yacón, 2005)

3c : Inflorescencia. Las flores femeninas se encuentran en la periferia y las masculinas en el centro. (imagen tomada de manual de cultivo de yacón, 2005)

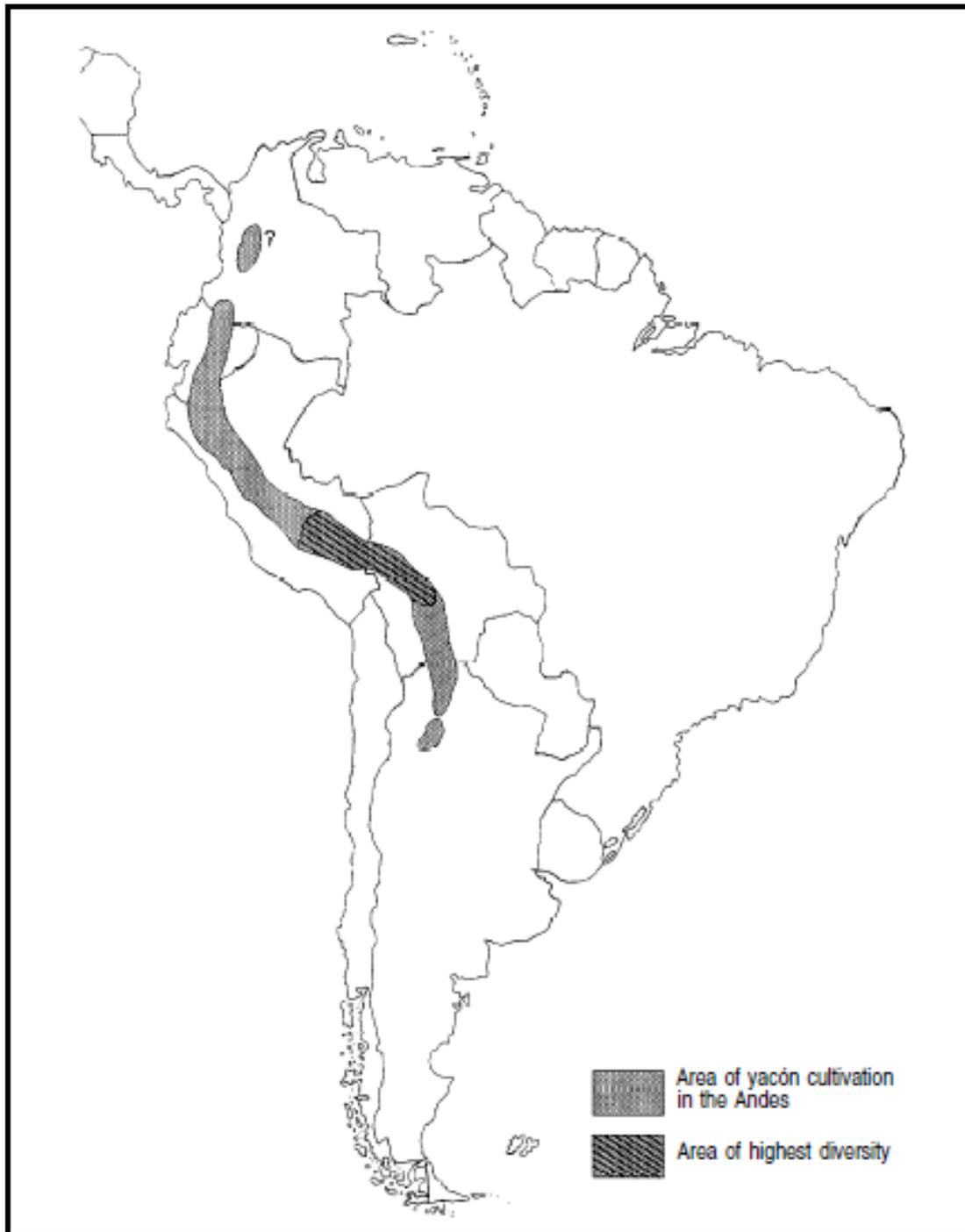


Figura 17: Mapa de distribución del Yacón
(Imagen tomada de Hemann and Heller, 2003)

ANEXO H: Certificado de análisis de sacarosa



INFORME DE ENSAYO N° 3-00847/15

Pág. 1/1

Solicitante : **SALVATIERRA HURTADO, DOMITILA**
 Domicilio Legal : **Insurgente N° 305 Arboleada – San Miguel – Lima – Lima**
 Producto Declarado : **HARINA DE YACÓN**
 Cantidad de muestra para ensayo : **01 muestra x 200 g.
 Muestra proporcionada por el Solicitante**
 Forma de presentación : **En bolsa de papel, cerrada y conservada a temperatura ambiente.**
 Fecha de recepción : **2015 – 02 – 05**
 Fecha de inicio del ensayo : **2015 – 02 – 07**
 Fecha de término del ensayo : **2015 – 02 – 08**
 Ensayo realizado en : **Laboratorio de Físico Química**
 Identificada con : **H/S 15001673 (01671)**
 Validez del documento : **Este documento es válido solo para la muestra descrita.**

Ensayo	Resultado
Sucrosa (g/100g) (LC: 0.7 g/100g) <small>LC: Límite de cuantificación</small>	4,2

Método:

Azúcares totales: AACC 80-04.01 11 th Ed. 2009 Determination of simple sugars in cereal products. HPLC Method.

OBSERVACIONES

Prohibida la reproducción total o parcial de este Informe, sin la autorización escrita de CERPER S.A.

Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.

Callao, 12 de Febrero de 2015
AM

CERTIFICACIONES DEL PERU S.A.


ING. ROSA PALOMINO LOO
 C.I.P. N° 40302
 JEFE DE COORDINACIÓN DE LABORATORIOS

EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE

ANEXO Y: Análisis cualitativo de Lugol

Antes de realizar el ensayo de azúcares reductores se realizó la prueba cualitativa de yodo para almidón: se pesó 1.5g de muestra fresca en trozos y se le agregó 15 mL de agua destilado y se hirvió por 5 minutos, se enfrió a temperatura ambiente. Finalmente se agregaron tres gotas de lugol (al 1%).

El ensayo cualitativo con lugol dio negativo; esto quiere decir que la presencia de almidón no es significativa, por lo que el contenido de carbohidratos en su mayoría son los fructanos, glucosa, fructuosa y sacarosa. Se han reportado cantidades trazas de almidón, según el estudio de Ohyama (1999) se trató de cuantificar almidón mediante métodos enzimáticos pero fue difícilmente detectado y según Asami citado por Muñoz (2009) reporta que el contenido de almidón en yacón era menos del 0.04% en materia seca.