

UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC
FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



TESIS

Evaluación de la actividad antioxidante de dos variedades de papa nativa (*Solanum tuberosum*); yawar wayku, puma maki.

Presentado por:

Celso Gallo Chipana

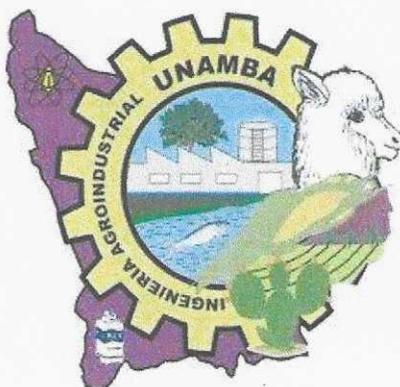
Para optar el título profesional de: Ingeniero Agroindustrial

Abancay, Perú

2022



UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC
FACULTAD DE INGENIERIA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



TESIS

**“EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE DOS VARIEDADES DE PAPA NATIVA
(*Solanum tuberosum*); yawar wayku, puma maki”**

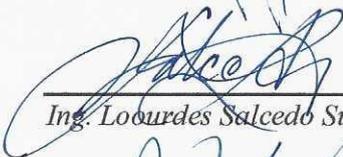
Presentado por **Celso Gallo Chipana**, para optar el Título de:
INGENIERO AGROINDUSTRIAL

Sustentado y aprobado el 04 de abril del 2021, ante el jurado evaluador:

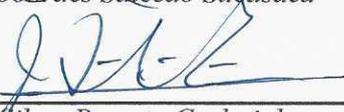
Presidente:


Ing. Alex Ernesto Muñoz Cáceres

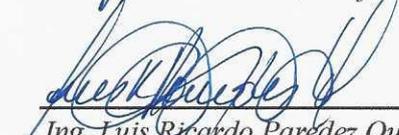
Primer Miembro:


Ing. Lourdes Salcedo Sucasaca

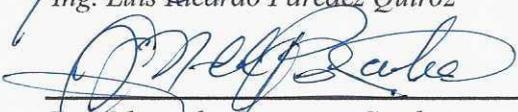
Segundo Miembro:


Msc. Silver Barreto Carbajal

Asesor:


Ing. Luis Ricardo Parédez Quiroz

Co Asesor:


Dr. Melquiades Barragan Condori

Agradecimiento

Agradecimiento y gratitud a la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac (UNAMBA), Facultad de Ingeniería Agroindustrial.

Agradecimiento a mi asesor externo Dr. Melquiades Barragán Condori por su paciencia, consejos, apoyo, así como brindarme su tiempo para asesorarme y culminar correctamente este trabajo de investigación.



Dedicatoria

A Dios por iluminarme y guiarme en el camino correcto.

A mis padres, y a mis hermanos que siempre me llenaron de orgullo y fortaleza



“Evaluación de la Actividad antioxidante de dos variedades de papa nativa
(*Solanum tuberosum*); yawar wayku, puma maki”

Línea de investigación: Caracterización, desarrollo de procesos e innovación en la
agroindustria.

Esta publicación está bajo una Licencia de Creative Commons



ÍNDICE

	Pàg.
INTRODUCCIÓN	1
RESUMEN	2
ABSTRACT	3
CAPÍTULO I	4
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
1.1 Descripción del problema.....	4
1.2 Enunciado del problema.....	4
1.2.1 Problema general.....	4
1.2.2 Problemas específicos.....	4
1.2.3 Justificación de la investigación.....	5
CAPÍTULO II	6
OBJETIVOS E HIPÓTESIS	6
2.1 Objetivos de la investigación.....	6
2.1.1 Objetivo general.....	6
2.2.1 Objetivos específicos.....	6
2.2 Hipótesis de la investigación.....	6
2.2.1 Hipótesis General.....	6
2.2.2 Hipótesis específica.....	6
2.3 Operacionalización de variables.....	7
CAPÍTULO III	8
MARCO TEÓRICO REFERENCIAL	8
3.1. Antecedentes.....	8
3.2. Marco teórico.....	12
3.2.1. Papa nativa (<i>Solanum tuberosum</i>).....	12
3.2.1.1 Características de la papa nativa.....	14
3.2.1.1.1 Descripción física de papas nativas.....	15
3.2.1.2. Composición de la papa nativa.....	16
3.2.1.2.1 Antioxidantes naturales.....	16
3.2.1.2.1.1 Identificación de flavonoides.....	17
3.2.1.2.1.2 Compuestos fenólicos.....	19
3.2.1.2.1.3 Antocianinas.....	19
3.2.1.2.2 Métodos para la determinación de la actividad antioxidante.....	21



3.2.1.2.2.1	<i>Medición de la actividad antioxidante</i>	21
3.2.1.2.3	<i>La espectroscopia infrarroja (FTIR)</i>	26
3.2.1.2.3.1	<i>Rangos de longitud de onda de espectrofotometría infrarrojo</i>	26
3.2.1.2.4	<i>Factores que afectan la estabilidad de las antocianinas</i>	27
3.3.	Marco conceptual	29
CAPÍTULO IV		31
METODOLOGÍA		31
4.1	Tipo y diseño de la investigación	31
4.3	Población y muestra	31
4.4	Procedimiento de la investigación	31
4.5	Técnicas e instrumentos	47
4.6	Análisis estadístico	47
CAPÍTULO V		48
RESULTADOS Y DISCUSIONES		48
5.1	Análisis de resultados	48
5.1.1.	Caracterización de antocianinas	48
5.1.1.1.	Espectro UV-Vis de antocianinas	48
5.1.2	De la identificación de antocianinas en dos variedades de papas nativas pigmentadas mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).	49
5.1.3	Espectro FTIR – ATR de antocianinas	55
5.1.4	Determinación de Cantidad de Antocianinas Totales-CAT	58
5.1.5	Determinación y cuantificación de polifenoles totales (PFT)	59
5.1.6	Determinación de la actividad antioxidante por el método de ABTS.	61
5.2	Contrastación de hipótesis	63
5.2.2	Hipótesis estadísticas	63
5.3	Discusión	64
5.3.1	De los espectros UV – Vis de las antocianinas	64
5.3.2	De la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	65
5.3.3	De los espectros FTIR - ATR de las antocianinas	66
5.3.4	De la cuantificación de antocianinas totales (CAT) por el método de pH diferencial	68
5.3.5	De la cuantificación de polifenoles totales (PFT) por el método Folin - Ciocalteu	70
5.3.6	De la actividad antioxidante ABTS	71
CAPÍTULO VI		73
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		73

6.1 Conclusiones	73
6.2 Recomendaciones	73
BIBLIOGRAFÍA	75
ANEXOS.....	79



INDICE DE TABLAS

Tabla 1 — Variables descriptivas	7
Tabla 2 — Especies de papa cultivada según el tratamiento taxonómico tradicional y moderno.....	13
Tabla 3 — Valor nutricional de la papa cruda sin cocinar. Tomado de la base de datos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos	14
Tabla 4 — Característica morfológica de papa nativa (<i>Solanum tuberosum</i>); puma maki	15
Tabla 5 — Característica morfológica de papa nativa, (<i>Solanum tuberosum</i>); yawar wayku)	16
Tabla 6 — Formas más comunes de antocianinas son: cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina, Malvidina y pelargonidina	20
Tabla 7 — Clasificación de los modelos de ensayo in vitro según su modo de reacción ET o HAT	21
Tabla 8 — Clasificación de flavonoides según sus espectros UV	25
Tabla 9 — Condiciones para el análisis de HPLC.....	35
Tabla 10 — Datos para la obtención de la curva de calibración de fenoles totales.....	42
Tabla 11 — Concentraciones de trolox para elaborar la curva de calibración.....	45
Tabla 12 — Volúmenes y concentraciones de Trolox y ABTS* diluido.....	46
Tabla 13 — Contenido de Antocianinas Totales (CAT) en papa nativas pigmentadas congeladas y procesadas.....	58
Tabla 14 — Análisis de varianza y test Duncan en papas nativas pigmentadas congeladas y procesadas.....	59
Tabla 15 — Contenido de polifenoles totales (PFT) en papas nativas pigmentadas congeladas y procesadas.....	60
Tabla 16 — Actividad antioxidante (TEAC ABTS CI50) en papas nativas pigmentadas congeladas y procesadas.....	62
Tabla 17 — Análisis de varianza y test Duncan en papas nativas pigmentadas congeladas y procesadas.....	62



INDICE DE FIGURAS

Figura 1 — Variedades de papas nativas	15
Figura 2 — Papa nativa morada, puma maki	16
Figura 3 — Papa nativa roja, yawar wayku	16
Figura 4 — Estructuras químicas de los diferentes flavonoides	18
Figura 5 — Estructura de principales antocianinas	20
Figura 6 — Mecanismos de reacción por transferencia de electrones y transferencia de átomos de hidrógeno.....	22
Figura 7 — Estructura del ABTS•+ antes y después de la reacción con el antioxidante.....	23
Figura 8 — Perfil cromatográfico.....	24
Figura 9 — Estructura general de los flavonoides	25
Figura 10 — Esquema de metodología experimental según (Pacheco Llamocca, 2019) con algunas modificaciones de autoría propia	32
Figura 11 — Distribución acuosa de extractos de papa de pulpa morada (izquierda) y roja (derecha) en acetona y cloroformo	33
Figura 12 — Esquema de metodología experimental según (Pacheco Llamocca, 2019) de identificación de antocianinas por HPLC.....	34
Figura 13 — Cromatogramas de HPLC de antocianidinas en uva morada y fresa usados como patrón o estándar.....	37
Figura 14 — Esquema de metodología experimental según (Tellez Mesa, 2019) de FTIR-ATR	38
Figura 15 — Esquema de metodología experimental de contenido de antocianinas totales (CAT), según (Tellez Mesa, 2019).....	39
Figura 16 — Esquema de metodología experimental de contenido de polifenoles totales (PFT).....	41
Figura 17 — Curva de calibración de ácido gálico para la determinación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu.....	43
Figura 18 — Esquema de metodología experimental del ABTS, según (Rioja Antezana et al. 2018), con algunas modificaciones de autoría propia.....	44
Figura 19 — Curva patrón de Trolox.....	46
Figura 20 — Espectro UV-Visible de antocianina en papa nativa variedad puma maki pigmentada	48
Figura 21 — Espectro UV-Visible de antocianina en papa nativa variedad yawar wayku pigmentada	49
Figura 22 — Cromatograma de extracto de variedad de papa nativa pigmentada morada puma maki (PPM) fresca	51
Figura 23 — Resultados de espectros UV – Vis de antocianina del Cromatograma HPLC de variedad de papa nativa pigmentada puma maki (PPM) siendo los Espectros de muestras (color azul) y de los estándares (color rojo).....	52
Figura 24 — Cromatograma de extracto de variedad de papa nativa pigmentada yawar wayku (PYW) fresca.....	53
Figura 25 — Reporte de resultados de espectros UV – Vis de antocianidinas del cromatograma HPLC de variedad de papa nativa pigmentada yawar wayku (PYW) siendo el espectro de muestra (color azul) y del estándar (color rojo)	54
Figura 26 — Espectro FTIR de antocianina en la variedad de papa nativa Yawar wayku (PYW).....	56
Figura 27 — Espectro FTIR de antocianina en la variedad de papa nativa Puma maki (PPM)	57



Figura 28 — Contenido de antocianinas totales (CAT) en papas nativas pigmentadas congeladas y procesadas	59
Figura 29 — Contenido de polifenoles totales (PFT) en papas nativas pigmentadas congeladas y procesadas	61
Figura 30 — TEAC ABTS CI50 en papas nativas pigmentadas congeladas y procesada.....	63
Figura 31 — Bandas de absorción UV de flavonoides	65
Figura 32 — Espectro infrarrojo de la fracción de un colorante flavínico.....	67
Figura 33 — Variedad de papas nativas de la Región Apurímac.....	79
Figura 34 — Papas congeladas y cortadas	79
Figura 35 — Papas enteras y congeladas	80
Figura 36 — Extracción con solventes.....	80
Figura 37 — Extractos de papas nativas pigmentadas congeladas	81
Figura 38 — Separación de solventes y partículas del extracto	81
Figura 39 — Rotavapor: Reducción de solventes a presión reducida de extractos de papas nativas pigmentadas.....	82
Figura 40 — Extractos aforados de papas nativas pigmentadas con HCl 0.01%.....	82
Figura 41 — Purificación de antocianinas por cartucho C-18	83
Figura 42 — Espectrofotómetro UV Visible para caracterizar antocianinas	83
Figura 43 — Espectrómetro FTIR – ATR.....	84
Figura 44 — Extractos de método pH diferencial para CAT.....	84
Figura 45 — Extractos para análisis de polifenoles totales.....	85
Figura 46 — Extractos de método Folin Ciocalteu para PFT.	85

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1 — Papas nativas de la Región Apurímac en “FERIA SAN ANTONIO 2017”	79
Anexo 2 — Papas nativas pigmentadas congeladas (cortadas y enteras) a -25 °c.....	79
Anexo 3 — Extracción de pigmentos antociánicos de muestras de papas nativas pigmentadas congeladas	80
Anexo 4 — Extracción de pigmentos antociánicos de muestras de papas nativas pigmentadas congeladas	81
Anexo 5 — Extracción de pigmentos antociánicos de muestras de papas nativas pigmentadas congeladas	82
Anexo 6 — Hidrólisis ácida y purificación de extractos de antocianinas.....	83
Anexo 7 — Espectrofotometría UV – Visible de antocianinas.....	83
Anexo 8 — Espectrómetro FTIR – ATR de antocianinas.....	83
Anexo 9 — Contenido de antocianinas totales CAT	84
Anexo 10 — Contenido de polifenoles totales PFT.....	85



INTRODUCCIÓN

La biodiversidad de papas nativas de la región Apurímac por su grande variación del ecosistema, efecto de su situación geográfica, muestra más de 3200 variedades de los cuales para la presente investigación de las actividades antioxidantes se tomó en cuenta dos variedades de papa nativa (*Solanum tuberosum*), yawar wayku, puma maki, en los cuales se evaluó sus compuestos antioxidantes (Gil et al. 2019). Diversos estudios, han comprobado el beneficio para la salud que aportan las ingestas de fruta y verdura rica en antioxidante, por lo principal en la disminución de una enfermedad cardiovascular (Gil et al. 2019) resultado defensor en la precaución del proceso degenerativo de una enfermedad cancerígena, presentar actividades antioxidantes, agarrar un radical y proceder como agente químico protector. Se proyecta la hipótesis de que la papa nativa pigmentada de color rojo y morado posee compuestos fenólicos y antocianinas. En tal sentido el proyecto es de mayor alcance para la sociedad en general por su interesante cantidad de antioxidantes naturales, proteínas y elevado contenido de vitamina C de alrededor de 20 mg/100 g de papa (Lopez et al. 2019) por lo tanto ayudará sensibilizar y crear una cultura productiva, esto conlleva a mejorar económicamente con un sustento económico a cada unidad familiar de la región Apurímac. La finalidad general de este trabajo de investigación es que se evalúe la eficacia potencial antioxidante de papas nativas y antocianinas en dos variedades de papa nativa (*Solanum tuberosum*), yawar wayku, puma maki.

La presente investigación tiene como objetivo evaluar la eficacia potencial antioxidante de papas nativas y captación de radicales libres, CAT, TFIR, polifenoles totales (PFT), ABTS y HPLC que pertenece al componente y al sistema de defensas de antioxidantes obtenidas directamente de nuestra tierra andina principalmente de la Región Apurímac-Perú.



RESUMEN

En la presente investigación se evalúa las actividades antioxidantes de dos variedades de papa nativa (*Solanum tuberosum*); yawar wayku, puma maki". Se determinó y se identificó el espectro UV-Vis de la antocianina de dos papas nativas pigmentadas, donde todos los picos del cromatograma HPLC de papa nativa pigmentada de pulpa roja Yawar wayku (PYW) y de papa nativa pigmentada de pulpa morada puma maki (PPM) se identificaron antocianidinas del tipo petunidina, cianidina y malvidina en las papas de color morado y pelargonidina en las papas de color rojo, el espectro FTIR en extractos secos y purificado de papas nativas pigmentadas en los espectrómetros infrarrojos con accesorios ATR, siendo el espectro resultante. La determinación de las cantidades de antocianina total CAT y polifenol total (PFT), donde la cantidad de antocianinas totales (CAT) de papa nativa Yawar wayku (PYW) contiene aproximadamente 86.4946 (mg cianidina 3 glucosido/100 g) a diferencia de papa nativa puma maki (PPM) en un 13,2088 (mg cianidina 3 glucosido/100 g). El contenido de polifenoles totales (PFT) en dos variedades de papas nativas Yawar wayku PYW, puma maki (PPM), el contenido de la muestra Yawar wayku (PYW), fue aproximadamente un promedio de 333,33 (mg ácido Gálico/100g) a diferencia del puma maki (PPM) en un 50,29 (mg ácido Gálico/100g). El contenido bajo de antocianinas está ligado estrechamente con la pigmentación de las papas. Las actividades antioxidantes por el procedimiento ABTS, el mismo que fue evaluado en cada uno de los extractos de las papas nativas pigmentadas; y como resultado se han expresado una concentración inhibitoria del 50% (IC50%) a equivalentes a Trolox (TEAC), para las dos pruebas de papa nativa PYW y PPM. De dos de las muestras trabajadas bajo este el método ABTS, para la muestra PYW se tuvo como resultado 1012,18 y PPM 394.65 esto significa que la muestra PYW tiene mayor capacidad antioxidante.

Palabras claves: HPLC, UV Vis, actividad antioxidante, FTIR, CAT, PFT y ABTS.



ABSTRACT

In the present study the antioxidant activity of two varieties of native potato (*Solanum tuberosum*) was evaluated; yawar wayku, puma maki". The UV-Vis spectra of the anthocyanins of two pigmented native potatoes were determined and identified, where all the HPLC chromatogram peaks of Yawar wayku red pulp native pigment potato (PYW) and puma maki purple pulp pigmented native potato (PPM)) anthocyanidins of the petunidine, cyanidine and malvidin type were identified in the purple potatoes and pelargonidine in the red potatoes; FTIR spectra in dry and purified extract of native pigmented potatoes in the infrared spectrometer with ATR accessory, the resulting spectra. The determination of the amount of total CAT anthocyanins and total polyphenols (PFT), where the amount of total anthocyanins (CAT) of native Yawar Wayku potato (PYW) contains approximately 86.4946 (cyanidine mg 3 glucoside / 100 g) as opposed to native puma potato maki (PPM) in a 13,2088 (cyanidene mg 3 glucoside / 100 g). The total polyphenol (PFT) content in two varieties of Yawar wayku PYW native potato, puma maki (PPM), the Yawar wayku (PYW) sample content, was approximately an average of 333.33 (mg Gallic acid / 100g) unlike puma maki (PPM) by 50.29 (mg Gallic acid / 100g). The low anthocyanin content is closely linked with the pigmentation of the potatoes. The antioxidant activity by the ABTS method, which was evaluated in each of the extracts of the native pigmented potatoes; and as a result an inhibitory concentration of 50% (IC50%) has been expressed as equivalent to Trolox (TEAC), for the two native potato samples PYW and PPM. Of two of the samples worked under this ABTS method, for the PYW sample, 1012.18 and PPM 394.65 were obtained, this means that the PYW sample has a higher antioxidant capacity.

Keywords: HPLC, UV Vis, antioxidant activity, FTIR, CAT, PFT and ABTS.



CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción del problema

La papa nativa (*Solanum tuberosum*), contiene un alto valor funcional y nutricional por su actividad antioxidante es cultivada pero no se extrae el colorante que contiene una gran gama de antioxidantes, por tanto, muy desconocida por deficiencia de informaciones y conocimientos de parte de la población y las comunidades. En la actualidad la papa nativa es un producto valorado en la industria alimentaria como consumo común por lo cual se propone hacer los estudios correspondientes en las composiciones químicas y en la valoración y caracterización de actividades antioxidantes que poseen, así como el compuesto fenólico y el tipo de antocianinas presentes en la papa nativa.

El radical libre está implicado en el origen de la enfermedad degenerativa, cardiovascular y cerebrovascular por originar daños oxidativos a la proteína, lípido y ácido nucleico. En tal caso el empleo del antioxidante, neutraliza las reacciones oxidativas y desempeña funciones fundamentales en la precaución de esta enfermedad (De et al. 2018).

De otro lado en la región Apurímac se desconoce de la gran importancia que tiene la papa nativa por lo que falta incentivar, concientizar y capacitar tanto científica y tecnológicamente, todo esto conllevaría a no utilizar productos sintéticos y artificiales que no tienen una aceptabilidad en este mundo globalizado con productos orgánicos.

1.2 Enunciado del problema

1.2.1 Problema general

¿Cuál será la actividad antioxidante, de dos variedades de papa nativa (*Solanum tuberosum*), yawar wayku, puma maki?

1.2.2 Problemas específicos

- ¿Cuáles serán las antocianinas identificadas por cromatografía líquida-espectroscopia (HPLC), UV – Visible y FTIR-ATR en dos variedades de papa



nativa (*Solanum tuberosum*), yawar wayku, ¿puma maki?

- ¿Cuál será la cantidad de antocianinas totales (CAT), de dos variedades de papa nativa (*Solanum tuberosum*); yawar wayku, puma maki?
- ¿Cuál será la cantidad de polifenoles totales (PFT), de dos variedades de papa nativa (*Solanum tuberosum*); yawar wayku, puma maki?
- ¿Cuál será la actividad antioxidante determinado por el método ABTS, en dos variedades de papa nativa (*Solanum tuberosum*); yawar wayku, puma maki?

1.2.3 Justificación de la investigación

El proyecto es de mayor alcance para la sociedad en general por su composición interesante de la papa nativa: cantidad de antioxidantes naturales, proteínas y elevado contenido de vitamina C de alrededor de 20 mg/100 g de papa. Además, los hidratos de carbono (que incluyen almidón, celulosa, glucosa, sacarosa y pectinas), junto con las proteínas, grasas y sales minerales corresponden a la materia seca de la papa (Lopez et al. 2019)

Hoy en día, hay un aumento en el interés en el compuesto antioxidante presente en el alimento, al cual se les atribuye las capacidades de que se inhiba el proceso de oxidación ocasionado por lo radical libre en los organismos y que tengan así roles preventivos de cierta enfermedad como: Cáncer, catarata y patología cerebral. Entre el compuesto antioxidante está el flavonoide como es el tanino y antocianina (Lopez et al. 2019)

Con la investigación de estudio intitulado evaluación de las actividades antioxidantes de dos tipos de papas nativas; yawar wayku y puma maki. A mayor cantidad de actividad antioxidante ayudan tener mayores beneficios a nivel de la salud humana esto contrarresta enfermedades como: cáncer, obesidad, colesterol, trastornos mentales (De et al. 2018) es por la misma razón buscamos fortalecer, incentivar, culturizar a toda la región de Apurímac, donde se viene perdiendo toda la biodiversidad de las papas nativas, con lo antes mencionado queremos incentivar a la producción a nivel local, regional y nacional, todo esto generará gran ingreso económico que se resume en un sustento para cada familia productora, donde esto conlleva a la reactivación agrícola tecnificada y la recuperación de nuestros productos nativos que contienen antioxidantes naturales.



CAPÍTULO II

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1 Objetivos de la investigación

2.1.1 Objetivo general

Evaluar la actividad antioxidante, en dos variedades de papa nativa (*Solanum tuberosum*), yawar wayku, puma maki.

2.2.1 Objetivos específicos

- Determinar e identificar las antocianinas por cromatografía líquida-espectroscopia (HPLC), UV – Visible y FTIR-ATR, en dos variedades de papa nativa (*Solanum tuberosum*); yawar wayku, puma maki.
- Determinar la cantidad de antocianinas totales (CAT), de dos variedades de papa nativa (*Solanum tuberosum*); yawar wayku, puma maki
- Determinar la cantidad de polifenoles totales (PFT), de dos variedades de papa nativa (*Solanum tuberosum*); yawar wayku, puma maki
- Determinar y evaluar la actividad antioxidante por el método ABTS, en dos variedades de papa nativa (*Solanum tuberosum*); yawar wayku, puma maki.

2.2 Hipótesis de la investigación

2.2.1 Hipótesis General

La actividad antioxidante tiene relación significativa con la cantidad de flavonoides de dos variedades de papa nativa (*Solanum tuberosum*); yawar wayku, puma maki.

2.2.2 Hipótesis específica

- Los flavonoides más representativos e identificables por, HPLC-DAD, Uv-Visible y FTIR-ATR, depende del tipo y la variedad de papa nativa (*Solanum tuberosum*).
- La cantidad de antocianinas totales por el (CAT), de dos variedades de la papa nativa (*Solanum tuberosum*), yawar wayku, puma maki, existe por la mayor cantidad de antocianinas.



- La cantidad de polifenoles totales (PFT), existe por la mayor cantidad de flavonoides en dos variedades de papa nativa (*Solanum tuberosum*); yawar wayku, puma maki.
- La actividad antioxidante determinado por el método ABTS; existe por la mayor cantidad de flavonoides en dos variedades de papa nativa (*Solanum tuberosum*); yawar wayku, puma maki.

2.3 Operacionalización de variables

Tabla 1 — Variables descriptivas

Variables	Indicador	Índice
Variable independiente		
Variedad de papa nativa	Papa nativa yawar wayku (PYW), puma maki (PPM)	Estado de madurez de la papa nativa
Variable dependiente		
Identificación de antocianinas por (HPLC, Uv-Visible, FTIR-ATR).	Antocianinas identificadas	límites máximos y mínimos tipos de flavonoides
Cuantificación de antocianinas totales (CAT), y polifenoles totales (PFT)	Polifenoles totales, antocianinas totales.	mg de ácido gálico/100g de muestra seca y mg ácido Gálico/100g
Actividad antioxidante por el método ABTS	Actividad antioxidante	Conc. Trolox mM (mmol/L)

Nota: se trabajó para dos muestras (PYW) y (PPM)



CAPÍTULO III

MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

3.1. Antecedentes

Según (Barragán, et al. 2018) en su investigación “**Antocianinas, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante del mio – mio (*Coriaria ruscifolia L*)**” en su análisis presenta los siguientes resultados: Respecto a los contenidos de antocianina total (CAT), la papa nativa pigmentada (PST) y (PWQ) disminuye su totalidad de 59,21 y 19,35 a 4,63 y 1,31 (mg de cianidina 3-glucosido/100g) de forma respectiva, luego de los procesos de frituras, resguardando mejor su antocianina en los procesos de cocimiento de hervido. De manera parecida sucede en los contenidos de polifenol total (PFT) de las papas nativas (PST) y (PWQ), se disminuye de 179,51 y 87,92 a 125,27 y 12,19 (mg de ácido gálico/100g) luego del proceso de cocimiento por microonda en el primero y de frituras en el segundo caso, continuamente se preserva de buena manera el polifenol total en el cocimiento por hervido. Los espectros UV Visible y FTIR localizados, incumben a la antocianina tal como se logra apreciar en el espectro publicado. En su conclusión (Barragán Condori, Melquiades Cartagena Cutipa, Aro Aro y Meléndez Huamaní 2018) , señala que las papas nativas pigmentadas sangre de toro (PST) presentan mayores proporciones de antocianina total (CAT) y polifenol total (PFT) con relación a las papas nativas wenq'os (PWQ), la reducción más rigurosa en contenido de antocianina total (CAT) y polifenol total (PFT), presenta a las papas nativas wenq'os (PWQ) en el desarrollo de cocimiento por frituras para las dos determinaciones, de otro modo las papas nativas sangre de toro (PST) presentan más firmeza a las degradaciones térmicas de su antioxidante, también se determina que los procesos de cocimiento que menos dañan al antioxidante es el cocimiento por hervido. El espectro UV – Visible y FTIR corresponde al espectro de antocianina.

Según (Bastidas, 2018) Publicó en su trabajo de investigación denominado “**Determinación, Aislamiento y Caracterización de antocianinas (*Solanum tuberosum L.*)**”, tiene por objetivo de determinar, aislar y caracterizar antocianinas en *solanum tuberosum L.* la investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Química orgánica y el laboratorio Instrumental de la Universidad Nacional del Dento del Perú, para ello se eligió la variedad de papa huayro macho, por sus características física y



presentar una coloración roja intensa, se utilizó 1 kg de tubérculos y como testigo se utilizó a la variedad Huayro rojo. Se realizaron pruebas cualitativas y pruebas cuantitativas para su detección, aislamiento y cuantificación, se trabajó en medio ácido y medio básico. Los resultados de nuestra investigación reportan: Para el análisis cualitativo la prueba dio positiva en medio básico (coloración amarilla) y medio ácido (coloración azul). En el análisis cuantitativo se determinó el factor de retención (Rf) en la cromatografía de capa fina, para el testigo dio 81,71 y para la muestra en estudio 80,51 y la repetición 80,72 lo que nos confirma presencia de dos antocianinas: Pelargonidina y Malvidina. Las concentraciones de antocianina en la cáscara de la papa Huayro rojo (Testigo) fue de 84,94 mg.L-1 de Pelargonidina y 94,91 mg.L-1 de Malvidina y en la muestra de investigación (Huayro macho) dio como resultado de 246,54 mg.L-1 de Pelargonidina y 275,46 mg.L-1 de Malvidina, y en la repetición de la misma muestra en estudio dio 246,19 mg.L-1 de Pelargonidina y 275,08 mg.L-1 de Malvidina, ello se corrobora con estudios realizados por Lewis en 1998. Las estructuras se caracterizaron con la espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier, los espectros de infrarrojo para las antocianinas en papa variedad Huayro macho, se caracterizan por presentar una banda ancha a 3500 cm-1–3200 cm-1 correspondiente al grupo hidroxilo. La señal de 1570 cm-1–1465 cm-1 predice la existencia de un grupo (C-C) en el anillo aromático y de 1300 cm-1–1000 cm-1 confirmó la existencia de un grupo CO. La banda por debajo de 900 cm-1 corresponde a C-H, la flexión se refiere a la presencia de un anillo aromático. Las señales a 3483,44 cm-1 , 1631,78 cm-1 , 1269,16 cm-1 y 1060,85 cm-1 fueron las principales bandas de absorción en la muestra aislada de Pelargonidina y Malvidina.

Según (Ernesto y Cáceres, 2020) en su trabajo de investigación “**Determinación de antocianinas y capacidad antioxidante en extractos de (Muehlenbeckia volcánica)**”. En este estudio se ha caracterizado, cuantificado y determinado la capacidad antioxidante en extractos de frutos de (Muehlenbeckia volcánica), para lo cual se extrajeron los pigmentos antocianínicos con metanol acidificado al 0.01% HCl, se filtró, concentró, centrifugó y aforó a un volumen conocido para su posterior análisis. En el extracto se evaluó el contenido de antocianinas totales (CAT) por el método de pH diferencial, polifenoles totales (PFT) por el método Folin-Ciocalteu y su capacidad antioxidante por el Método TEAC DPPH. Los extractos caracterizados por espectrofotometría UV-Vis presentan valores máximos de absorbancia a 520 nm que corresponden a estructuras antocianínicas ya establecidas, del mismo modo por espectroscopia FTIR-ATR se observan



fuertes señales de absorción a diferentes valores de frecuencias de vibración que corresponden a grupos funcionales de antocianinas. Los cromatogramas de HPLC del extracto pertenecen a antocianidinas delphinidina y petunidina. Se determinó en extractos que el contenido de antocianinas es de 171.85 (mg cianidina 3-glucosido/100g), polifenoles totales de 275.55 (mg ácido gálico / 100 g) y su capacidad antioxidante TEAC DPPH de 31.37 ($\mu\text{mol trolox/g}$). Por su alto contenido de CAT, PFT y capacidad antioxidante se concluye que estos frutos tienen alto poder antioxidante y puede ser usados como alimento funcional

Según (López Rodríguez, 2019) en su trabajo de investigación "**Breeding studies in potatoes containing high concentrations of anthocyanins**". Análisis de estudio que llevará a término un estudio de perfeccionamiento acerca de la conducta del clon de papa con un nivel alto de antocianina. El clon de pulpas rojas que muestran estas características en mayores proporciones, los que sugieren controles multigénicos de los grados de pigmentación. Las pulpas rojas varían a partir de pigmentaciones parciales a pigmentaciones completas, en las cuales los pigmentos se encontraban presente en todo el tejido de los tubérculos. Las antocianinas totales variaron de 6.9 a 35mg/100g de peso fresco en el clon de pulpas rojas y de 5.5 a 17.1 mg en el de pulpas moradas; y sus contenidos en peso seco se ubican entre el de la fresa y la cereza. Las capacidades de absorbancia de los radicales de oxígeno y las habilidades del plasma para la disminución del hierro se revelaron que el nivel de antioxidantes en la papa de pulpas rojas o moradas es de 2 a tres veces mayor que en la papa de pulpa blanca.

Según (Davalos, 2019) en su investigación "**Determinación de parámetros óptimos de extracción de antocianinas en mashua negra (*tropaeolum tuberosum*) y evaluación de la actividad antioxidante y polifenoles totales**" el objetivo de esta investigación fue determinar los parámetros óptimos de extracción de antocianinas obtenidas de mashua negra (*Tropaeolum tuberosum*), determinar el contenido de polifenoles totales y evaluar su capacidad antioxidante. Para la optimización del proceso de extracción de las antocianinas se empleó la metodología de superficie de respuesta compuesto central no aleatorio con tres factores: Temperatura extracción (20 a 60°C), tiempo extracción (180 a 300 minutos) y concentración de solvente etanol acidificado (pH 3 a 4). La optimización del modelo mostró que las condiciones de extracción óptima son; solvente acidificado (pH 3.317), tiempo de proceso de 264.564 minutos y temperatura de 37.769 °C, el cual



presentó los mayores contenidos de antocianinas, alcanzando 170.36 mg cianidina 3-glucosido/100g, el contenido de fenoles totales, es de 10.66 ± 0.624 mg ácido Gálico/gr evaluados por el método de Folin-Ciocalteu y la actividad antioxidante de 42.76 ± 2.92 μ mol equivalente de Trolox/g determinados por el método de DPPH, respectivamente.

Según (Canteño, 2022) en su investigación titulada **“Efecto de procesos de cocción y digestibilidad invitro en el contenido de antocianinas, polifenoles totales y capacidad antioxidante de papas nativas (*solanum tuberosum spp*)”**. El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de procesos de cocción (hervido, frito y microondas) y digestión invitro en el contenido de antocianinas, polifenoles totales y capacidad antioxidante en papas nativas. La metodología consistió en adicionar 1 g de cáscara o pulpa crudo o cocida (hervido, frito y microondas) en un tubo fálcon, posterior se enraza hasta 10 mL con metanol grado analítico (1:10) y se maceró a (4 °C) durante 16 horas, luego se centrifugó a 10,000 rpm durante 5 minutos para determinar el contenido de sus propiedades antioxidantes. Los resultados en papas nativas crudas presentaron diferencias significativas, siendo la variedad papa Elena 1198 y el clon de pulpa rojo mejores en el contenido de propiedades antioxidantes. En los procesos de cocción (hervido, frito y microondas) las papas nativas no presentaron diferencias significativas entre tratamientos, pero el tratamiento de (37 minutos a 94 °C hervido; 7 minutos en microondas y 12 minutos a 180 °C – 200 °C en frito) presentaron una mejor cocción en comparación con los demás tratamientos en estudio. En la digestión invitro existieron diferencias significativas, siendo el clon de pulpa rojo quien presentó mayor contenido de propiedades antioxidantes. Se concluyó que con el proceso de cocción por microondas conservó el mayor contenido de compuestos bioactivos así mismo en la digestión invitro.

Según (Cerón M et al. 2018), en su investigación intitulada **“Composición Físicoquímica y Propiedades Antioxidantes de Genotipos Nativos de Papa Criolla (*Solanum tuberosum Grupo Phureja*)”**. Se han estudiado las propiedades antioxidantes y composición físicoquímica de 21 genotipos de papas criollas *Solanum tuberosum* (Phureja). Se determinó el contenido de humedad, cenizas, proteínas, almidón, azúcares totales y reductores, actividad antioxidante (ABTS y FRAP), fenoles totales y vitamina C. El análisis físicoquímico mostró variaciones genotípicas significativas en muestra cruda. La humedad entre 72,06% - 77,07%; cenizas 0,96% - 2,56%; proteínas 6,95% - 11,38% BS; almidón 14,44% - 22,4%; azúcares totales BH 16,38%-23,67% y azúcares



reductores BH 0,88%-3,8%. El perfil antioxidante evidenció diferencias genotípicas. ABTS entre 4408 - 12543 (crudo) y 6644 a 14492 (cocidas) μmol de Trolox/100g BS. FRAP de 76,4 a 203,2 (crudo) y de 121,6 a 324,8 (cocidas) mg ácido ascórbico/100 g BS. Los fenoles en muestras cocidas fueron mayores que en crudo (245,2 -524,8 y 161,6 - 442,7 mg de ácido gálico/100 g BS, respectivamente, la vitamina C disminuyó entre 33,07% a 68,8% luego de cocción.

3.2. Marco teórico

3.2.1. Papa nativa (*Solanum tuberosum*)

La papa forma parte del género *Solanum* dentro de la familia de la solanácea en la cual además se encuentra el tomate (*Lycopersicon esculentum*), el ají (*Capsicum spp.*), la petunia (*Petunia spp.*), el tamarillo (*Cyphomandra spp.*), el tabaco (*Nicotiana Tabacum*) y otra especie con baya venenosa. Al mismo tiempo, el género *Solanum* alberga más de 2000 especies (Siñani et al. 2018), la mayor parte de la cual es una especie no tuberizante como el pepino (*S. muricatum*), la berenjena (*S. melongena*), el naranjillo (*S. quitoense*), la mora negra (*S. nigrum*), y alguna mala hierba y arbusto. Solo ciertas partes reducidas del género *Solanum* están conformada por una especie que forma el tubérculo o tuberizante (sección Petota, subsección Potatoe) a las cuales se denominan papas. Existe aproximadamente de 190 especies de papa silvestre taxonómicamente distinta a la cual posee números de bases de un cromosoma ($x = 12$) y tiene rangos que varían desde diploide ($2n = 2x = 24$) hasta hexaploide ($2n = 6x = 72$) (Siñani et al. 2018). Toda esta especie existe solo en América: nacen desde el sur de los Estados Unidos, por medio de México, América Central, las naciones andinas, hasta el sur de Chile. Se localizan desde el nivel del mar hasta más de 4 000 metros de altitud (Siñani et al. 2018).

De acuerdo a las clasificaciones taxonómicas tradicionales adoptadas por (Siñani et al. 2018) (Huamán, 1986, pág. 22), hay 8 especies de papa cultivadas (Tabla 1), que son: *S. stenotomum* (2x), *S. goniocalix* (2x), *S. phureja* (2x), *S. ajanhuiri* (2x), *S. juzepczukii* (3x), *S. chaucha* (3x), *S. tuberosum* (4x) y *S. curtilobum* (5x). Por lo tanto los últimos tratamientos taxonómicos realizados por Spooner *et al.*, (2007) clasifican a la papa sembrada en tan solo 45 especies: (i) *S. tuberosum*, con 2 grupos de cultivares (grupos Andígenas con variedad diploide, triploide y tetraploide del alto Ande, y grupos



Chilotanum con variedad tetraploide de la tierra baja chilena); (ii) *S. ajanhuiri* (diploide), (iii) *S. juzepczsukii* (triploide) y (iv) *S. curtilobum* (pentaploide).

Tabla 2 — Especies de papa cultivada según el tratamiento taxonómico tradicional y moderno

Autor	Especies	Numero de Cromosomas	Nivel de ploidia
Huaman(1986) Ochoa (2019)	<i>S. ajanhuire</i> fuz.Et Buk	$2n=2x=24$	diploide
	<i>S. goniocalix</i>		
	<i>S. phureja</i> juez.Et Buk		
	<i>S. stenotomon</i> juez.Et Buk		
	<i>S. chaucha</i> juz.Et Buk	$2n=3x=36$	triploide
	<i>S. juzepczsukii</i> Buk		
	<i>S. tuberosun</i> L.	$2n=4x=48$	tetraploide
	Spp.Andigena		
	Spp.Tubersum		
<i>S. curtilobum</i> juz.Et Buk	$2n=5x=60$	pentaploide	
Spooner (2007) Ochoa (2019)	<i>S. ajanhure</i> juez Et Buk $2n=2x=24$		diploide
	<i>S. juzepczsukii</i> Buk	$2n=3x=36$	triploide
	<i>S. tuberosun</i> L.	$2n=2x=24$	diploide
	Grupo Andigena	$2n=3x=36$	triploide
		$2n=4x=48$	tetraploide
	Grupo Chilotamon	$2n=4x=48$	tetraploide
<i>S. curtilobum</i> juz.Et Buk	$2n=5x=24$	pentaploide	

Extraído de Ochoa (2019).

Por lo tanto, se ha considerado que existen más o menos unas 5000 variedades de papa cultivada a nivel mundial, la mayor parte de la cual crece fundamentalmente en los Andes de Perú, Bolivia, Ecuador, Chile, y Colombia (Mauro Rodas 2019). Muestran un gran rango de forma, tamaño y color, que va a paritr del blanco hasta el rojo y 6 negro. En el banco de germoplasma del CIP están siendo protegidos cerca del 80 % de los cultivares nativos y 50 % del pariente silvestre, por lo tanto, la posición de algunos aún está en duda. De toda la especie cultivada únicamente *S. t. tuberosum* (*S. tuberosum* Grupo *Chilotanum*) está en todo el mundo dividida, se debe a su adecuación a días extensos, el resto está restringida al país andino, por lo principal se adaptada a los días cortos, en los que se encuentra el millar de cultivares nativos ^[14]. La propiedad

nutricional de la papa la hace uno de los primeros cultivos a nivel mundial. Por lo principal está formada de agua (75%); unos elevados contenidos de carbohidrato (20%), rse presentada por lo general por almidón y en menores cantidades por fibra dietética; proteína (2%); inferior cantidad de grasa (0.01%); y grandes cantidades de micronutriente como la vitamina, mineral y antioxidante (Tabla 2).

Tabla 3 — Valor nutricional de la papa cruda sin cocinar. Tomado de la base de datos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos

Valor nutricional por cada 100g de papa cruda con cascara-ene 80kcal (320kJ)	
Carbohidratos	19g
Almidón	15g
Fibra dietética	2.5g
Grasas	0.1g
Proteínas	2g
Agua	75g
Tiamina (Vit.B1)	0.08mg
Riboflavina (Vit.B2)	0.03mg
Niacina (Vit. B3)	1.1mg
Vitamina B6	0.25mg
Vitamina C	20mg
Calcio	12mg
Hierro	23mg
Magnesio	57mg
Fosforo	421mg
Potasio	6mg

Extraído de (Mauro Rodas, 2019)

3.2.1.1 Características de la papa nativa

La papa es un tubérculo donde crece anualmente en climas templados y semicalidos también debe a su capacidad para propagarse vegetativamente a través del tubérculo, órgano de acopio.

De la planta de papa. Esta planta está formada por una parte que desarrolla encima del suelo, en la que se recalca el tallo, hoja, flor y fruto, en tanto que la otra se desarrolla profundamente perteneciendo al estolón, tubérculo y raíz (Mauro Rodas, 2019)



El tubérculo puede presentarse de estructura alargada, redonda u prolongada; su color, mientras, es blanco, amarillo, violeta o rojizo.

3.2.1.1.1 Descripción física de papas nativas

“Dentro de la forma básica de la papa se puede encontrar un tubérculo redondo, largo y ovalado, también de una serie de modos intermedios como la estructura del dedo, cilíndrico, arriñonado y de pera”(Agronom et al. 2019).

En cuanto al color de la piel, este es un carácter más fijo en los tubérculos de la papa y, en la mayor parte del caso, su presencia es factible mucho antes de que alcancen toda su maduración (Palomino,2018). El color de la piel del tubérculo puede variar a partir del blanco a coloreado, respondiendo a diferentes matices de rojo, púrpura o violeta. Además, el tubérculo puede tener la piel de tinte igual o des uniforme, es decir, manchada (Figura 2)(Tabla 3, 4) (Palomino,2018).



Figura 1 — Variedades de papas nativas

Tabla 4 — Característica morfológica de papa nativa (*Solanum tuberosum*); puma maki

Habito de crecimiento	Semi erecto
Color de flor	Morado pálido
Forma de tubérculo	Comprimido
Profundidad de ojos	Profundo
Color de piel	Negruzco
Color de pulpa	Crema-morado

Extraído de (Palomino,2018)



Figura 2 — Papa nativa morada, puma maki

Tabla 5 — Característica morfológica de papa nativa, (*Solanum tuberosum*); yawar wayku)

Habito de crecimiento	Decumbente
Color de flor	Blanco amarillo pálido en estrella
Forma de tubérculo	Oblongo
Profundidad de ojos	Medio
Color de piel	Rojo-morado
Color de pulpa	Violeta

Extraído de (Palomino, 2018)



Figura 3 — Papa nativa roja, yawar wayku

3.2.1.2. Composición de la papa nativa

3.2.1.2.1 Antioxidantes naturales

El antioxidante es una sustancia de diferente tipo, que previene o demora los daños moleculares producidos por el radical libre, que son

macropartículas negativas y positivas que no se encuentran interiormente neutralizadas por lo que afectan a la membrana de nuestra célula logrando al final que se destruya y cambie sus informes genéticos, favoreciendo así los caminos para que se desarrolle diferentes tipos de enfermedad (Trejo-Escobar, Cortés y Mejía-España 2019).

Para lograr prevenir o demorar su acción, el antioxidante entrega electrones al radical libre, con los cuales lo desactiva disipando los procesos de oxidación, y modificando los en radical libre inactivado. Por consiguiente, las estructuras moleculares de los antioxidantes sufren de igual manera daños (modificaciones químicas) al responder con radicales libres pero con costos mucho menores para los organismos que si las moléculas dañadas tuvieran funciones biológicas (Cerrón Mercado, 2018).

Los antioxidantes naturales se encuentran en toda parte de la planta. Este antioxidante incluye carotenoide, vitamina, fenol, flavonoide, metabolito endógeno. El principal antioxidante extracelular es un nutriente natural que se ingiere en las dietas, uno bien caracterizado como las vitaminas E y C y otros en procesos de caracterizaciones como el polifenol (Cerrón Mercado, 2018).

3.2.1.2.1.1 Identificación de flavonoides

Flavonoides, antocianinas y polifenoles son constitutivos de la planta valiosa en las capturas de radical libres, se debe a las grandes cantidades de grupo hidroxilo presente en sus estructuras (Cerrón Mercado, 2018).

El flavonoide pertenece a las mayores clases de un compuesto polifenólico suficientemente distribuido en la planta y entre ello se puede localizar flavona, flavonol, isoflavona, flavononol, catequina, flavonoides, su estructura se muestra en la Figura 3. Aparece de manera frecuente en modo de O-glucósido, incluyendo o no azúcar en sus estructuras (Jiménez, 2019).



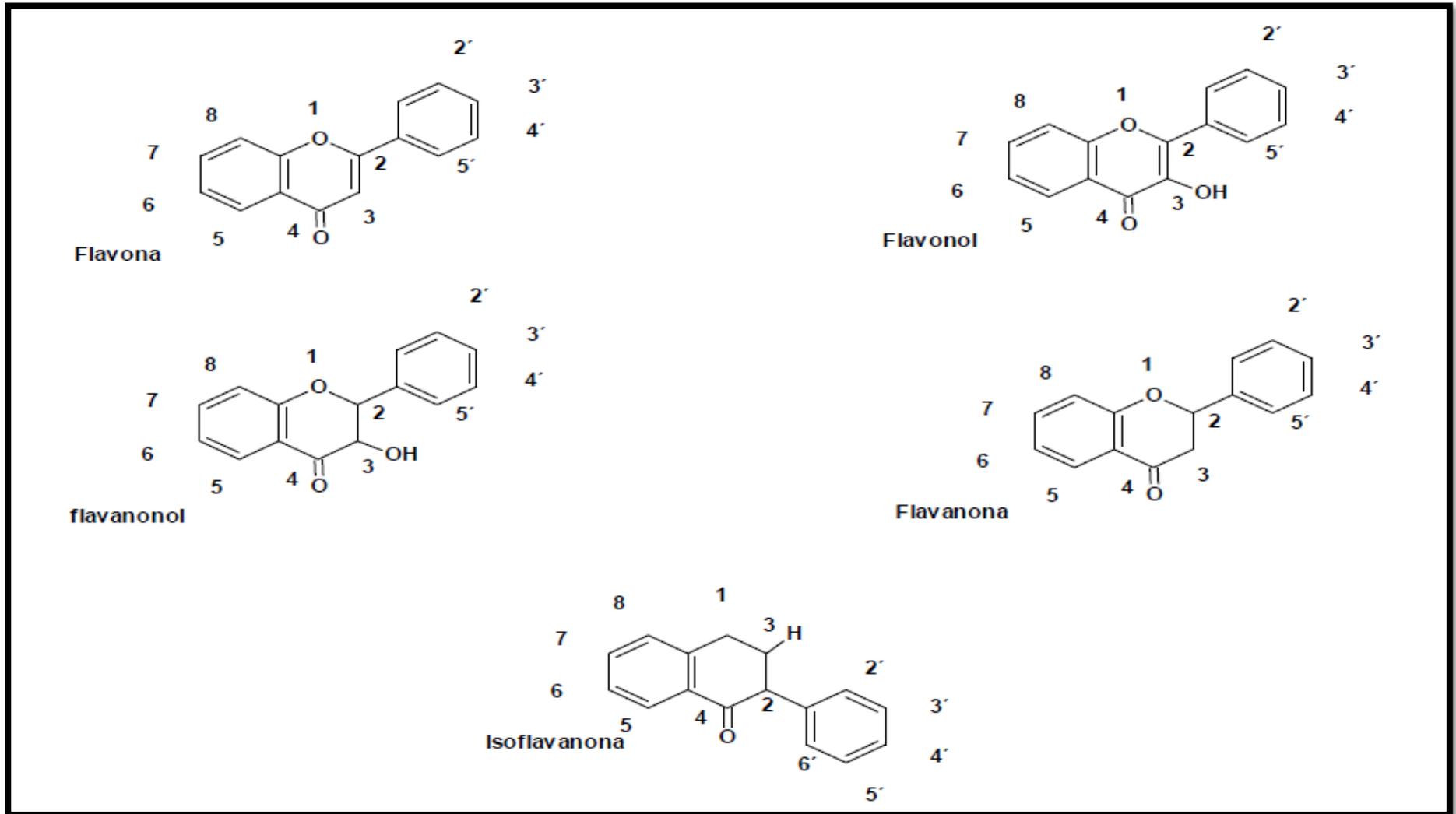


Figura 4 — Estructuras químicas de los diferentes flavonoides

En la actualidad existe aumento de los beneficios enfocados en el flavonoide, puesto que se han estado evidenciados grandes valores en las dietas humanas que se debe a las grandes variedades de actividad biológica que esto presenta; entre ella impedimento de enzima hidrolítica y oxidativa (fosfolipasa A2, ciclooxigenasa, lipoxigenasa), efecto antibacterial, actividades antiinflamatorias y antioxidantes. Puesto que este actúa como antioxidante; ayuda a que se contrarreste o se disminuya el riesgo de cáncer, enfermedad cardiovascular (Jiménez, 2019).

“El flavonoide puede ser separado, cuantificado e identificado por medio de una técnica de HPLC acopladas a un detector UV, masa, o resonancias magnéticas nucleares (RMN)” (Jiménez, 2019).

3.2.1.2.1.2 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos y polifenoles son un conjunto de composiciones presentes en la condición que posee anillo aromático con sustituto hidroxilo. Este compuesto es en su mayor parte un potente antioxidante necesario para el funcionamiento de la célula vegetal y animal. Se encuentra en la fruta y verdura, bebidas como té y vino (Rojas Ruiz et al. 2017).

Los compuestos fenólicos neutralizan el exceso de radicales libres, que pueden desarrollar enfermedades crónicas de tipo degenerativo como el cáncer y cardiovasculares. Estos radicales libres pueden dañar el ADN y ser potencialmente cancerígenos. Por ello un buen aporte de frutas y verduras en las dietas pueden tener excelentes efectos en la salud (Benavides Gerrero et al. 2020).

3.2.1.2.1.3 Antocianinas

La antocianina forma parte de la familia del polifenol y se define como flavonoide fenólico, manteniendo funciones antioxidantes. La antocianina es el conjunto más fundamental del pigmento soluble al agua visible para los ojos humanos, donde es característico el color rojo, azul o violeta (Benavides Gerrero et al. 2020).



El color rojo, azul y violeta depende del grupo que esté atado a las estructuras, así como la postura de los carbonos que están siendo atacados. En medios básicos, el color vira de un color rojo a azul, sin embargo entre más ácidos se encuentren los medios, el color de las antocianinas se hace más rojo (De et al. 2018).

La antocianina pertenece a un conjunto de glicósido cuyas estructuras generales son el 2- fenilbenzopirilo o ión flavilio. Está formado por moléculas de antocianindinas (aglicón) que se unen a fracciones de carbohidratos mediante enlaces de B-glicosídicos, en el que el carbohidrato puede ser D-glucosa, D-galactosa, etc. (Luzuriaga Tinoco 2020). Las formas más comunes como indica López, se muestran en la (Tabla 5) así mismo la estructura principal de las antocianinas en la (Figura 6).

Tabla 6 — Formas más comunes de antocianinas son: cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina, Malvidina y pelargonidina

Antocianina	R1	R2
Cianidina	-OH	-H
Peonidina	-OCH3	-H
Delfinidina	-OH	-OH
Petunidina	-OCH3	-OH
Malvidina	-OCH3	-OCH3

Extraído de (Luzuriaga Tinoco, 2020)

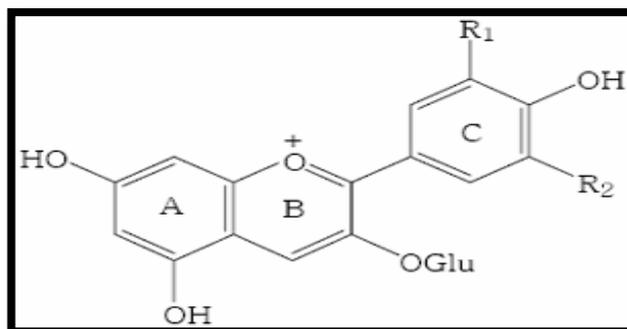


Figura 5 — Estructura de principales antocianinas

3.2.1.2.2 Métodos para la determinación de la actividad antioxidante

3.2.1.2.2.1 Medición de la actividad antioxidante

Las actividades antioxidantes no pueden ser medidas de manera directa, pero pueden establecerse por el efecto de los compuestos antioxidantes en procesos de oxidaciones controladas.

Las actividades antioxidantes de unas muestras no pueden ser determinadas apoyándose en un único ensayo de muestra. En las prácticas se efectúan (Zapata, 2018) ciertos patrones de test in vitro (Tabla 6) para que se evalúe las actividades antioxidantes de las muestras de interés; en cambio, es preciso que se considere que el modelo presenta diferente variación y pueden impedir un poco las comparaciones del resultado entre unos métodos y otros.

Con apoyo a la reacción química, la mayor parte del ensayo para que se determine las capacidades antioxidantes que puede ser dividido en 2 rangos: (1) Ensayo basado en la respuesta por propagación de átomo de hidrógeno (HAT) y (2) Ensayo basado en la respuesta por propagación de electrón (ET) (Surco Laos et al. 2020).

Tabla 7 — Clasificación de los modelos de ensayo in vitro según su modo de reacción ET o HAT

Ensayo	Categoría
Acido 2,2'-azino-bis-3-etilbezotiazolin-6-sulfónico (ABTS***)	Ensayo basado en la transferencia de electrones (ET)
1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH*)	
Poder de reducción antioxidante del hierro (FRAP)	
N,N-dimetil-p-fenilendiamina (DMPD)	
Capacidad de reducción antioxidante del cobre (CUPRAC)	
Capacidad de absorción del radical oxígeno (ORAC)	Ensayos basados en la transferencia de átomos hidrogeno (HAT)
Parámetro antioxidante de captura de radicales (TRAP)	
Inhibición de la oxidación del ácido linoleico	
Inhibición de la oxidación del ácido (LDL)	

Extraído de (Zapata, 2018)

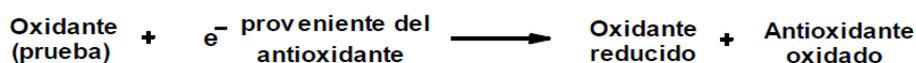


La muestra basada en la propagación del electrón (ET) involucra reacciones redox con los oxidantes como indicadores de los puntos finales de reacción.

La mayor parte del ensayo basado en HAT monitorea reacciones cinéticas competitivas, por lo general está compuesto de generadores de radicales libres sintéticos, unas pruebas moleculares oxidables y unos antioxidantes. El ensayo basado en HAT y ET fue desarrollado para que se midan las capacidades de poder obtener un radical libre, en lugar de las facultades preventivas de antioxidantes de unas muestras (Zapata, 2018). En la Figura 5 se muestra la reacción específica para el ensayo basado en la propagación del electrón y en la propagación del átomo de hidrógeno.

En los últimos años se han acogido amplios rangos de ensayo espectrofotométrico para que se midan las capacidades de antioxidantes del alimento, muestra biológica y extracto vegetal. Habitualmente el ensayo antioxidante in vitro utiliza un dispositivo del radical libre y es relativo sencillo de que se realice. Entre el ensayo de percepción del radical libre, el procedimiento DPPH es el más veloz, es fácil (no incluyen muchos pasos) y de menores costos en paralelo con otro modelo. Por otra parte, la prueba de decoloración ABTS^{•+} logra aplicarse a un antioxidante hidrofílico y lipofílico (Zapata, 2018). Por lo precedente, estos dos procedimientos son los más usados.

Ensayos ET



Ensayos HAT

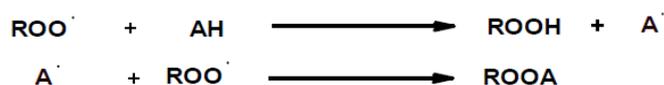


Figura 6 — Mecanismos de reacción por transferencia de electrones y transferencia de átomos de hidrógeno

A. Determinación de la actividad antioxidante por el método del ABTS^{•+} (Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6- sulfónico)

La generación del radical ABTS^{•+} Figura 8, compone las bases de uno del método espectrométrico que ha sido aplicado para que se midan las actividades



antioxidantes totales de solución o sustancia pura y mezcla acuosa. El ensayo original de $ABTS^{\bullet+}$ fue basado en las activaciones del metilmioglobinas con peróxido de hidrógeno en disposición de ABTS para que se produjera radicales de cationes, en presencia o falta de antioxidante. Este es notado debido a que las reacciones rápidas del antioxidante, contribuyen a la disminución del radical ferrilmioglobina. Unos formatos más apropiados para los ensayos consisten en las técnicas de decoloración, en las cuales los radicales son generados de manera directa en formas estables antes de la respuesta con el antioxidante (Rioja Antezana et al. 2018).

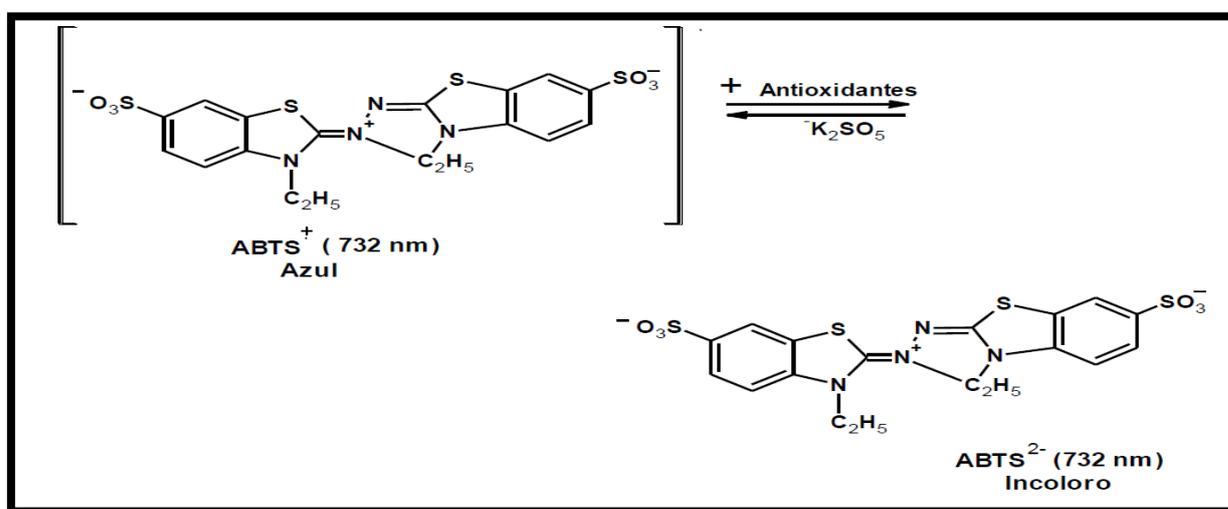


Figura 7 — Estructura del $ABTS^{\bullet+}$ antes y después de la reacción con el antioxidante.

Las técnicas mejoradas para la reproducción del radical catión $ABTS^{\bullet+}$, implica las productividades directas del cromóforo $ABTS^{\bullet+}$ verde-azul por medio de la respuesta entre ABTS y el persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$). Esta muestra 3 máximos de asimilación a la longitud de onda de 645 nm, 734 nm y 815 nm. La suma del antioxidante al radical pre-formado lo reduce a ABTS. De esta forma los grados de decoloración como porcentajes de impedimento del radical catión $ABTS^{\bullet+}$ está establecido en función de la manifestación y el tiempo; así como de los valores correspondientes utilizando el Trolox como estándar, bajo la misma condición (Rioja Antezana et al. 2018).

B. Determinación e identificación de flavonoides por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC-DAD).

En la detección de flavonoides por HPLC analíticos por lo general se utiliza un sistema de eluciones binarias, con un disolvente polar acuoso acidificado con: ácido acético, ácido fórmico, ácido fosfórico, ácido perclórico y unos disolventes orgánicos menos polares como metanol y/o acetonitrilo tal vez acidulado, cambiando la condición de acuerdo a los tipos de flavonoides y en su mayor parte la corrida se hace con una columna de ODS (RP-18 o C18) (Çayan et al. 2020).

En su mayoría su exploración está basada en la asimilación UV-Vis y una sola magnitud de onda no es perfecto para toda clase de flavonoide, ya que que esta muestra máxima de asimilación a una diversa longitud de ondas. Es muy frecuente la utilización de detectores de acuerdos de diodo DAD (el cual deja las cuantificaciones simultáneas a una diferente longitud de ondas) (Çayan et al. 2020).

En la Figura 9 se puede visualizar el perfil cromatográfico de 28 polifenoles diversos y la disposición aproximada en el cual se manifiesta a las longitudes de ondas de 280 nm.

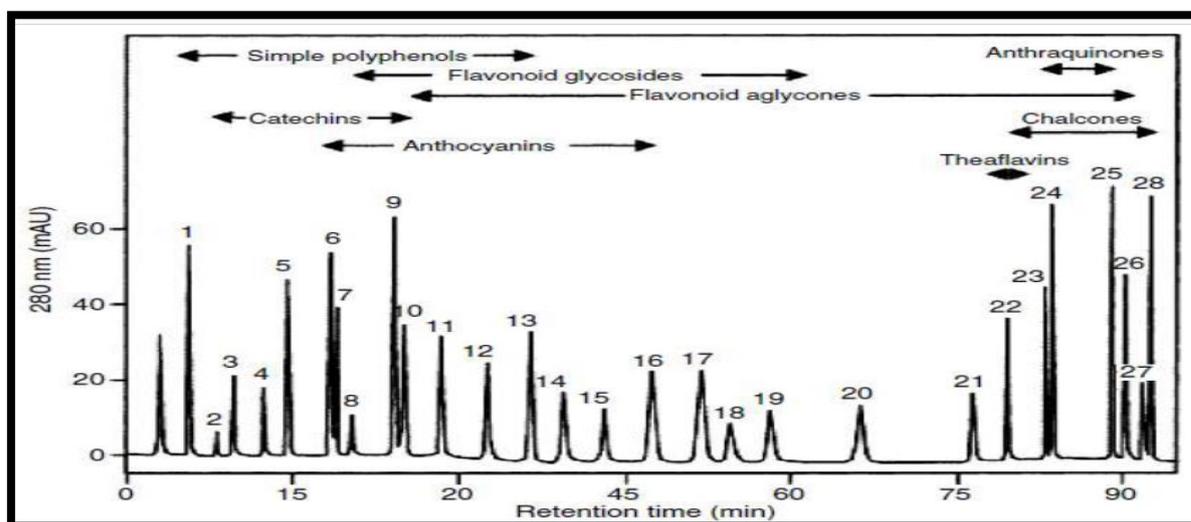


Figura 8 — Perfil cromatográfico.

Cromatografía líquida- UV



La espectroscopia ultravioleta-visible (UV-Vis) se basa en la asimilación de la radiación UV-Vis por una partícula, produciendo la promoción de algún electrón de estados de energía basal a uno excitado. La asimilación del espectro UV-Vis del constituyente de la planta logra medirse contra un blanco utilizando un espectrofotómetro.

La estructura general de los flavonoides Figura 7 está añadida a unos sistemas benzoicos del anillo A y a unos sistemas cinamoilos del anillo B el cual proporciona el estudio del flavonoide, ya que el espectro ultravioleta del benzeno muestra muy buenas estructuras que se deben a las interacciones vibracionales y electrónicas de su nivel de energía. Este relevante cromóforo (grupo práctico que atrae luz ultravioleta) muestra 3 bandas de asimilación a 184, 202 y 255 nm. Cuando el anillo muestra sustitución, puede por consecutivo, existir una conjugación, la cual va a mostrar desplazamientos batocrómicos en el espectro UV y proporcionan informes estructurales que permitan a que se identifique su patrón de oxidación y tipo de flavonoide (Çayan et al. 2020).

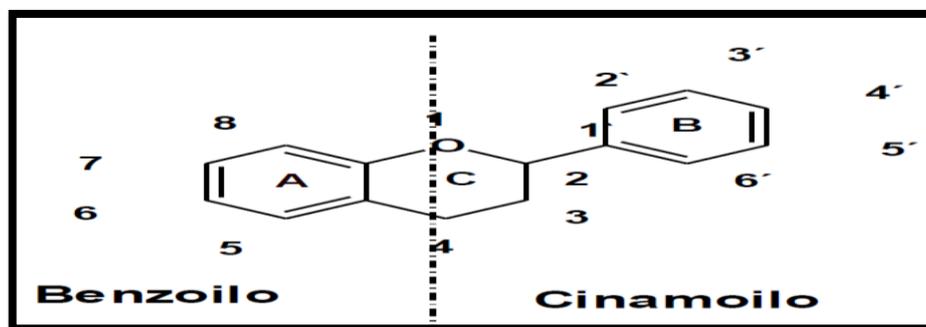


Figura 9 — Estructura general de los flavonoides

Tabla 8 — Clasificación de flavonoides según sus espectros UV

Tipo de compuesto	Banda I (nm)	Banda II (nm)
Flovonas y Flavonoles	320-370	240
Flavononomas y Flovononoles	270-295	236
Isoflavonas	300-330	240-270
Auronas	430	370
Cumarinas	311	274

Extraído de (Çayan et al. 2020).



La longitud de onda que se presenta en la tabla es aproximada, ya que el espectro puede presentar desplazamientos que dependen de los grados de reemplazo o glicosidación del flavonoide presente en las muestras.

La flavononona, el flavononol e isoflavona sostienen espectros muy similares debido a que pueden existir conjugaciones mínimas o nulas entre el anillo A y B. La diversidad está basada en el pico máximo de asimilación el cual se muestra en un clase de longitud de ondas para flavononas y flavononoles y otros para isoflavona, también la isoflavona presenta un cima de bajas energía en el rango de 300-330 nm (banda I) (Çayan et al. 2020).

“La chalcona y las auronas se clasifican por una asimilación fuerte en la banda I y una asimilación baja en la banda II. Un incremento en la purificación del anillo A o B origina un desplazamiento hipsocrómico de la banda I” (Çayan et al. 2020).

3.2.1.2.3 La espectroscopia infrarroja (FTIR)

La espectroscopia infrarroja (IR) es un tipo de espectroscopias de asimilación la cual es usada en la región infrarroja de los espectros electromagnéticos. Es una técnica ampliamente utilizada que como el resto de la técnica espectroscópica, logra ser usada para que se identifique unos compuestos o se investigue la elaboración de las muestras (Tellez Mesa, 2019).

Consiste en la acción de que el enlace químico de la sustancia tiene frecuencia de vibración específica que corresponde al nivel de potencia de la partícula. Esta frecuencia depende de la estructura de la superficie de fuerza posible de la partícula, la geometría molecular, la masa atómica y, probablemente, la unión vibracional (Tellez Mesa, 2019).

3.2.1.2.3.1 Rangos de longitud de onda de espectrofotometría infrarrojo

Cuando los espectros infrarrojos se amplían desde 10 a 14300 cm^{-1} , desde una perspectiva práctica se distribuye en tres zonas: IR Infrarrojo cercano (NIR) 780 nm - 2500 nm (12800 - 4000 cm^{-1}) en el que se produce una absorción debida a



sobre tono y combinación de la banda fundamental. En la región del espectro electromagnético IR con longitud de ondas de los infrarrojos medios (MIR) $2,5\ \mu\text{m}$ - $25\ \mu\text{m}$ (4000 y $1300\ \text{cm}^{-1}$) se suele visualizar una serie de banda de asimilación provocada por la vibración entre solo 2 átomos de la partícula. Esta vibración se deriva de un equipo que contiene hidrógeno o de un equipo con doble o triple enlace aislado. En la región de los espectros electromagnéticos IR con longitud de ondas comprendida entre $25\ \mu\text{m}$ - $400\ \mu\text{m}$ 1300 y $400\ \text{cm}^{-1}$ (infrarrojo lejano), se produce una absorción debida a un cambio rotacional, la retribución de la banda de asimilación a una vibración molecular es más complicado que se realice, debido a que cada uno de ellas está producida por una absorción individual sumada (multiplicidad de banda). Es la llamada zonas de las huellas dactilares (flexión de enlace CH, CO, CN, CC, etc.) En estas zonas de longitud de ondas, pequeña diferencia en las estructuras y contextura de la molécula da lugar a una variación importante en lo máximo de la asimilación (Tellez Mesa, 2019).

3.2.1.2.4 Factores que afectan la estabilidad de las antocianinas

Las antocianinas disponen una elevada sensibilización en diferente condición (pH, temperatura, oxígeno, dióxido de azufre, compuesto carbonílico, metal, etc.). Que produce que no sean muy sólidos y con ello que se modifique su propiedad física, química y biológica.

Influencia del pH. El pH tiene un evidente poder en su color de la solución de antocianina, actúa como un indicador de pH debido a su índole anfotérica bajo pH 3 (...), La solución de antocianina muestra un color rojo más intenso, al aumentar el valor de pH de dicha solución su color por lo normal va dispersando hasta que llegue hasta la categoría de 4 a 5. La pérdida del pH, tiene un resultado estabilizador sobre lo antociano, en particular en presencia de oxígeno. Esto consigue ser explicado ya que la igualdad, entra en las formas catiónicas coloreadas y las pseudo bases incoloras, se desplazan a las primeras, que son más estables (Pacheco Llamocca, 2019).

Formación de complejos con metales. La solución de antocianina presenta decoloraciones bajo condición fisiológica normal (pH 3 a 7) debido a las inseguridades relativas de la base anhidra, la co-pigmentación y otra reacción se



ha probado que actúa para que se establezca el pigmento antocianico, en cambio la conservación además logra que resulten de la instrucción de Complejo con algún metal (Pacheco Llamocca, 2019).

Interacción con ácido ascórbico. Estudios recomiendan que la degradación máxima de antocianina sucede en una condición favorable con la interacción del ácido ascórbico, lo que recomienda posibles interacciones entre ambos elementos. Este ácido que ejerce como antioxidante ha estado coordinado rigurosamente con el compuesto polifenólico, en cambio, una investigación indica que este ácido consigue que se acelere la degradación de la antocianina ^[43].

Oxígeno. El oxígeno es uno de los motivos fundamentales de la devastación de la antocianina, presente en jugo y vino tinto y, por lo tanto, de lo concentrado de antociano sólido o líquido. Por lo tanto, es adecuado que se almacene en la atmósfera inactiva (nitrógeno o anhídrido carbónico) y que se reduzca a un significativo el área de la cabeza del envase ^[43].

Temperatura. El tratamiento térmico además influye en la destrucción de la antocianina. Hay relaciones logarítmicas entre el retenimiento de los colores y la temperatura del proceso de conservación o depósito. Por consiguiente, para que mejoren el retenimiento del pigmento tiene que aplicarse el tratamiento térmico de la elevada temperatura y cortos tiempos, como además almacenamientos a una baja temperatura (Pacheco Llamocca, 2019).

“Enzimas. Hay un número de enzima, endógena en la mayor parte del tejido vegetal, la cual se relaciona con la palidez de la antocianina. Por lo general ha sido identificada como glucosidasa o fenolasa la cual cataliza la oxidación del compuesto fenólico” (Pacheco Llamocca, 2019).

El tipo de antocianina se determina de las 2 bandas de asimilación que cada una de ellas otorgan, una en la región UV (260-280 nm) y otra en la región notoria (510-700nm) (Pacheco Llamocca, 2019).



La variedad de colores presentes en papas nativas, desarrolla mucha posibilidad para la preparación de un producto saludable y novedoso. El color que presentan estas variedades de rojo, azul o púrpura, como en todos los alimentos es debido a las antocianinas. Por tanto, teniendo en consideración las actividades antioxidantes de las antocianinas, el poder caracterizar este elemento diferenciador en estas variedades nativas, incentivaría su producción por aportar beneficios a la salud, lo que se vería reflejado en generar valor agregado a estos productos regionales.

Diversas investigaciones han demostrado que la antocianina tiene una fundamental bioactividad. Se ha probado que la antocianina es efectiva en el impedimento del desarrollo de la célula cancerosa (Pacheco Llamocca, 2019), por lo cual se ha aplicado la mayoría del esfuerzo a averiguar su propiedad funcional, su relación con una enfermedad cardiovascular y aumento del alimento funcional.

3.3. Marco conceptual

Antocianina: La antocianina forma parte de la familia del polifenol y se define como flavonoide fenólico, teniendo funciones de antioxidantes (Pacheco Llamocca, 2019).

Antioxidante: Los antioxidantes pueden ser definidos, en la significación más amplia del término, cómo algunas moléculas capaces de evitar o retrasar las oxidaciones (daño de uno o más electrón) de otra molécula, por lo general un sustrato biológico como lípido, proteína o ácido nucleico. La oxidación de tal sustrato puede darse inicio por 2 modos de especie reactiva: lo radical libre, y aquella especie que, sin ser radical libre, es lo suficiente reactiva para persuadir la oxidación del sustrato como lo mencionado (Barragan, 2019).

Radical libre: Desde la perspectiva química, un radical libre es alguna clase de (átomos, moléculas o ión) que contengan por lo menos electrones desapareados en su orbital más externo, y que a su vez sea capaz de vivir de manera libre (de ahí el término libre) (Zapata, 2018).



Los flavonoides: Son metabolitos secundarios polifenólicos por lo común con grupos de cetonas y por lo normal un pigmento de color amarillo de donde proviene su nombre (del latín flavus, "amarillo"). Dentro del flavonoide se puede diferenciar 4 grupos fundamentales: los flavonoides, los isoflavonoides, los neoflavonoides y los antocianos, pero para que no se complique la cosa no se refiere a ello con el término más frecuente de flavonoide (Mandujano-Ponte, 2015).

Absorbancia: Además llamada como Densidad óptica (OD) la Absorbancia es definida como la relación (logarítmica) entre la fuerza de la luz que incurre sobre unas muestras y la fuerza de la misma luz que es trasladada por medio de esas muestras. Cuando la luz de la longitud de ondas determinadas, seleccionadas por filtros, incide acerca de unas muestras, parte de esa luz es consumida. La luz no consumida pasa por medio de las muestras y son recogidas por detectores colocados en el otro lado de los pocillos de las microplacas, frente a la fuente de luz (Soledad y Roperó 2020).



CAPÍTULO IV

METODOLOGÍA

4.1 Tipo y diseño de la investigación

El tipo de investigación es descriptivo y explicativo ya que contribuye al conocimiento existente de la actividad antioxidante de 2 tipos de papa nativa (*Solanum tuberosum*); yawar wayku, puma maki.

4.2 El diseño de la investigación

El diseño de la investigación es cuasiexperimental, dentro de ello tienen las características de ser cualitativo puesto a que no se tomó en consideración las acciones de la variable extraña y se tomó en el ensayo unas muestras de patrón con la finalidad de que se compare el dato obtenido, al igual de ello se utilizaron procedimientos comprobados de CAT, PFT, FTIR y ABTS; y un equipo de alta gama para la identificación de flavonoides por el HPLC-DAD, que aseguren la confiabilidad de la investigación y un análisis de varianza.

4.3 Población y muestra

Población: En la delimitación de la primera población los componentes son de la actividad antioxidante se delimito tomando la cantidad de 100 g del extracto de la papa nativa de cada variedad de papa yawar wayku, puma maki. Siendo considerados sus estados de maduración, en el que se contempla que no tenga ningún brote ni cáscaras verdes y que no esté deshidratada o arrugada.

Muestra: Para los diferentes análisis y pruebas la cantidad fue 100 g del extracto de papa nativa de cada variedad yawar wayku y papa puma maki.

4.4 Procedimiento de la investigación

ETAPA I: Extracción de antocianinas



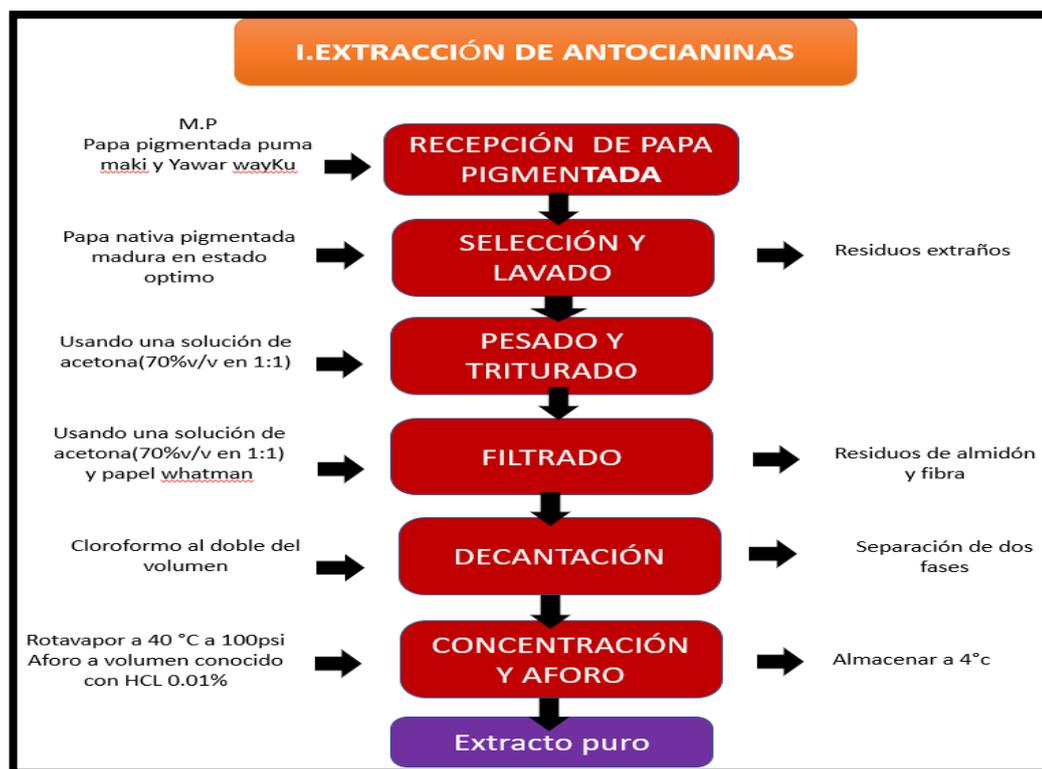


Figura 10 — Esquema de metodología experimental según (Pacheco Llamocca, 2019) con algunas modificaciones de autoría propia

Se empleó para la primera etapa 10mL de solución extractante de acetona 70 %, de igual manera para el filtrado de vacío se adiciono 10mL de acetona 70 % para el arrastre, para la segunda etapa se agrega en la pera de decantación 10mL de cloroformo esto con la finalidad de separar los lípidos, proteínas de compuesto fenólico (Pacheco Llamocca, 2019).

La extracción del color de antocianinas se desarrolla de acuerdo al procedimiento propuesto por (Pacheco Llamocca, 2019) se usaron como solventes acetona y cloroformo, la acetona extrajo la antocianina y los cloroformos también de que se aisle purificó incompleto los pigmentos. La suma de los cloroformos al extracto acetónico, provocó una separación en dos fases, en la fase superior acuosa se separó antocianina, fenólico, azúcar, ácido orgánico y otro componente polar y en la mayor parte que es la fase inferior quedaron los disolventes inmiscibles, lípido, carotenoide, pigmento clorofílico y otro compuesto no polar.

Procedimiento



1. Las muestras de papas pigmentadas previamente seleccionadas sin magulladuras fueron lavadas y secadas.
2. De estas papas 100 g de papa entera (con cáscara), se picaron en cortador para reducir de tamaño de forma uniforme y pesó 10 g para el proceso de extracción de cada una de ellas por triplicado.
3. Estas muestras previamente pesadas fueron trituradas en un mortero utilizando soluciones acuosas de acetona (70 % v/v) en una correspondencia 1:1 de (muestra: solvente)
4. El resumen logrado fue filtrado en papel whatman utilizando un embudo Buchner y una bomba de vacío a presión reducida, se efectuó una segunda re-extracción con el mismo solvente hasta que se obtengan soluciones incoloras de toda muestra.
5. Los purificados se recolectaron y se midió su volumen, se trasvasaron a una pera de decantación para agregar cloroformo al doble del volumen del filtrado, con agitación suave de arriba hacia abajo muchas veces. Después se deja en descanso durante media hora hasta que se formaron dos fases bien definidas (Figura 11).
6. La porción acuosa (fase superior) fue recaudada y empleada en un rotavapor a 40°C para concentrar el pigmento, a presión reducida de 100 psi.
7. El extracto concentrado se aforó a un tamaño conocido con una disolución de HCl 0.01% para evitar la oxidación del extracto y preservar a 4°C para posteriores análisis.

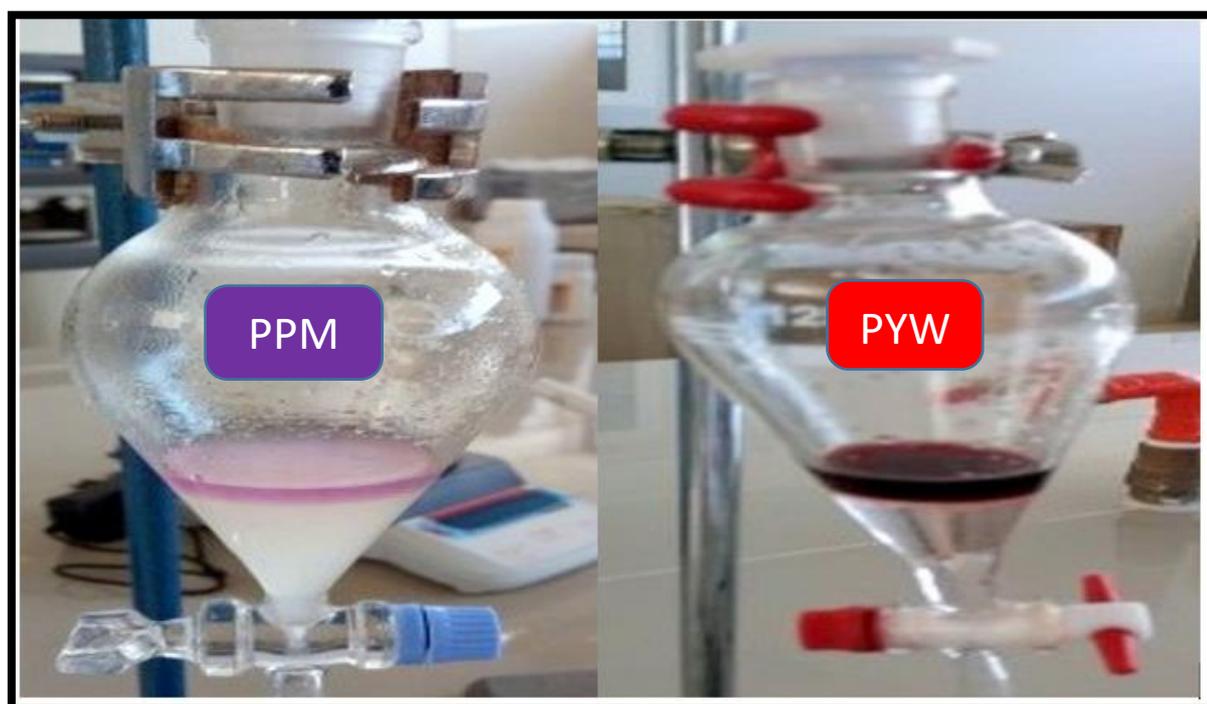


Figura 11 — Distribución acuosa de extractos de papa de pulpa morada (izquierda) y roja (derecha) en acetona y cloroformo

ETAPA II: Identificación de antocianinas por (HPLC)

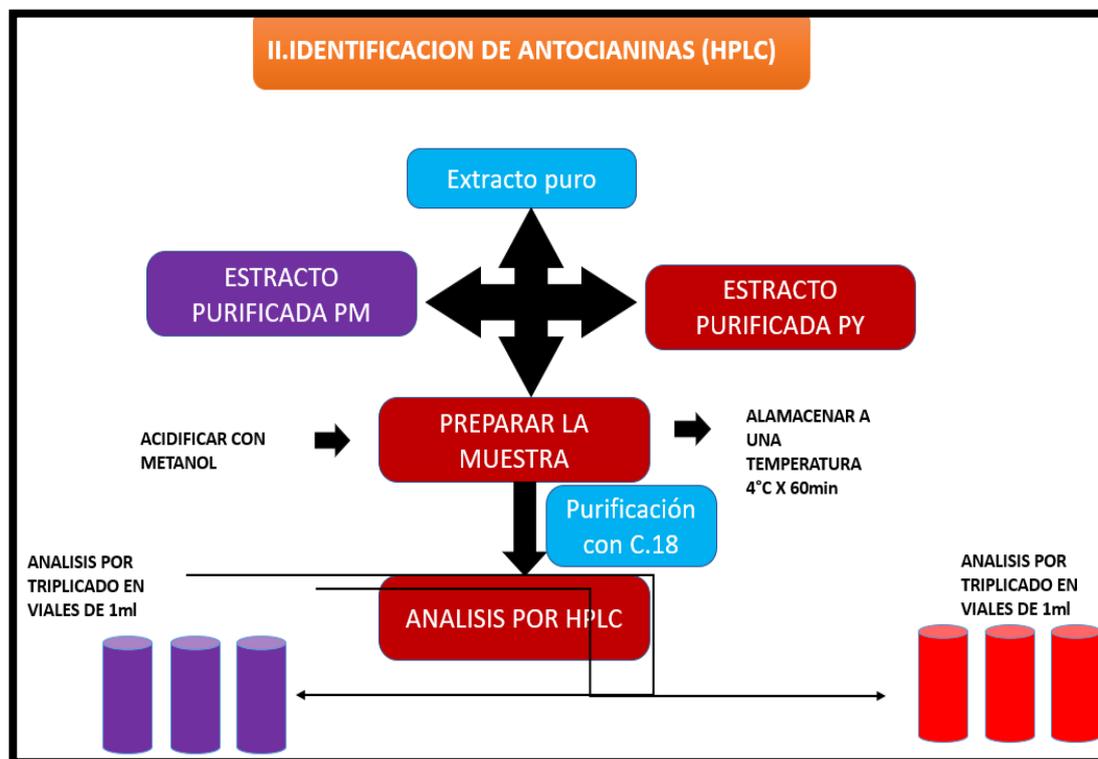


Figura 12 — Esquema de metodología experimental según (Pacheco Llamocca, 2019) de identificación de antocianinas por HPLC

Para la división de cromatográfica se escoge el extracto vegetal que presenta porcentajes de actividades antioxidantes mayores al 25%, preferible en los dos extractos (metanol y diclorometano), pero que también pertenecen al mismo núcleo familiar para que puedan usar una condición similar.

Se usó la metodología propuesta por (Pacheco, 2019) con algunas modificaciones de (Jiménez, 2019) y (Pacheco Llamocca, 2019)..

Procedimiento

A 1 mL del extracto recientemente preparado con metanol acidificado (5 mL), se recolecta en vial de HPLC (1 mL), para que sean analizadas en HPLC. Hasta que se realice la interpretación en HPLC las muestras se almacenan en refrigeradora y en

oscuridad para que se proteja de la luz, ya que la antocianidina es muy inestable y debe de ser analizada de preferencia dentro de los 60 min siguientes a su elaboración.

Caracterización de antocianidinas por HPLC

El HPLC es el procedimiento más frecuente para que se realice el estudio de antocianidina. Las muestras fueron semi purificadas haciendo uso de un cartucho C-18 y las divisiones fenólicas (conteniendo antocianinas) fueron evitadas con metanol acidificado con HCl (1%). Se hizo uso del agua acidificadas con HCl (0,01%) para que se lograra volúmenes conocidos.

La separación de las antocianidinas se llevó a cabo en una columna C-18 eclipse XDB – C-18 (4,6 mm x 150 mm, 5 µm) usando un sistema HPLC Agilent Technologies, equipado con un detector con arreglo de diodos (DAD).

La tensión de su labor es de 200 bar, la dimensión de flujos es de 0.8 mL/min; las fases móviles fueron mezclas de eluyentes A y B constituidos de los siguientes solventes:

Eluyente A: 95% (Acido fórmico 10%) o Mezcla de ácido fórmico: agua (1:9).

Eluyente B: 5% Acetonitrilo (Acetonitrilo grado HPLC)

Se estableció un rango de flujo de 0.8 mL/min para que se obtenga la división apropiada de la antocianidina presente y se monitoreó a 520 nm, con una magnitud de inyección de 1 µL de prueba previamente purificada con cartucho C-18 antes descrito, a una temperatura de la columna de 30°C. Las condiciones del método de análisis de antocianidinas por HPLC se muestran en la tabla 09.

Tabla 9 — Condiciones para el análisis de HPLC

Instrumento	HPLC Agilent Technologies con detector DAD
Columna	Eclips XDB-C18 columna, 4.6 mm x 150mm 5 um
Temperatura de la Columna	30 °C
Presión de Trabajo	200 bar
Volumen de Inyeccion	1 ul
Rango de flujo	0.8 ml/min
Fase movil	Eluyente A: Acido formico: agua (1:9) Eluyente B: Acetonitrilo

Gradiente	0 min; 96% A Y 4 % B; 2min; 96% A y 4% B; 2.01 min; 92% A y 8% B; 3min; 92% A y 8% B; 4.01 min ; 88% A y 12%B; 20 min; 84% A y 16% B; 25min; 84% A y 16% B; 25.01 min ;0% A y 100% B:30min; 96% A y 4% B.
-----------	---

La identificación del pico de la antocianidina fue efectuada en apoyo a las comparaciones de los cromatogramas a 520 nm y periodos de retenimientos del extracto concentrado de antocianidina de la especie (uva y fresa), corridas bajo la misma condicion especificada anteriormente para que asi se pueda obtener un patrón de comparaciones que nos pueda ayudar a que se identifique el pico de los cromatogramas.

Los 5 aglicones según (Halbwirth 2010), (antocianidina) patrones son de la especie *Vitis vinifera* (uva), y fueron: delfinidina, cianidinas, petunidina, peonidina y malvidinas por lo tanto que las antocianidinas presentes en *Fragaria vesca* (fresa) son las pelargonidinas que no son encontradas presentes en *Vitis vinifera* (uva) y los cromatogramas se presentan en las Figuras 18 y 20, al igual que los espectros de las antocianidinas a 520 nm.



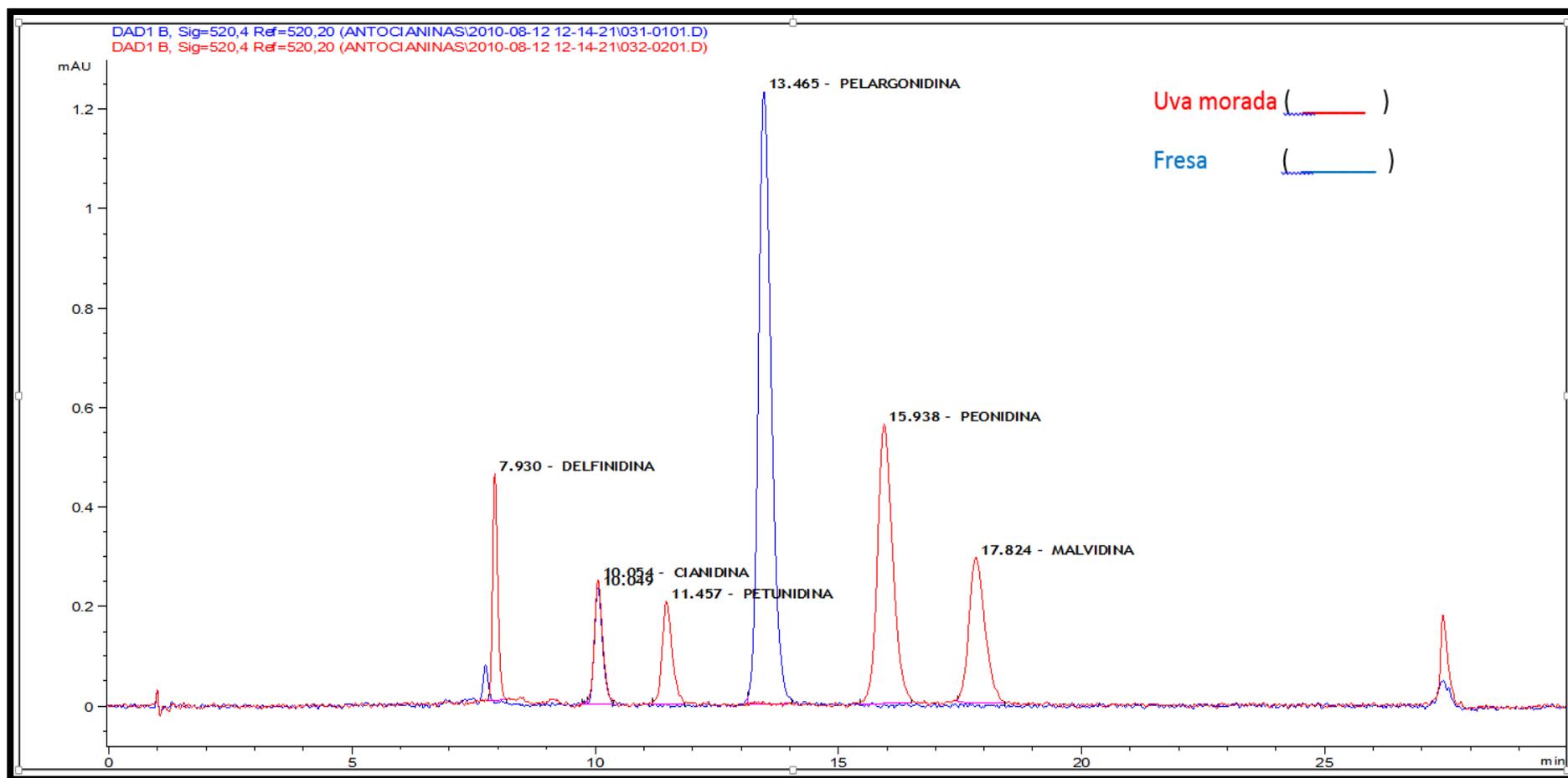


Figura 13 — Cromatogramas de HPLC de antocianidinas en uva morada y fresa usados como patrón o estándar.

Nota: Material proporcionado por el laboratorio de cromatografía (UNSAAC) del análisis de antocianidinas de la uva y fresa.

ETAPA III: Espectrometría FTIR-ATR

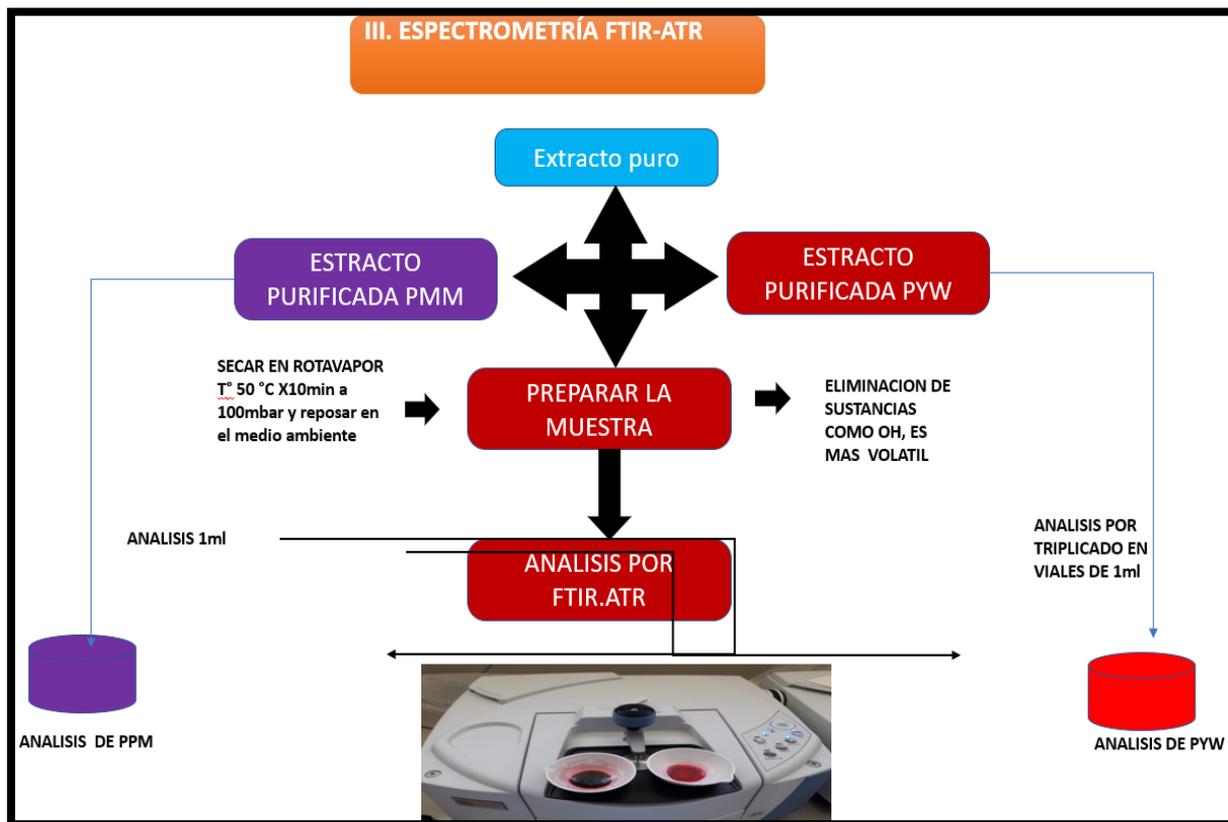


Figura 14 — Esquema de metodología experimental según (Tellez Mesa, 2019) de FTIR-ATR

El espectro se realiza en intervalos de 4000 a 600 cm^{-1} y en unidad de transmisión, en los Espectrómetros FTIR – ATR Nicolet™ iS-10. El proceso del espectro es realizado por medio del Software OMNI. La muestra se midió usando los aditamentos de ATR (Tellez Mesa, 2019).



ETAPA IV: Contenido de antocianinas totales (CAT)

Para cuantificar el contenido de antocianinas monoméricas totales se emplea el procedimiento de pH diferente (Çayan et al. 2020).

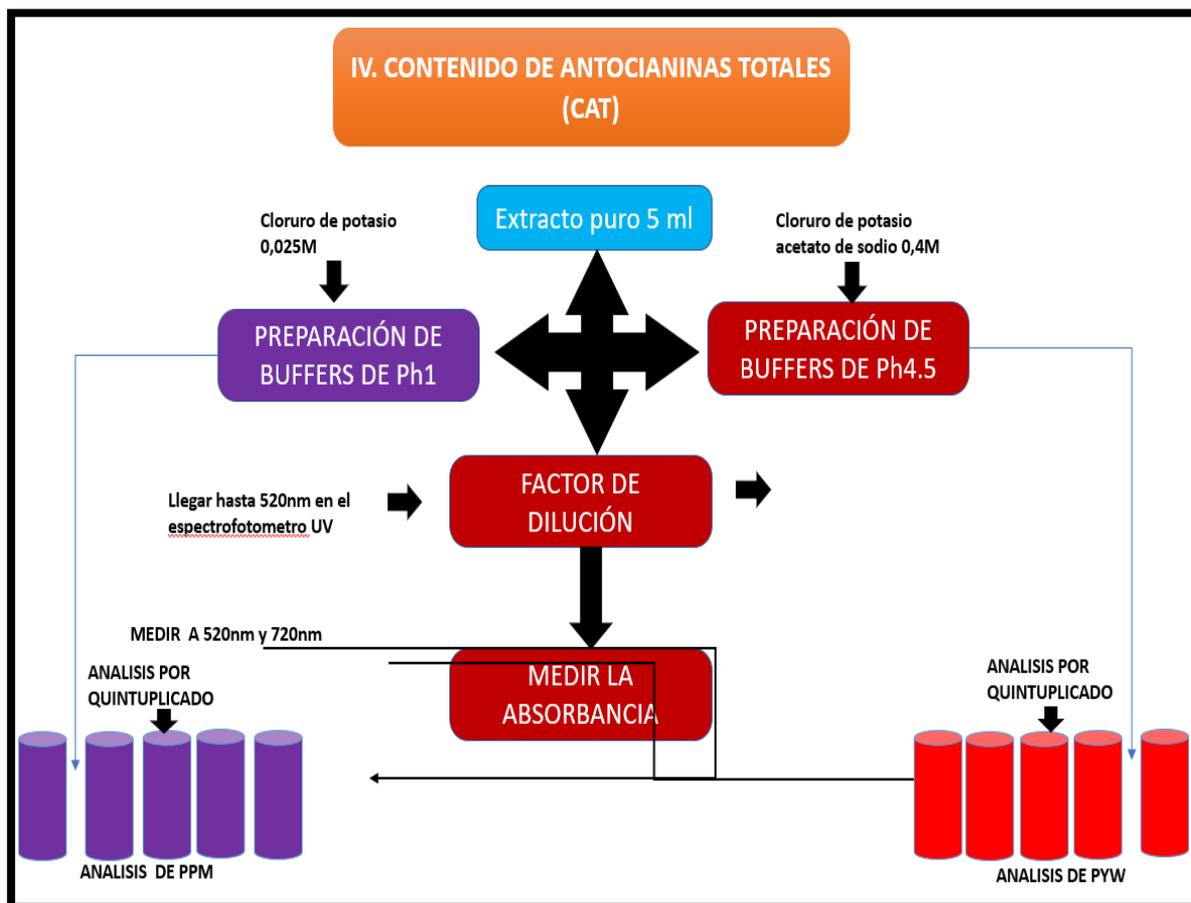


Figura 15 — Esquema de metodología experimental de contenido de antocianinas totales (CAT), según (Tellez Mesa, 2019)

Fundamento

La muestra es tratada con buffers de cloruro de potasio y acetato de sodio, de pH1 y pH4.5 de manera respectiva, en esta condición, la antocianina sufre una transformación estructural que se manifiesta por las diferencias en el espectro de absorbancia, la cual es medida a través de espectrofotometrías UV-Visible.

Preparación del buffer pH =1 (Cloruro de potasio 0,025 M)



Se pesó 1.86 g de cloruro de potasio (KCl), seguidamente se agregará agua destilada a los 980 ml. Medir el pH para ser ajustado a 1.0, con HCl concentrados (toma alrededor de 6.3 ml). Se transferirán a unas probetas de 1 l y se enrasan con agua destilada.

Preparación del buffer pH=4,5 (Acetato de sodio 0,4 M)

Para el buffer de pH 4,5 se diluye 54,43 g de acetato de sodio ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$) en 960ml de agua destilada y se le agrega una solución de ácido clorhídrico concentrado, hasta que se llegue a pH 4,5.

Método de Giusti y Wrolstad (2001)

- ✓ Se pesa (5 g) de la muestra en estado óptimo.
- ✓ Se utiliza solvente extractor (acetona)
- ✓ Se filtra al vacío con papel filtro watman (se agregó solvente para el arrastre completo)
- ✓ Se purifica en rotavapor hasta obtener antocianina purificada
- ✓ Se determina los factores de diluciones apropiados a través de las diluciones con el buffer de KCl pH = 1,0 hasta que la absorción de toda la muestra a 520 nm (máxima longitud de onda), sea menor a 1,0 y de preferencia entre los rangos de 0,4 y 0,6 A. Se dividirá el último volumen de las muestras entre los volúmenes iniciales para que se obtenga el FD (Factor de dilución).
- ✓ Se utilizan 2 sistemas tampón: cloruro de potasio de pH 1,0 (0,025 M) y acetato sódico de pH 4,5 (0,4 M). Según el FD calculando con el buffer de cloruro de potasio.
- ✓ Se deja igual la solución a lo largo de 15 minutos.
- ✓ Se mide la asimilación de toda muestra a 520 y 700 nm, en un espectrofotómetro, se usa como blanco agua destilada

Cálculos

Se utiliza la siguiente ecuación para que se determine la absorbancia de todas las muestras, a la diferente longitud de onda y en la diferente solución buffer (Çayan et al. 2020).



$$A = (A_{\lambda_{vis-max}} - A_{700})_{pH1.0} - (A_{\lambda_{vis-max}} - A_{700})_{pH4.5}$$

Para que sea calculado el pigmento antocianico monomérico, se emplea la ecuación Ec. (01)

$$PAM \left(\frac{mg}{l} \right) = \frac{A.MW.DF.1000}{E.1} \dots\dots\dots \text{Ec. (01)}$$

Donde:

- A= Absorbancia
- MW= Peso molecular de la antocianina predominante en estos frutos, que es la cianidin-3-glucosido y cuyo peso molecular es 449.2 g/mol
- DF= Factor de dilusion
- E= Coeficiente de absortividad molar de la cianidin -3-glucosido 26900

ETAPA V: Cuantificación y determinación de polifenoles totales (PFT)

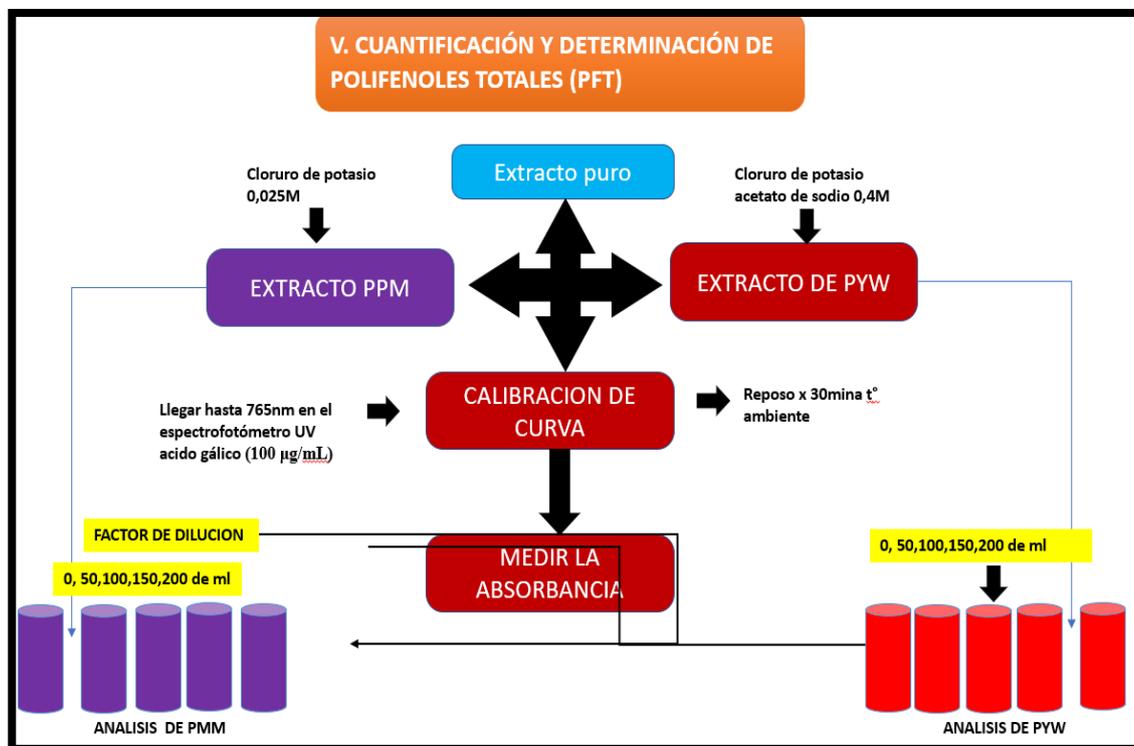


Figura 16 — Esquema de metodología experimental de contenido de polifenoles totales (PFT).

La concentración del fenol total en extractos fue medida por espectrofotometría, siendo basadas en reacciones colorimétricas de óxido-reducción. Los agentes oxidantes utilizados fueron los reactivos de FolinCiocalteu, escrito por (Zapata, 2018).

La cuantificación de polifenoles totales se llevó a cabo en los extractos anteriormente explicados, aplicando el método (Zapata, 2018) el cual está basado en la oxidación del compuesto fenólico con el reactivo Folin - Ciocalteu, lo cual ocasiona un color azul calculable a 750 nm, la cual es directa proporcional a los contenidos de polifenol.

Preparación de la curva de calibración

Se usaron soluciones estándar de ácido gálico (100 µg/mL) de lo cual se toma un volumen de 0; 50; 100; 150 y 200 µL y se cumplió los volúmenes de todos a 2000 µL con solución de Na₂CO₃, reactivo Folin (1N) (Tabla 10). Posteriormente se determinó la curva de calibración estándar del ácido gálico, a 765 nm, en un espectrofotómetro luego de 30 min de reposo, en oscuras al aire libre, efectuando con estos datos la curva de calibración.

Tabla 10 — Datos para la obtención de la curva de calibración de fenoles totales

N° tubo	Solución de ácido gálico (uL)	Agua destilada (uL)	Reactivo Folin (uL)	Solución Na ₂ CO ₃ (uL)
Blanco	0	1700	100	200
1	50	1650	100	200
2	100	1600	100	200
3	150	1550	100	200
4	200	1500	100	200

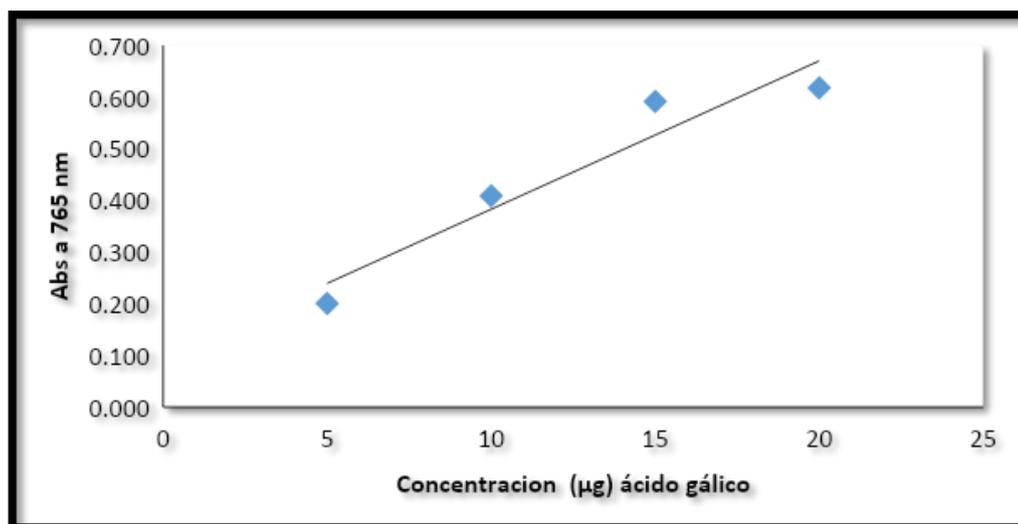


Figura 17 — Curva de calibración de ácido gálico para la determinación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu.

Procedimiento

Del extracto de la muestra de papas nativas pigmentadas se procede como en la Tabla 10 aplicando en este caso 100 µL de extracto, obteniéndose de esta manera los factores de dilución. Este procedimiento se efectuó por triplicado para cada muestra. Obteniéndose la absorbancia a 765 nm.

El resultado fue expresado en (mg ácido gálico/100g de muestra fresca) con la ecuación 2:

$$PFT \left(\frac{\text{mg ácido gálico}}{\text{litro}} \right) = \left[\frac{\text{Abs.muestra} - A}{B} \right] * FD = FT1 \quad \dots \text{Ec. (02)}$$

Donde:

- PFT : Polifenoles totales
Abs muestra : Absorbancia de la muestra
 A : Intercepto
 B : Pendiente
 FD : Factor de dilución

ETAPA VI: Determinación por el método ABTS

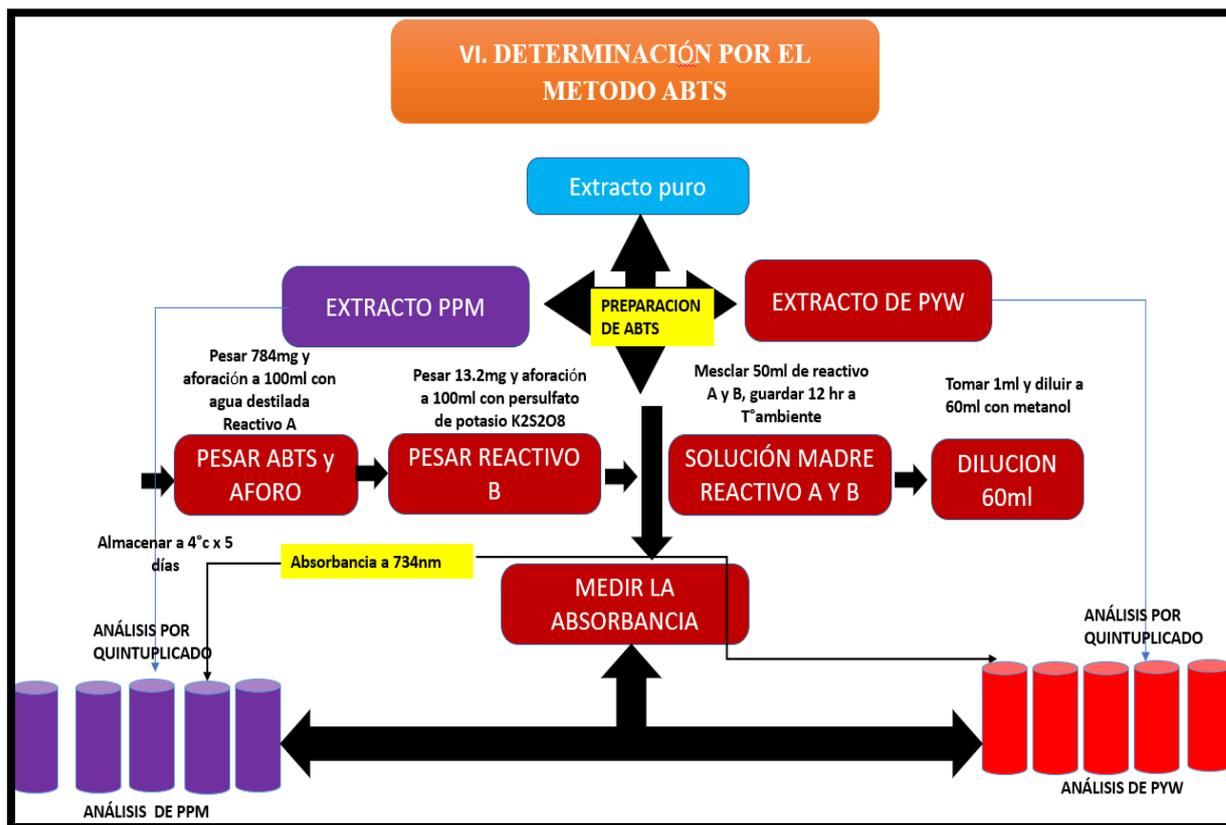


Figura 18 — Esquema de metodología experimental del ABTS, según (Rioja Antezana et al. 2018), con algunas modificaciones de autoría propia.

Determinación de la capacidad antioxidante TEAC – ABTS por el ensayo de decoloración de radical catiónico del reactivo 2,2'- azinobis – (ácido 3 – etilbenzotiazolina – 6- sulfónico) ABTS.

El ensayo de las decoloraciones con el radical catiónico $ABTS^{•+}$ se usó para que se establezca la posibilidad de los antioxidantes del extracto de las papas nativas pigmentadas frescas y procesadas, usando el método propuesto por (Rioja Antezana et al. 2018) con algunas modificaciones.

Preparación de la solución ABTS* radical

- Se pesó 784 mg de ABTS y se aforó a 100 mL con agua destilada (Reactivo A).

- Se pesó 13.2 mg de persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$), se disolvió y aforó a 100 mL con agua destilada (Reactivo B).
- Ambas soluciones se guardaron en frasco ámbar para defender de la luz, a 4°C, por 5 días como máximo para su uso.
- Se prepara la disolución madre de ABTS* radical, para lo cual se mezcló 50 mL de reactivo A más 50 mL de reactivo B, es decir en proporción (1:1) en frasco ámbar y se guardó esta solución por 12 h, a temperatura ambiente y en oscuras, que se tornó color azul verdoso.
- De la solución madre de ABTS* radical se tomó 1 mL y se diluyó a 60 mL con metanol y leyó la absorbancia de esta solución a 734 nm, en un espectrofotómetro, debiendo dar una absorbancia de 1.10 +/- 0.02.
- Se guardó esta solución de ABTS* diluido en frasco ámbar, para usar como máximo hasta en dos días.

Solución de Trolox y construcción de la curva patrón

- Se preparó de 5000 μ M de concentración de trolox.
- De esta solución madre se midieron volúmenes (Tabla 11).

Tabla 11 — Concentraciones de trolox para elaborar la curva de calibración

Tubo	Trolox V (μ L)	Agua V (μ L)	Conc Trolox μ M (μ mol/L)	Conc Trolox μ M (mmol/L)
1	0	2000	0	0
2	40	1960	100	0.1
3	80	1920	200	0.2
4	160	1840	400	0.4
5	200	1800	500	0.5

- Se colocaron los volúmenes respectivos en tubos recubiertos por completo con papel aluminio, para que se proteja de la reacción de la luz que consigue destituir los compuestos antioxidantes. Se midió 950 μ L de ABTS* diluido (Tabla 11) para toda dilución de la curva patrón y/o de las muestras, según sea el caso, y se midieron sus absorbancias en un espectrofotómetro a 734 nm ($t = 0$ min), de esta manera se determinó la absorbancia inicial.



- A los tubos anteriores se agregó 50 μL de cada una de las soluciones de la curva patrón de trolox o de la muestra según sea el caso para aforar a 1000 μL a las soluciones de ABTS* diluidas anteriormente, se agitó y se guardó por 10 min en oscuridad. Después se lee su absorbancia a 734 nm, de esta manera se determinaron las absorbancias finales ($t = 10$ min).
- Se calculó las diferencias de absorbancias del ABTS* al tiempo cero y 10 minutos luego de la suma de las soluciones del trolox a las diferentes concentraciones (Tabla 12).

Tabla 12 — Volúmenes y concentraciones de Trolox y ABTS* diluido.

Tubo	Conc Trolox μM (mmol/L)	V de Trolox (μL)	V de ABTS* Dil. (μL)	Dif. Abs. ABTS* (734 nm)
1	0	50	950	0.0
2	0.1	50	950	0.16
3	0.2	50	950	0.217
4	0.4	50	950	0.453
5	0.5	50	950	0.535

- Se construyó la curva patrón de trolox con concentración (mmol/L) de Trolox Vs diferencia de absorbancias de ABTS*.

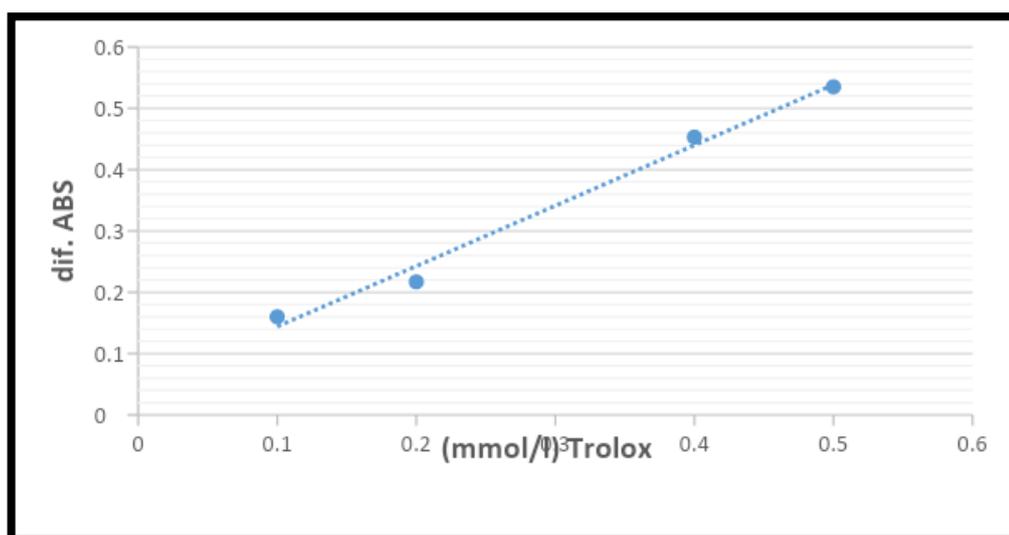


Figura 19 — Curva patrón de Trolox.

4.5 Técnicas e instrumentos

El desarrollo de esta investigación está dividido en etapas para facilitar el estudio, recolección y el reporte de los resultados, los ensayos y análisis se realizarán por triplicado con la finalidad de garantizar la calidad del trabajo, es así que de acuerdo a los objetivos e hipótesis se realizó los procedimientos en diagramas de flujo, análisis de polifenoles totales, cantidad de antocianinas totales, infra rojo, HPLC-DAD.

4.6 Análisis estadístico

a) Estadístico

Los resultados obtenidos fueron procesados mediante el programa INFOSTAT Versión 2013 (Barragan, 2018), mediante cuadro de análisis de varianza simple comparando los valores mediante el test de DUNCAN con una significancia de $P < 0.05$.

Se evalúan los valores obtenidos en cada uno de los tratamientos y pre tratamientos, para determinar la correlación entre métodos de análisis, CAT, PFT, FTIR, ABTS y HPLC.

b) Nivel de significancia

El nivel de aprobación de falla muestra uno que logre ser admitido en el estudio y en cada una de la etapa del ensayo, en esta situación las evaluaciones se darán a un nivel de $\alpha = 5\%$ ($\alpha = 0.05$).



CAPÍTULO V

RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1 Análisis de resultados

5.1.1. Caracterización de antocianinas

5.1.1.1. Espectro UV-Vis de antocianinas

Para adquirir el perfil UV-Vis de antocianina presente en ambas muestras, se limpió el producto final que se tuvo de la muestra en si con el solvente metanol acidificado en cartucho C-18 descrito anteriormente. Posteriormente la lectura fue a partir de 190 a 1100 nm de longitud de onda, al mismo tiempo con los resultados de forma una rapida de rastreo de 4200 nm por minuto, velocidad de rotación de 11000 nm/min en una cubeta de cuarzos de 10 mm de espesor, usando como blanco metanol se obtuvo lacurva.

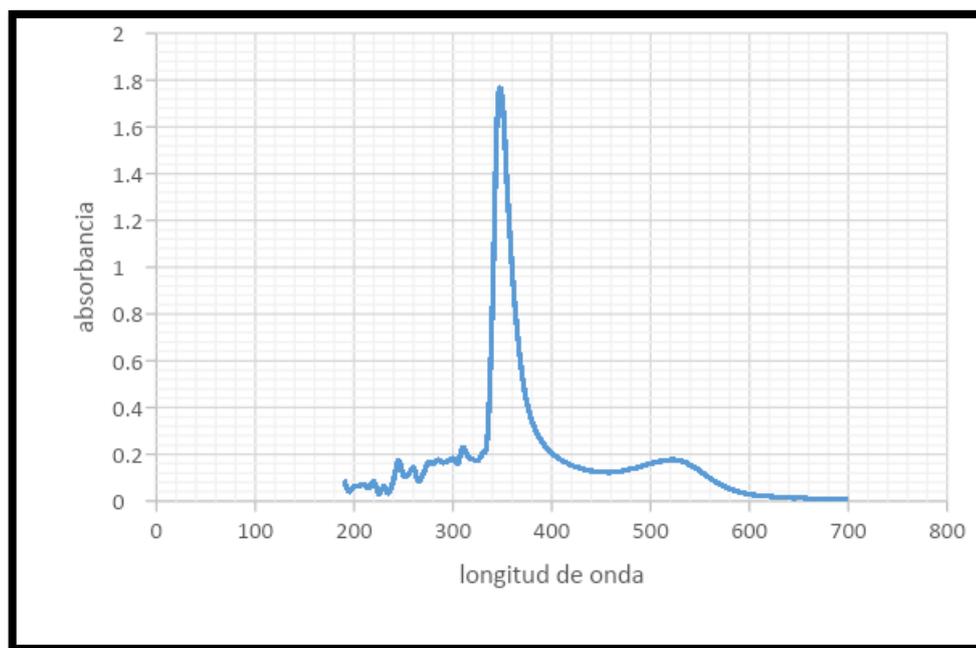


Figura 20 — Espectro UV-Visible de antocianina en papa nativa variedad puma maki pigmentada

La Figura 21 indica que el espectro UV-Vis de antocianina en papa nativa pigmentada yawar wayku presenta la absorbancia de 500- 720 nm con una absorbancia bien

pronunciada con más de 1 Abs en su pico más elevado, muestra mayor pronunciamiento como se puede observar en la Figura 21, a diferencia de la Figura 20 del espectro UV-Vis de antocianina en papa nativa pigmentada puma maki. Estos valores indican que si pertenecen al tipo de antocianina evaluada en la variedad de papa nativa.

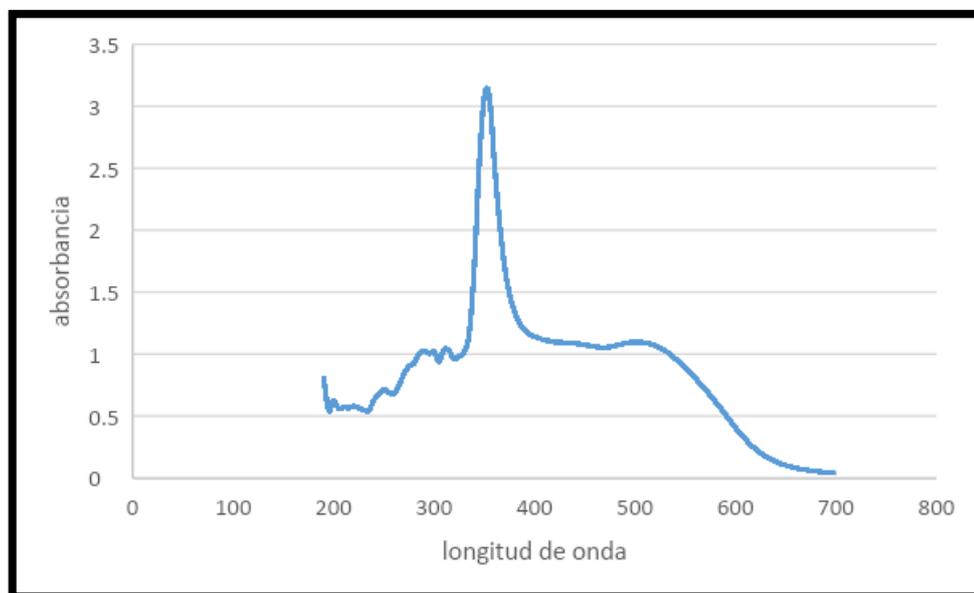


Figura 21 — Espectro UV-Visible de antocianina en papa nativa variedad yawar wayku pigmentada

5.1.2 De la identificación de antocianinas en dos variedades de papas nativas pigmentadas mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Identificación de antocianinas en dos variedades de papas nativas pigmentadas por HPLC

Esta identificación se efectuó por comparación de los picos que aparecen en cada una de los Cromatogramas de ambas papas nativas pigmentadas en relación con el espectro UV- Vis de la antocianina estándar que se obtienen desde el fruto de uvas moradas y fresas material proporcionado por el Laboratorio de Cromatografía (UNSAAC) del análisis de antocianinas de la uva y fresa (Ver Figuras 22 y 24).

A su vez estos valores presentados en mAU de 35 y un tiempo de recorrido (9 - 10 min), estos corresponden a los picos más prolongados y representativos. Por lo tanto, los picos presentados en la Figura 22, son por la pigmentación de la

variedad de papa nativa puma maki (PPM). Una vez relacionados cada uno del pico de los cromatogramas HPLC de la papa nativa pigmentada de pulpa morada mostrada en la Figura 23, se reconoce que el espectro UV-Vis antes citado se corresponde al estándar Petunidina que fueron retenidas en un periodo de (12.113 min.), y estos valores ya mencionados también corresponden a sus trabajos de investigación citado según (Çayan et al. 2020).

La Figura 24, muestra que la papa nativa pigmentada de variedad yawar wayku (PYW), presenta el cromatograma con los picos pronunciados y esto corresponde a mAU que corresponde 38.2; mostrada en la Figura 25. De la misma manera se realizó la comparación de los espectros UV-Vis, fue posible con el estándar de pelargonidina 9.945 min Figura 20, donde claramente se observa que si corresponde al tipo de antocinina (pelargonidina).



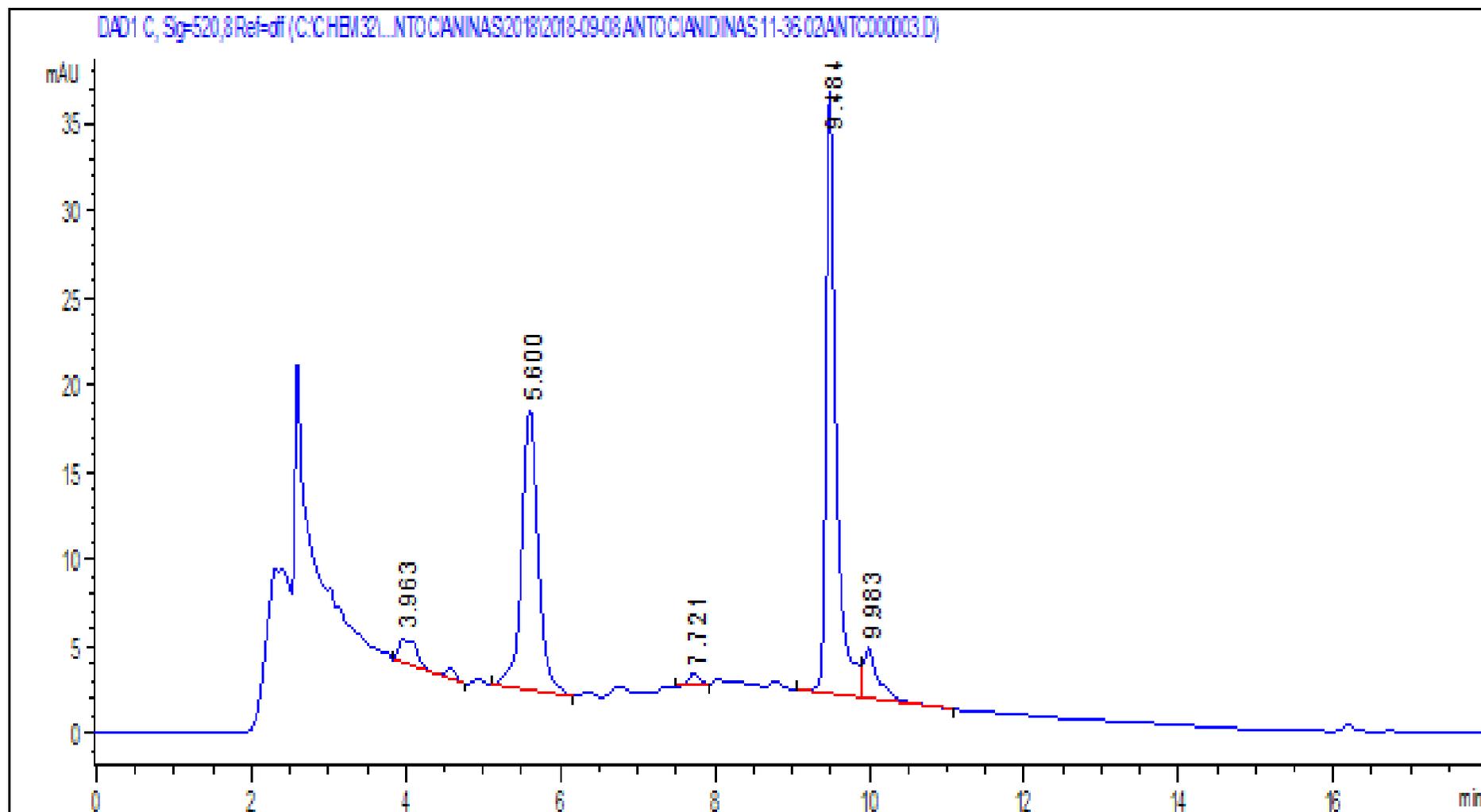


Figura 22 — Cromatograma de extracto de variedad de papa nativa pigmentada morada puma maki (PPM) fresca.

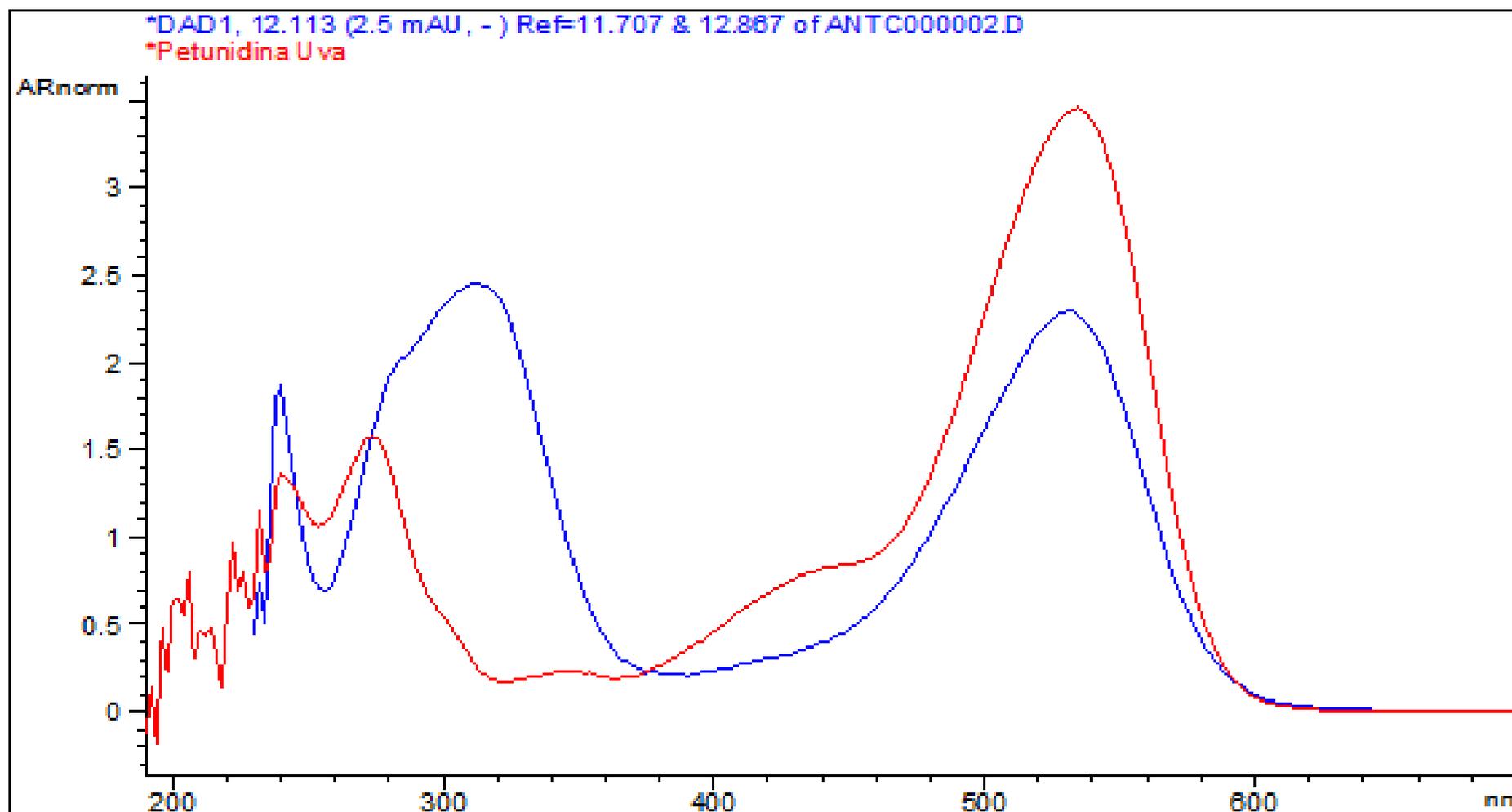


Figura 23 — Resultados de espectros UV – Vis de antocianina del Cromatograma HPLC de variedad de papa nativa pigmentada puma maki (PPM) siendo los Espectros de muestras (color azul) y de los estándares (color rojo).

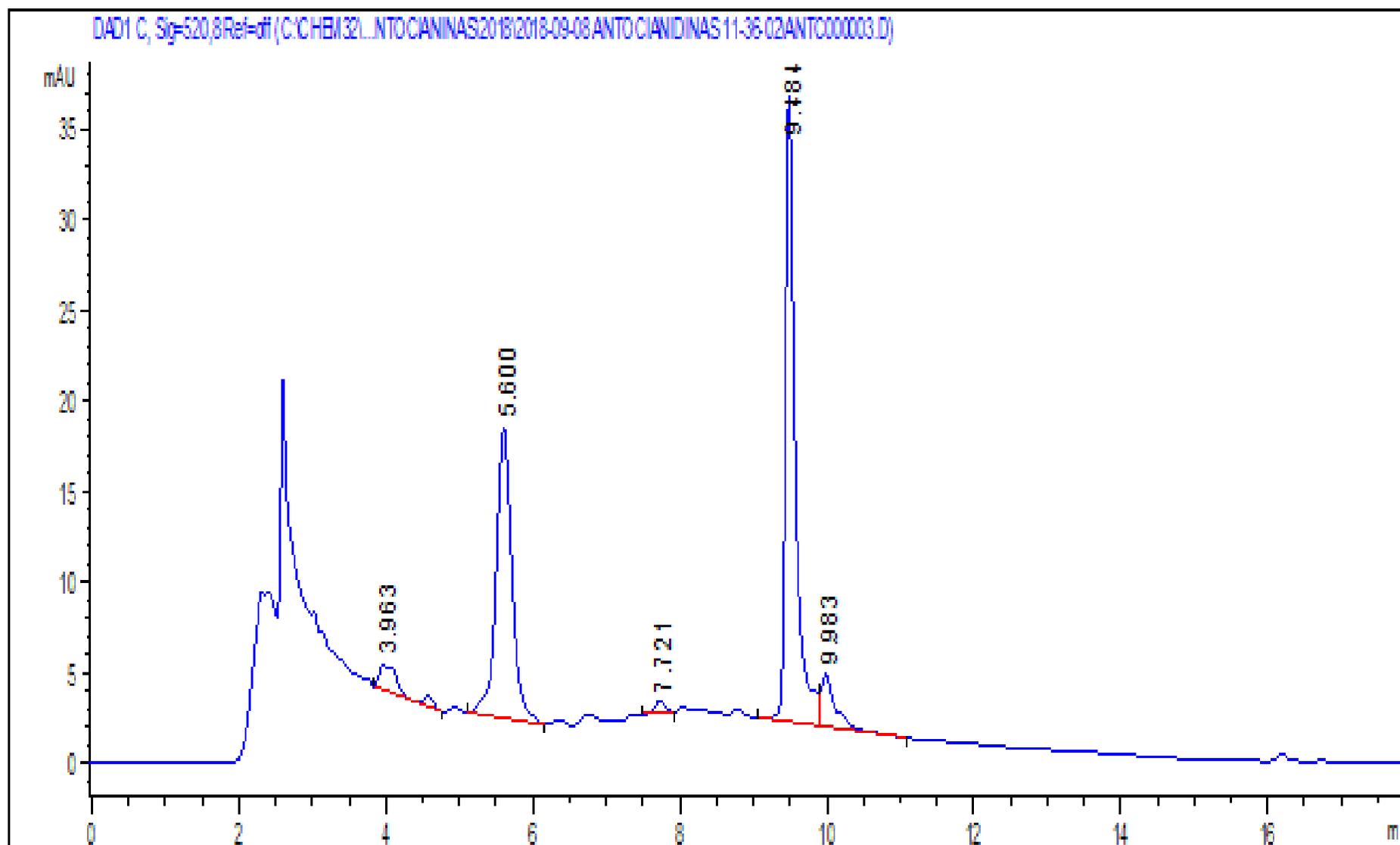


Figura 24 — Cromatograma de extracto de variedad de papa nativa pigmentada yawar wayku (PYW) fresca.

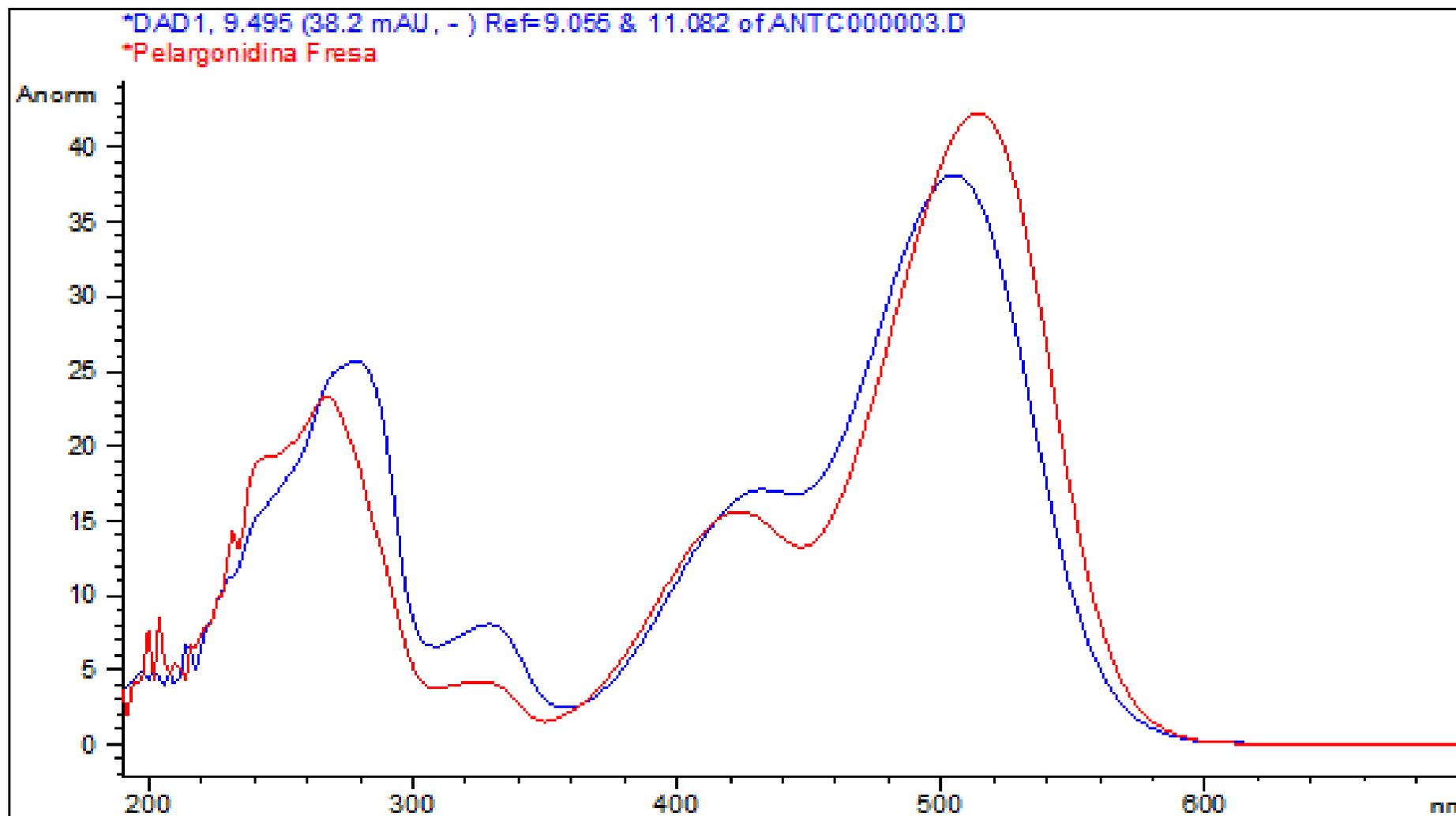


Figura 25 — Reporte de resultados de espectros UV – Vis de antocianidinas del cromatograma HPLC de variedad de papa nativa pigmentada yamar wayku (PYW) siendo el espectro de muestra (color azul) y del estándar (color rojo)

5.1.3 Espectro FTIR – ATR de antocianinas

En la Figura 26 y 27 se muestran los espectros adquiridos en los espectrofotómetros infrarrojos. En los dos espectros se logran apreciar una banda que pertenece al equipo O-H del ácido carboxílico (3500-2500 cm^{-1}), así como la efectividad de la unión C=O (1720-1700 cm^{-1}). La ATR (Reflectancias totales atenuadas) de los espectrómetros Infrarrojos de Transformada de Fourier FTIR Nicolet iS10, mostrado en el área de los infrarrojos medios de 400 a 4000 cm^{-1} en la Figura 26 corresponde a las bandas más prolongadas de casi alrededor de (3350 cm^{-1}), corresponden a la variedad de papa nativa yawar wayku (PYW). De la misma manera en la Figura 27 indica una banda prolongada alrededor de (3260 cm^{-1}), esto corresponde a la variedad de papa nativa puma maki (PPM). Por lo tanto, indican que las variedades de papa nativa yawar wayku (PYW) y puma maki (PPM) presentan antocianinas.

Identificación de FTIR de las antocianinas de las papas nativas pigmentadas

Se muestran a continuación las siguientes figuras:

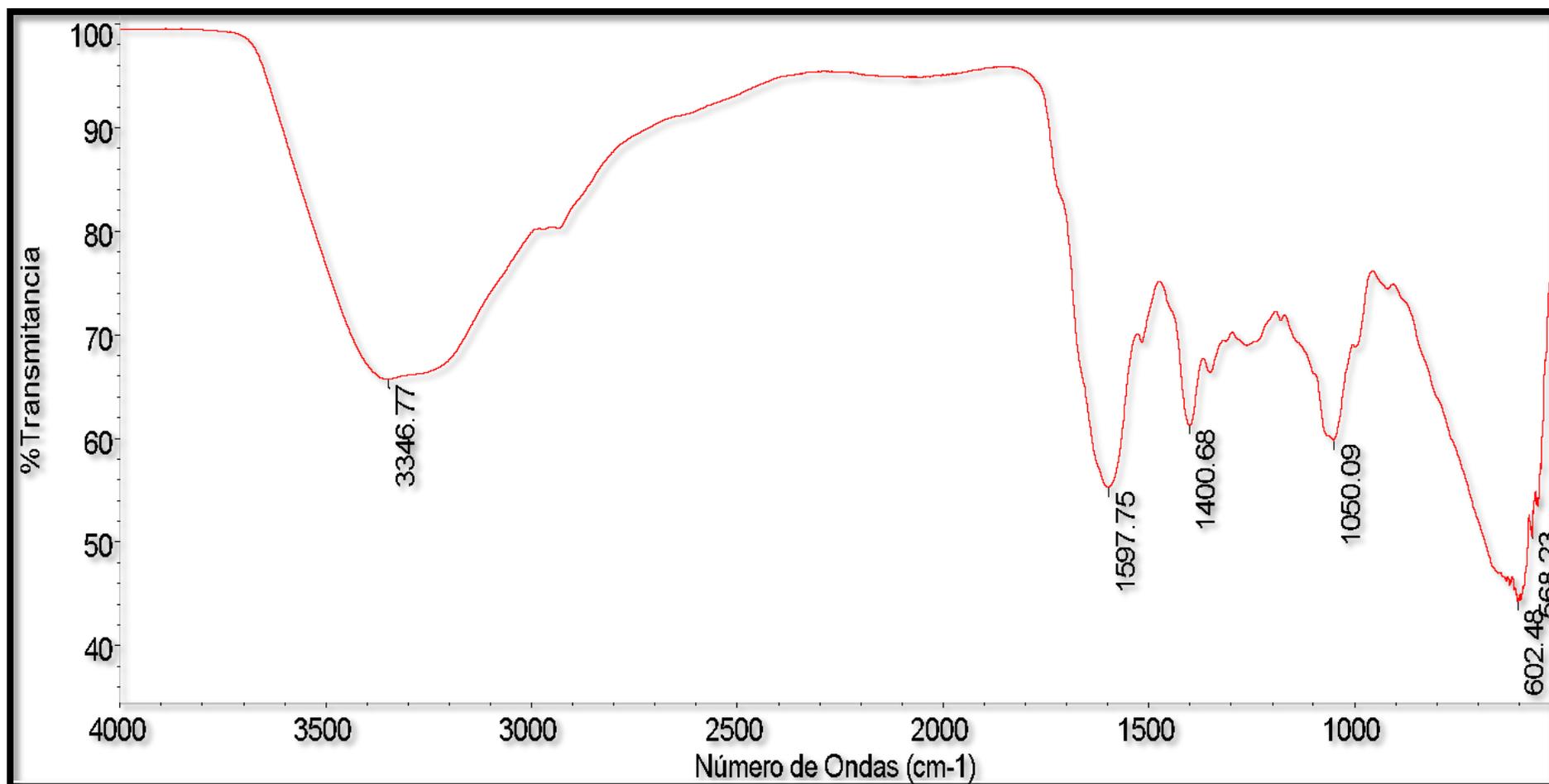


Figura 26 — Espectro FTIR de antocianina en la variedad de papa nativa Yawar wayku (PYW)

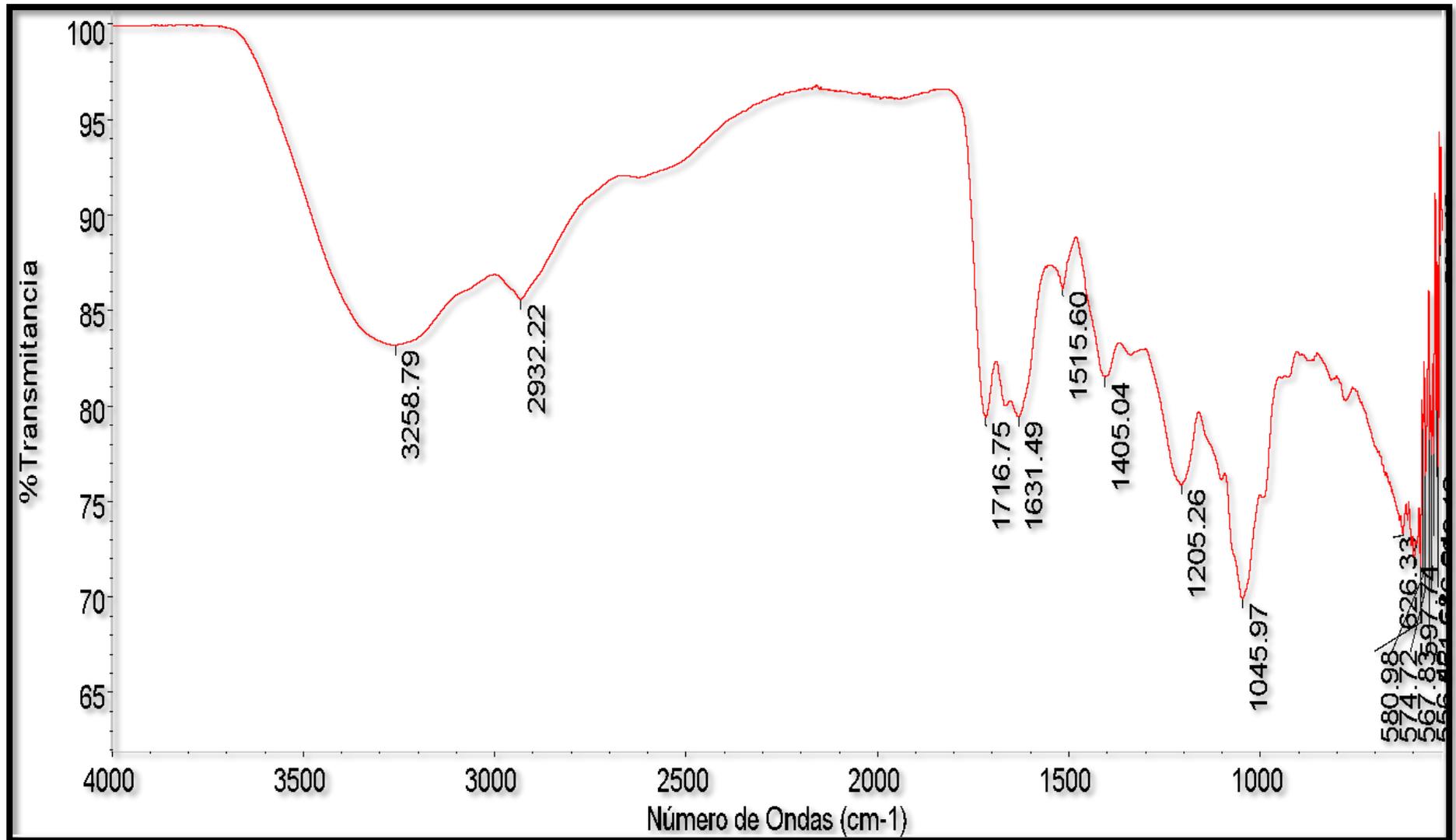


Figura 27 — Espectro FTIR de antocianina en la variedad de papa nativa Puma maki (PPM)

5.1.4 Determinación de Cantidad de Antocianinas Totales-CAT

En la Tabla 13 se puede observar que las diferencias más notorias en la caracterización son la concentración de antocianinas totales donde la variedad de papa nativa Yawar wayku (PYW) contiene aproximadamente 87 (mg cianídica 3 glucosido/100 g) a diferencia de la variedad de papa nativa puma maki (PPM) en un 13 (mg cianídica 3 glucosido/100 g) que está ligada estrechamente con la pigmentación de las papas.

Esta diferencia presente en las dos variedades se debe a la condición ambiental en la que la papa fue cultivada y almacenada, por lo que todos los ambientes que rodean su aumento y progreso influyen en su elaboración.

Se presenta el resultado del ensayo de Duncan para el nivel de importancia ($p < 0.05$). La importancia del contraste varía con los niveles de trascendencia tal como se muestra en la Figura 28, la papa nativa Yawar wayku (PYW) contiene aproximadamente 87 (mg cianídica 3 glucosido/100 g) a diferencia del puma maki (PPM) en un 13 (mg cianídica 3 glucosido/100 g), de igual manera se ve el error estándar (EE) es alrededor de 5 para ambas muestras.

Tabla 13 — Contenido de Antocianinas Totales (CAT) en papa nativas pigmentadas congeladas y procesadas

Muestra de papas nativas	CAT (mg cianídica 3 glucosido/100 g)
Yawar wayku (PYW)	86.4946 \pm 12.35
Puma Maki (PPM)	13.2088 \pm 2.33

Nota: Datos expresados en media \pm SD, n=3, $p < 0.05$

Tabla 14 — Análisis de varianza y test Duncan en papas nativas pigmentadas congeladas y procesadas

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
CAT (mg cianidina 3 glucosido/L)	6	0.96	0.95	17.83

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	8056.22	1	8056.22	102.01	0.0005
MUESTRA	8056.22	1	8056.22	102.01	0.0005
Error	315.90	4	78.98		
Total	8372.13	5			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 78.9762 gl: 4

MUESTRA	Medias	n	E.E.
PAPA PUMA MAKI	13.21	3	5.13 A
PAPA YAWAR WAYKU	86.49	3	5.13 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

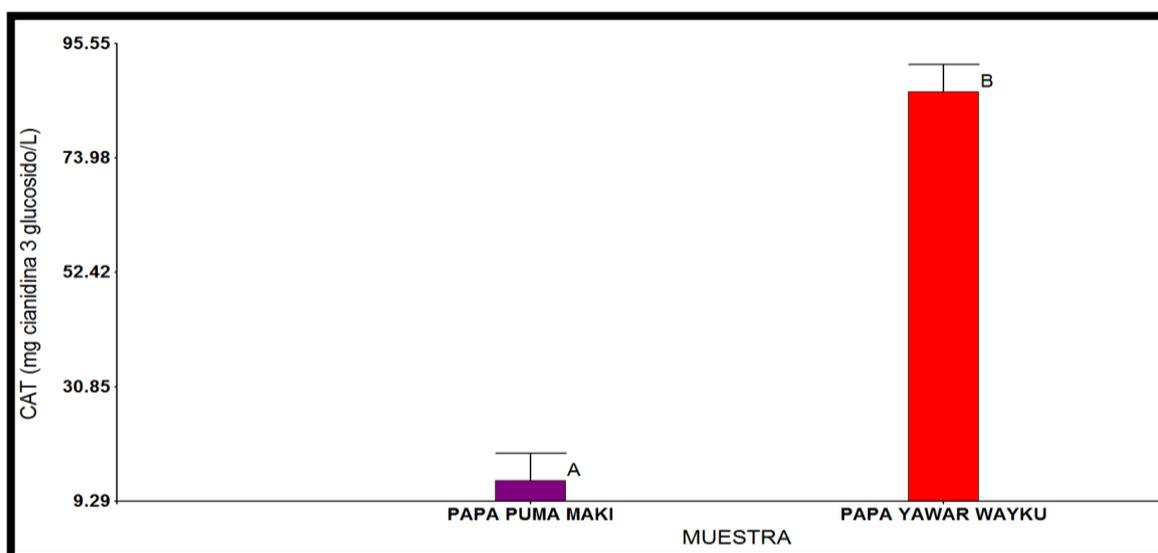


Figura 28 — Contenido de antocianinas totales (CAT) en papas nativas pigmentadas congeladas y procesadas

5.1.5 Determinación y cuantificación de polifenoles totales (PFT)

Se puede observar que las diferencias más notorias en el análisis de polifenoles totales donde Yawar wayku (PYW1) contiene aproximadamente en promedio de 333 (mg ácido Gálico/100g) a diferencia del puma maki (PPM1) en un 50 (mg ácido Gálico/100g), que está ligada estrechamente con la pigmentación de las papas, ver Tabla 15.



Se presenta el resultado del ensayo de Duncan para el nivel de importancia ($p < 0.05$). La importancia del contraste varía con los niveles de importancia tal como se muestra en la Figura 29, la papa nativa Yawar wayku (PYW) contiene aproximadamente 563 mg ácido Galico/100g a diferencia del puma maki (PPM) alrededor de 41 mg ácido Galico/100g, de igual manera se ve el error estándar (EE) es igual a 198.23 para ambas muestras.

Tabla 15 — Contenido de polifenoles totales (PFT) en papas nativas pigmentadas congeladas y procesadas

Muestra de papas nativas	PFT (mg ácido Gálico/100g)
Papa yawar wayku (PYW1)	333.33+/-485.50
Papa yawar wayku (PYW2)	233.46
Papa yawar wayku (PYW3)	1119.85
Papa puma maki (PPM1)	50.2950.29+/-8.36
Papa puma maki (PPM2)	35.81
Papa puma maki (PPM3)	35.81

Nota: se trabajaron con dos muestras y tres repeticiones por muestra

Tabla 16 — Análisis de varianza y test Duncan en papas nativas pigmentadas congeladas y procesadas

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
PFT (mg ac. Galico/100g)	6	0.46	0.33	113.91

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	408063.33	1	408063.33	3.46	0.1363
MUESTRA	408063.33	1	408063.33	3.46	0.1363
Error	471564.77	4	117891.19		
Total	879628.10	5			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 117891.1917 gl: 4

MUESTRA	Medias n	E.E.
PAPA PUMA MAKI	40.64 3	198.23 A
PAPA YAWAR WAYKU	562.21 3	198.23 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)



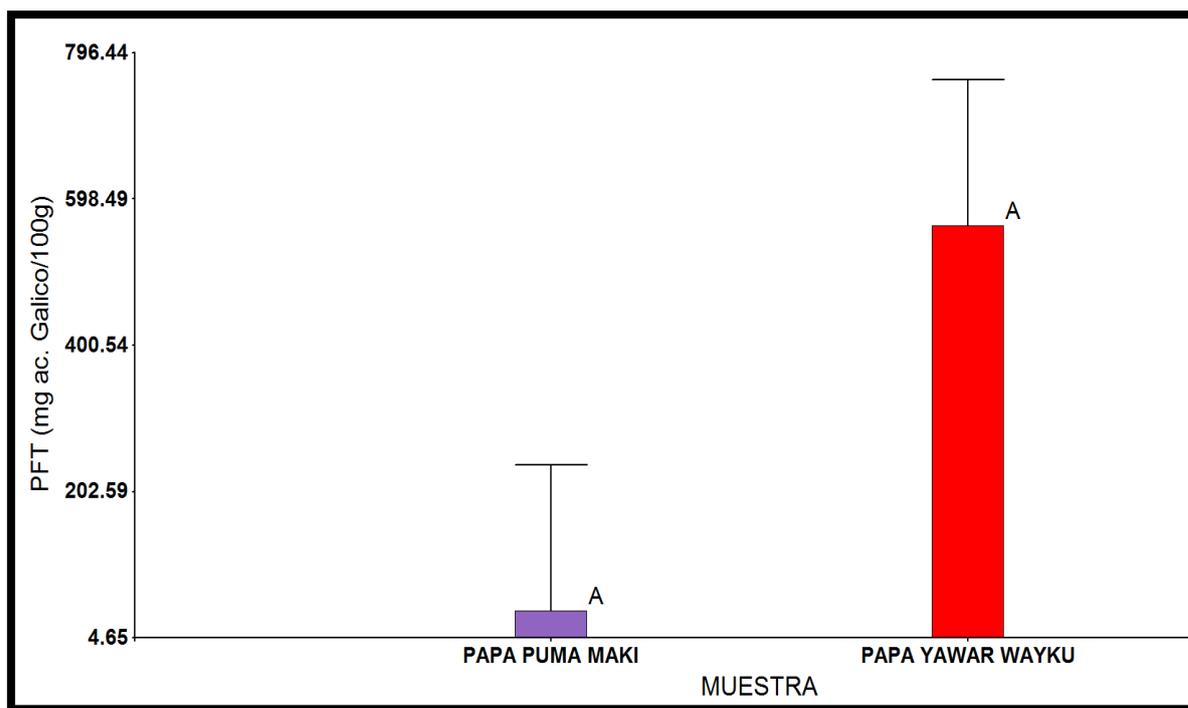


Figura 29 — Contenido de polifenoles totales (PFT) en papas nativas pigmentadas congeladas y procesadas

5.1.6 Determinación de la actividad antioxidante por el método de ABTS.

En la Tabla 17, actividades antioxidantes promedio, se puede observar que las diferencias más notorias en el análisis de variedad papa nativa Yawar wayku (PYW) contiene aproximadamente un promedio de 1012 (ug/0.5mL) a diferencia de variedad papa nativa puma maki (PPM) alrededor de 395 (ug/0.5mL).

Se presenta el resultado del ensayo de Duncan para los niveles de importancia ($p < 0.05$), al aplicar este modelo se puede concluir que es significativo observándose así los contrastes y el cambio con los niveles de importancia tal como se muestran en la Figura 30. TEAC ABTS CI50 reacciona como agentes oxidantes o radicales libres, percibiendo electrones que les donan los antioxidantes.

Tabla 16 — Actividad antioxidante (TEAC ABTS CI50) en papas nativas pigmentadas congeladas y procesadas

Muestra de papas nativas	TEAC ABTS CI50 (ug/0.5mL)	Promedio
PYW	969.095	1012.18+/- 27.92
PYW	1006.434	
PYW	1012.178	
PYW	1032.284	
PYW	1040.901	
PPM	363.051	394.65+/-17.94
PPM	397.518	
PPM	403.263	
PPM	403.263	
PPM	406.135	

Nota: Datos expresados en media \pm SD, n=5, p<0.05

Medias de las letras diferentes se diferencian entre sí.

PYM: papa yawar wayku

PPM: papa puma maqui

Tabla 17 — Análisis de varianza y test Duncan en papas nativas pigmentadas congeladas y procesadas

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
TEAC ABTS CI50 (ug/0.5mL)	10	1.00	0.99	3.34

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	953365.66	1	953365.66	1731.27	<0.0001
MUESTRA	953365.66	1	953365.66	1731.27	<0.0001
Error	4405.40	8	550.67		
Total	957771.06	9			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 550.6744 gl: 8

MUESTRA	Medias	n	E.E.	
PPM	394.65	5	10.49	A
PYW	1012.18	5	10.49	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

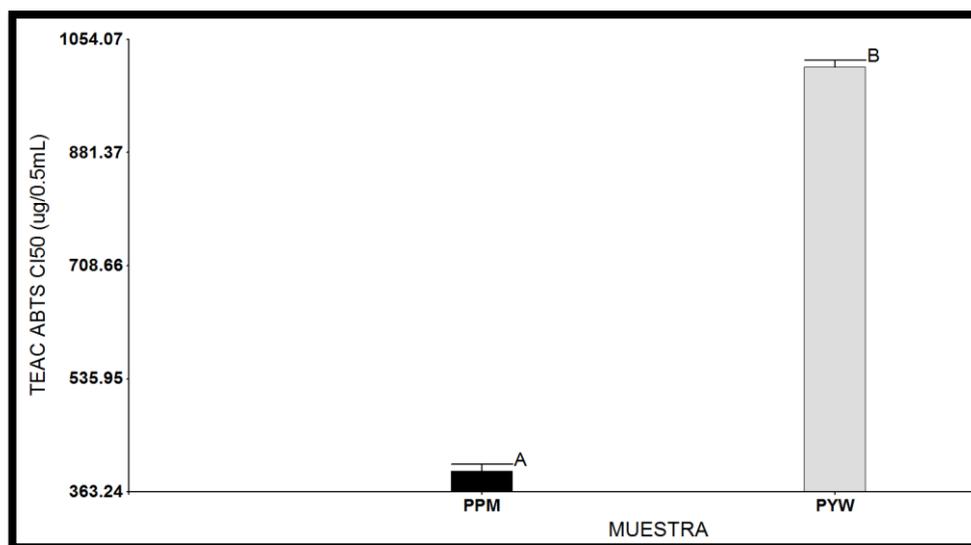


Figura 30 — TEAC ABTS CI50 en papas nativas pigmentadas congeladas y procesada

5.2 Contrastación de hipótesis

5.2.2 Hipótesis estadísticas

c) Hipótesis estadística (nula y alterna)

Hipótesis de la investigación

La actividad antioxidante tiene relación significativa con la cantidad de flavonoides de dos variedades de papa nativa (*Solanum tuberosum*); yawar wayku, puma maki.

Hipótesis nula

- Los flavonoides más representativos e identificables por, HPLC-DAD y FTIR-ATR son menos identificables porque tiene menor relación de presencia de antocianinas de dos variedades de la papa nativa (*Solanum tuberosum*), yawar wayku, puma maki.
- La cantidad de antocianinas totales (CAT), no tiene relación con la menor presencia de antocianinas en dos variedades de papa nativa (*Solanum tuberosum*); yawar wayku, puma maki.
- La cantidad de polifenoles totales, PFT no tiene relación con la menor presencia de antocianinas en dos variedades de papa nativa (*Solanum tuberosum*); yawar wayku, puma maki.

- La actividad antioxidante determinado por el método ABTS, afecta en la relación con la menor presencia de flavonoides en dos variedades de papa nativa (*Solanum tuberosum*); yawar wayku, puma maki.

Hipótesis alterna

- No existe incidencia significativa en los flavonoides más representativos e identificables por, HPLC-DAD y FTIR-ATR, porque tiene mayor relación de presencia de antocianinas de dos variedades de la papa nativa (*Solanum tuberosum*), yawar wayku, puma maki.
- No existe incidencia significativa en la cantidad de antocianinas totales (CAT), en relación con la menor presencia de antocianinas en dos variedades de papa nativa (*Solanum tuberosum*); yawar wayku, puma maki.
- No existe incidencia significativa en la cantidad de polifenoles totales (PFT) en relación con la menor presencia de antocianinas en dos variedades de papa nativa (*Solanum tuberosum*); yawar wayku, puma maki.
- No existe incidencia significativa en la actividad antioxidante determinado por el método ABTS, no afecta en relación con la menor presencia de antocianinas en dos variedades de papa nativa (*Solanum tuberosum*); yawar wayku, puma maki.

5.3 Discusión

5.3.1 De los espectros UV – Vis de las antocianinas

La postura de esta banda de acuerdo (Barragán et, al. 2018) permiten que se distinga entre un diferente tipo de flavonoide, entre ella la antocianina que produce bandas entre 500- 550 nm (Banda I), también de otra de menor fuerza entre 430-440 nm y 270-280 nm (Banda II), (Figura 31).

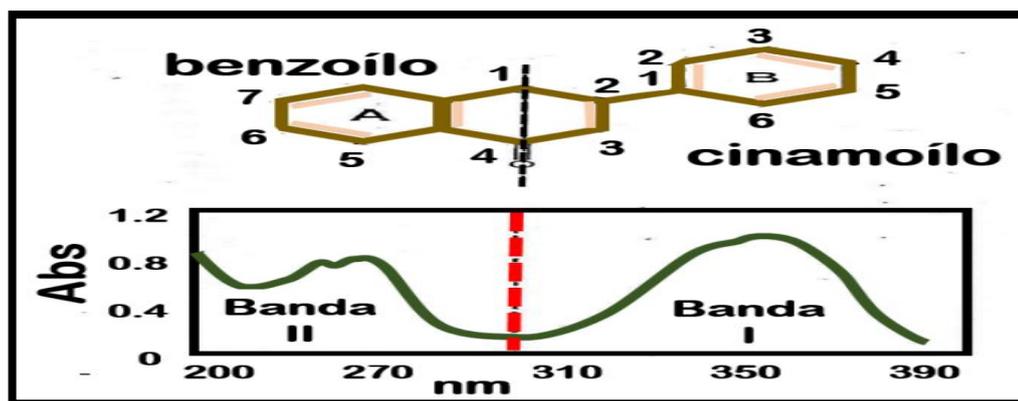


Figura 31 — Bandas de absorción UV de flavonoides

El espectro UV-Vis **de las antocianinas de las papas nativas pigmentadas**, presenta 2 bandas de asimilaciones máximas bien definida. La banda I asume a longitud promedio de 520 nm, mientras que la banda II absorbe a una longitud promedio de 360 nm (Ver Figuras 15 y 16). Con ese resultado, ya se puede realizar una conjetura preliminar de que el extracto podría ser algún tipo de flavonoides en estos casos de los grupos de la antocianina.

Los espectros encontrados y citados por (Barragán et al. 2018) indica que la desigualdad está formada en los picos máximos de asimilación el cual se muestra en rangos de longitud de ondas para flavonona y flavonol y otros para isoflavona, también la isoflavona presenta pico de disminuida potencia en el rango de 300-330 nm (banda I), por lo tanto el resultado que se obtuvo de la papa nativa pigmentada de la variedad de papa nativa puma maki y yawar wayku (PPM, PYW) son verificadas y similares a las bandas de absorción, (Ver Figuras 20 y 21).

5.3.2 De la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Una vez comparados cada uno de los picos del cromatograma HPLC de la papa nativa pigmentada de pulpa roja (PYW) se confirmó que el espectro (Figura 25) corresponde al estándar de pelargonidina que fue retenida en un tiempo de 9.495 min. Igualmente se considera que la diferencia a longitudes de onda de UV menores a 400 nm se debe a distintas composiciones en componentes glucosídicos que acompañan a las antocianidinas de ambas papas nativas

pigmentadas. De la misma manera (Barragán et al. 2018) en su trabajo de investigación indica que la antocianina fue aislada y caracterizada, para lo cual se utiliza combinaciones de -extracciones en fases sólidas, cromatografías contracorrientes y HPLC. De la misma manera el autor en mención (De et al. 2018). en su trabajo, analizo la principal antocianina, flavonoide y ácido fenólico de 26 cultivares de *Solanum tuberosum* L. EL tubérculo rojo contiene mucha pelargonidin-3-(p-coumaroyl-rutinósido)-5- glucósido (200-2000 $\mu\text{g/g}$ MF) y peonidin-3-(p-coumaroyl-rutinósido)-5-glucoside (20-400 $\mu\text{g/g}$ MF), el tubérculo ligero, púrpuras tienen petunidin-3-(p-coumaroyl-rutinósido)-5-glucoside (1 000-2000 $\mu\text{g/g}$ MF) más diminuta cantidad de malvidin-3-(p-coumaroyl-rutinósido)-5- glucósido (20-200 $\mu\text{g/g}$ MF).

También caracterizaron y cuantificaron la composición fenólica en 20 variedades de papas andinas pigmentadas y encontraron por HPLC que las antocianidinas más predominantes fueron petunidina-3-cumaroil rutinosido-5-glucósido en extractos de papas de pulpa morada y pelargonidin-3-cumaroil rutinosido-5-glucósido en extractos de papa de pulpa roja los mismos que son similares en el presente trabajo de investigación (Barragán et, al. 2018) .

De la misma manera en corroboración con los estudios anteriores, en la papa nativa pigmentada de color rojo y morado materia de estudio en el presente trabajo de investigación mediante cromatografía HPLC, se han identificado antocianidinas del tipo petunidina, cianidina y malvidina en las papas de color morado y pelargonidina en las papas de color rojo. Además, se explica que este contenido varía de acuerdo al genotipo de papa y otras variables como el estrés climático. Observándose que hay otras antocianidinas que no han podido caracterizarse. También se ha estudiado el efecto de cocción de papas nativas pigmentadas (Barragán et al. 2018) en la que determinaron por HPLC que en papas rojas existe antocianidinas del tipo pelargonidina y en las papas moradas petunidina, cianidina y malvidina.

5.3.3 De los espectros FTIR - ATR de las antocianinas



Se establece el espectro FTIR en extractos secos y purificados de papas nativas pigmentadas en los espectrómetros infrarrojos con accesorios ATR, siendo el espectro resultante las Figuras 21 y 22.

En las Figuras 26 y 27 se logra apreciar el espectro FTIR de los extractos de papas nativas pigmentadas de ambas variedades con su respectiva atribución de frecuencia de vibraciones (cm^{-1}), la misma que se puede mostrar en la Figura 24, en la que se puede apreciar una fuerte señal de asimilación de un diferente valor de frecuencia de vibración (cm^{-1}) interpretación según (Ernesto y Cáceres 2020).

Espectros FTIR – ATR (cm^{-1}) con sus respectivas asignaciones de grupos funcionales

Según (Ernesto y Cáceres 2020) indica que la técnica IR en el análisis de flavonoides tiene una característica de asimilación C=O entre 1680 y 1640, aromático entre 1600 y 1500 y la de -OH quelatado (o-hidroxicetona a 3500-3200). En nuestro caso la papa nativa pigmentada yawar wayku (PYW) y puma maki (PPM) están en la región donde mencionan los autores por lo tanto está en la región que más describe Figura 26 y 27.

Por otro lado en la Figura 32 según (De et al. 2018) se describe a un más detallado.

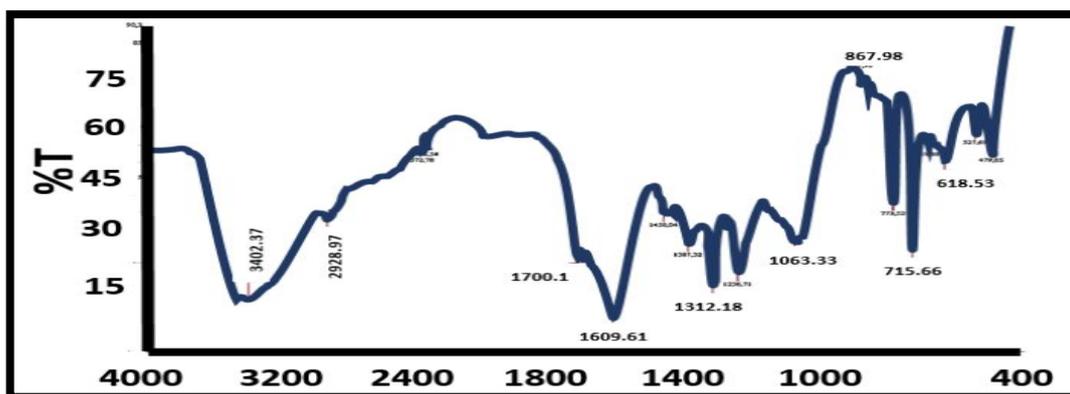


Figura 32 — Espectro infrarrojo de la fracción de un colorante flavínico

En los espectros Infrarrojos FTIR-ATR (Figuras 26 y 27), la presencia de la antocianina logra ser explicada de acuerdo al diferente autor como (Ernesto y Cáceres 2020) tensión O-H: Banda ancha desde 3500 a 3200 cm^{-1} . En la falta de

un puente de hidrógeno se presenta como picos agudos a 3650-3600 cm^{-1} . Los estiramientos C-H se producen aproximadamente de 2900 a 3000 cm^{-1} . A medida que los átomos unidos al carbono aumentan en masas, la continuidad de vibraciones disminuye (el número de ondas se hace más pequeño). Estiramiento C=C anillo aromático a 1600 - 1475 cm^{-1} . 1050 cm^{-1} se aplica a la alteración en los planos aromáticos = C-H (benceno). Toda esta característica de frecuencia de vibraciones recomienda estructuras similares a unos flavonoides de los tipos de antocianinas en el espectro FTIR-ATR de antocianina de papas nativas yawar wayku (PYW) y papas nativas puma maki (PPM), todo este espectro es semejante a los espectros flavínicos Infrarrojos de la Figura 32.

En su trabajo (Ernesto y Cáceres 2020) también trabajó el espectro se realiza en intervalos de 4000 a 600 cm^{-1} y en unidad de transmitancias, espectrofotometrías ultravioletas y visibles: El espectro se realiza rangos de longitud de ondas de 190 a 1100 nm en un espectrofotómetro THERMO GENESYS 10S UV VIS en una cubeta de cuarzos de 10 mm de densidad con rapidez de registros de 2500 nm/min y se usó metanol como disolvente. En cuanto a los resultados obtenidos en la papa nativa yawar wayku (PYW) y papa nativa puma maki (PPM) (ver Figura 26 y 27), están en los rangos y número de ondas descritas arriba.

5.3.4 De la cuantificación de antocianinas totales (CAT) por el método de pH diferencial

De la misma manera (Canteño 2022), hicieron estudios en papas pigmentadas encontrando que el CAT varió de 13.98 a 38.57 (mg cianidina 3-glucosido/100g peso fresco) en comparación con las variedades no pigmentadas. En consecuencia, en su investigación encontraron que, de dos variedades de papas nativas de América del Sur, el CAT los contenidos de antocianina total varía de cero a 23 mg equivalente de cianidina / 100 g de peso fresco.

Según (Canteño, 2022) en su trabajo de investigación el indica que los contenidos de antocianina monomérica fue establecida por el procedimiento pH X diferencial, los dos clones NDOP5847-1 y NDC4069 4 se localiza en un

_rango de 2 a 40 mg/100g tubérculo de peso fresco. Siendo el resultado para nuestro caso donde papa nativa Yawar wayku (PYW) contiene aproximadamente 86.4946 (mg cianidica 3 glucosido/100 g) a diferencia de papa nativa puma maki (PPM) en un 13.2088 (mg cianidica 3 glucosido/100 g) viendo así la PPM presenta un contenido bajo esto se basa fundamentalmente al tipo climatológico y estas papas nativas están ligadas estrechamente con la coloración de la papa nativa. Se muestra en la Tabla 13. Del mismo modo (Davalos, 2019) en su investigación menciona que, el clon de pulpas rojas muestra estas características en mayores proporciones, lo que sugiere controles multigénicos de los grados de coloración. La pulpa roja varía a partir de pigmentaciones parciales a una coloración completa, en el cual la coloración está presente en todo el tejido de los tubérculos. Las antocianinas totales varían de 6.9 a 35mg/100g de peso fresco en el clon de pulpa roja y de 5.5 a 17.1 mg en los de pulpa morada. Por lo tanto, se ve que las papas rojas como es el PYW tienen mayor cantidad de antocianinas totales.

En su trabajo según (Ernesto y Cáceres 2020) en cuanto a los contenidos de antocianina total (CAT), la papa nativa pigmentada (PST) y (PWQ) disminuye su dosis de 59,21 y 19,35 a 4,63 y 1,31 (mg de cianidina 3-glucosido/100g) de forma respectiva, luego de los procesos de fritura, salvaguardando mejor su antocianina en el desarrollo de cocción de hervido, en cuanto a las papas nativas comparadas con (PYW,PPM) descritas arriba las cantidades de CAT son similares a los resultados de Barran Condori, Ver Tabla 13.



5.3.5 De la cuantificación de polifenoles totales (PFT) por el método Folin - Ciocalteu

Según (Ernesto y Cáceres 2020) analizaron los contenidos de polifenol total en dos clones de papas nativas causo *Solanum* de pulpa azul (clon 304239) y roja (clon 303851) y encontraron 183.6 y 108.2 (mg ácido gálico/100 g) respectivamente esto es contrastado en el presente trabajo de estudio en la que se han localizado los polifenoles totales (PFT) entre 87.92 a 179.51 (mg ácido gálico/100 g de peso fresco) entre ambas diferencias de papa nativa pigmentadas de pulpa morada y roja. En el contenido de polifenoles totales (PFT) encontraron rangos entre 1.8 a 11 (mg EAG/g peso seco) en 50 variedades de papas.

En los resultados obtenidos en las papas nativas pigmentadas, así conteniendo la muestra PYW aproximadamente un promedio de 333.33 (mg ácido Gálico/100g) a diferencia del puma maki PPM en un 50.29 (mg ácido Gálico/100g), que está ligada estrechamente con la pigmentación de las papas. Teniendo así un alto contenido en la PYW con una mejor cantidad de PFT, Ver Tabla 15. De la misma manera (López Rodríguez 2019) , en su estudio demostró que la papa pigmentada de pulpa roja y púrpura los contenidos de antocianina acilada son 2 o 3 veces más elevadas en antioxidante-en paralelo con las papas de pulpa blanca, el tubérculo de papa roja contiene glucósido de pelargonidinas y peonidinas, papa morada glucósido de malvidinas y petunidinas, nueva variedad de papas de pulpas rojas y púrpura son usadas para la fabricación alimenticia y no alimenticia.

En su investigación (Barragán, 2018) indica en su resultado de su trabajo los contenidos de polifenol total (PFT) de las papas nativas (PST) y (PWQ), se reducen de 179,51 y 87,92 a 125,27 y 12,19 (mg de ácido gálico/100g) luego de los procesos de cocción por microonda en el primero y de fritura en el segundo caso, siempre preservando mejor el polifenol total en las cocciones por hervido. Esta variación es porque trabaja con la cocción de las papas nativas. Teniendo en cuenta los resultados de las papas nativas (PYW, PPM) ver Tabla 15, tienen más similitud con los resultados de Navarre *et al.* (2011), por el mismo hecho que trabajo con las papas nativas frescas como indica en su trabajo de investigación.



5.3.6 De la actividad antioxidante ABTS

EL resultado obtenido en las determinaciones de las actividades antioxidantes por el método ABTS según (Cerón M et al. 2018), (Barragan, 2018) el mismo que fue evaluado en cada uno de los extractos de las papas nativas pigmentadas; y como resultado se verifica en la (Tabla 17) se han expresado una Concentración Inhibitoria del 50% (IC50%) a equivalente a Trolox (TEAC), para los dos modelos de papa nativa PYW y PPM. De dos de las muestras trabajadas bajo este el método ABTS, para la muestra PYW se tuvo como resultado 1012.18 y PPM 394.65 esto significa que la muestra PYW tiene mayor capacidad antioxidante. Donde según ^[36] indica claramente lo siguiente, el radical es causado de manera directa en formas estables antes de la reacción con el antioxidante. Por lo tanto, esto indica que la muestra PYW contiene en su total actividad antioxidante a diferencia de la poca reacción que presenta la muestra PPM. Del mismo modo según (Cerón M et al. 2018), (Davalos, 2019) en este estudio se analizará 4 tipos de tubérculo andino 1 endémicos y domesticado en los andes, papas nativas (*Solanum sp.*), mashua, oca (*Oxalis tuberosa* · Molina) y ulluco (*Ullucus tuberosus* Caldas), percibiendo su capacidad de antioxidantes asociados a su metabolito secundario. La capacidad de antioxidantes se mide haciendo uso del procedimiento del radical ABTS y el fenol total, carotenoide, antocianina, betaxantina y betacianina además de ser caracterizado. La capacidad de antioxidantes encontrados en el cultivo estudiado está en los rangos de 483 a 1012 ug trolox equiv/g, fenol en el rango de 0.41 a 3.37mg ácido clorogénico equiv/g, antocianina en el rango de 0.08 a 2.05mg Cianidina 3-glucosido/g y los carotenoides en el rango de 1 a 25 ug, β -caroteno/g. Los contenidos de componente bioactivo fueron altos y variables entre un diverso cultivo y los genotipos.

En su investigación (Cerón M et al. 2018), que evaluaron al tubérculo de papas como fuentes de antioxidante y mineral para las dietas el rango de valor hidrófilo ORAC fue 28.25-250.67 μ mol de Eq Trolox/g de MS. La capacidad de antioxidantes hidrofílicos. Además, estos estudios demuestran las amplias variabilidades de micronutriente alto con promociones a la salud de papas nativa dentro de los germoplasmas, así como además las contribuciones significativas de un distinto tubérculo de papas puede compartir el consumo alimenticio del

antioxidante, hierro y zinc. En comparación de papa nativa yawar wayku (PYW) y papa nativa puma maki (PPM), estos presentan las mismas propiedades como los mencionan (Cerón M et al. 2018).



CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

Las antocianinas identificadas por HPLC, fueron del tipo petunidina, cianidina y malvidina en la papa nativa pigmentada de pulpa morada (PPM) y la presencia de pelargonidina en las papas nativas pigmentada de pulpa roja (PYW).

La papa nativa pigmentada Yawar wayku (PYW) muestra mayores cantidades de antocianina total (CAT) y polifenol total (PFT) con relación a las papas nativas puma maki (PPM). El menor contenido de antocianina total (CAT) y polifenoles totales (PFT) muestran las papas nativas puma maki (PPM), esto por su estado fresco y también por su estado como se encuentra ligado el pigmento y los factores climatológicos donde estos se cultivan, para las dos decisiones, mientras que las papas nativas Yawar wayku (PYW) presenta más resistencia a la degradación en el medio ambiente de sus antioxidantes, además se verifica que el medio ambiente es un factor del pardeamiento en el proceso de extracción de colorante de las papas nativas cuando se extrae de un estado fresco.

Entre el método químico utilizado para que se determine las capacidades antioxidantes (captación de un radical libre), el radical ABTS^{•+} es uno de los más veloces, produciendo un resultado reproducible y coherente. También, el ABTS presenta una importante ventaja; muestran diferentes máximos de asimilación y buenas solubilidades, accediendo a los ensayos del compuesto de la naturaleza lipofílica como hidrofílica. El periodo de 1 minuto, para el procedimiento ABTS, logra ser suficientes para la medida de pulpa de papas nativas.

6.2 Recomendaciones

- La apreciación de las actividades antioxidantes de papa nativa en las muestras de papa nativa yawar wayku (PYW) y papa nativa puma maki (PPM), se recomienda tener la extracción más delicada que amerita extraer (un extracto lo más puro posible) esto ayudará a un análisis y evaluación de (UV Vis, FTIR, CAT, PFT, HPLC, y ABTS), si no se tiene un extracto puro siempre habrá alteraciones en los ya análisis ya mencionados.



- El alto contenido de cantidad de antocianinas totales (CAT) que se encuentra en los extractos purificados para ambas muestras de papa nativa yawar wayku (PYW) y papa nativa puma maki (PPM), la papa nativa yawar wayku (PYW) como muestra los resultados, tiene mayor cantidad de antocininas, por tanto, se recomienda trabajar con la antocinina del mismo y así podría ser tomado en cuenta como fuentes potenciales para aprovechar el antioxidante y así utilizar en diferentes productos con valor agregado.
- Para determinar los polifenoles totales (PFT), se recomienda trabajar con papas nativas previamente congeladas esto ayudara a cuidar estrictamente del pardeamiento, esto porque como no se trabaja en un medio ambiente controlado el factor del medio ambiente y el pardeamiento tiene mucha influencia para su determinación tanto en calidad y cantidad, esto ayuda con mayor facilidad en el análisis de trabajo de investigación.
- La actividad antioxidante es dado y determinado por el método ABTS, se recomienda utilizar por el mismo propósito de tener más relevancia significativa en el momento de análisis, teniendo en cuenta el tipo de muestra de la papa nativa yawar wayku. En consecuencia, se conoce y sabe que la alteración del alimento con relación a los aportes, ingestión y absorción del nutriente, puede cambiar de manera negativa los desarrollos físicos, psíquicos, rendimientos y salud, repercutiendo en la calidad de vida en la persona, ya que son de mucho valor preocupándose por conservar una conveniente nutrición, esencialmente para que se mantenga usando un antioxidante natural ya que es la fundamental vía de entrada del compuesto antioxidante a los organismos.



BIBLIOGRAFÍA

- AGRONOM, E.P.D.E., ECOTIPOS, M.D.E., NATIVA, D.E.P., JOS, S.A.N., CHONTAYA, D.E., AGR, I., AGRARIAS, C., VEGA, S.O., INVESTIGACIONES, N.E.A.D.E., ASESOR, A. y RAYA, F.M., 2019. Universidad tecnológica de los andes.
- BARRAGÁN CONDORI, MELQUIADES CARTAGENA CUTIPA, R., ARO ARO, J.M. y MELÉNDEZ HUAMANÍ, V.J., 2018. Antocianinas, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante del mio – mio (*Coriaria ruscifolia* L) Characteristics. *Revista de Investigaciones Altoandinas* [en línea], vol. 20, no. 4, pp. 419-428. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/ria/v20n4/a05v20n4.pdf>.
- BASTIDAS, M., 2013. Universidad Nacional del Centro del Perú. ,
- BENAVIDES GERRERO, R., REVELO CURAN, Y.A., ARAGO BEDOYA, O. y OSORIO MORA, O., 2020. Extracción asistida con ultrasonido de compuestos fenólicos de dos variedades de papas (*Solanum phureja*) nativas andinas y evaluación de su actividad antioxidante Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from two varieties of an Andean nativ. *Información Tecnológica*, vol. 31, no. 5, pp. 43-50.
- CANTEÑO, F., 2022. Universidad Nacional Hermilio Valdizan. *Universidad Nacional Hermilio Valdizán* [en línea], pp. 1-138. Disponible en: <http://repositorio.unheval.edu.pe/handle/UNHEVAL/4761>.
- ÇAYAN, F., DEVECI, E., TEL-ÇAYAN, G. y DURU, M.E., 2020. Identification and quantification of phenolic acid compounds of twenty-six mushrooms by HPLC–DAD. *Journal of Food Measurement and Characterization* [en línea], vol. 14, no. 3, pp. 1690-1698. ISSN 21934134. DOI 10.1007/s11694-020-00417-0. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00417-0>.
- CERÓN M, ALZATE A, ROJANO B y ÑUZTEZ, C., 2018. Composición Fisicoquímica y Propiedades Antioxidantes de Genotipos Nativos de Papa Criolla (*Solanum tuberosum* Grupo Phureja). *Información tecnológica*, vol. 29, no. 3, pp. 205-216.
- CERRÓN MERCADO, F.G., 2018. Atributos sensoriales de la papa nativa (*solanum tuberosum* l.) después de almacenamiento en frío y cocción acuosa. [en línea],



Disponible en:
<https://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/3692/cerron-mercado-francis-gladys.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

DAVALOS, D., 2019. Determinación de parámetros óptimos de extracción de antocianinas en Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum*) y evaluación de la actividad antioxidante y polifenoles totales. *Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurimac* [en línea], Disponible en: <http://repositorio.unamba.edu.pe/handle/UNAMBA/829>.

DE, O., DE, A., NATIVA, P., AQUICE, S., PATRICIA, D., PÁRRAGA, T., JATSUMI, S., PEÑAFIEL, E., CÉSAR, C. y LIMA -PERÚ, A., 2018. FACULTAD DE INGENIERÍA Carrera de Ingeniería Agroindustrial y Agronegocios Tesis para optar por el Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial y Agronegocios. ,

ERNESTO, A. y CÁCERES, M., 2020. Vol 22 n° 2. , vol. 22, no. 2, pp. 161-169.

GIL, A., LOPÉZ, E., MOSTACERO, J. y DE LA CRUZ, A., 2019. Papas nativas con potencial antioxidante, cultivadas en el norte del Perú [Native potatoes with antioxidant potential, grown in northern Peru]. *Aromáticas* [en línea], vol. 18, no. 3, pp. 289-324. Disponible en: <https://doi.org/10.37360/blacpma.19.18.3.19>.

JIMÉNEZ, N., 2019. Universidad UTE. *Universidad UTE*, pp. 23-26.

LOPEZ, E., MOSTACERO, J., GIL, A.E., LOPEZ, A., DELA CRUZ, A. y VILLENA, L., 2019. Efecto Sinergico del Acido Giberelico y del Acido Indolacetico en la Propagacion In Vitro de Solanum tuberosum L Papa Nativa de Pulpa de Color. *Rebiollo*, vol. 39, no. 2, pp. 49-57.

LÓPEZ RODRÍGUEZ, M.M., 2019. Compuestos fenólicos, carotenoides y actividad antioxidante en papa diploide con fertilización foliar de magnesio y manganeso. *Departamento de Agronomía*,

LUZURIAGA TINOCO, M.J., 2020. Universidad UTE. *Universidad UTE*,

MANDUJANO-PONTE, P., 2015. *Escuela Profesional De Farmacia Y Bioquímica* [en línea]. S.l.:s.n.ISBN1808111052.Disponible en:

http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/206/VARGAS_CABANILLAS_LISSETH_ROXANA_USO_ANTIINFLAMATORIOS_NO_ESTEROIDEOS.pdf?sequence=1&isAllowed



=y.

MAURO RODAS, 2019. DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES TERMOFÍSICAS (CONDUCTIVIDAD Y DIFUSIVIDAD TÉRMICA) EN CINCO VARIEDADES DE PAPAS NATIVAS (Solanum. Universidad nacional josé maría arguedas [en línea], pp. 1-177. Disponible en: https://repositorio.unajma.edu.pe/bitstream/handle/123456789/475/Adherly_Tesis_Bachiller_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

PACHECO LLAMOCCA, C.E., 2019. INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA Y EL pH EN LA ESTABILIDAD DE ANTOCIANINAS D ELOS FRUTOS DE ZARZAMORA (Rubus urticifolius Poir.). , pp. 114.

PALOMINO, R., 2018. Extracción, caracterización funcional y color del almidón de papa nativa de las variedades: Waka waqra, Alq'a wayruru, Phusi k'achun waqachi y Puka viruntus (Solanum tuberosum ssp. andigenum). Universidad Nacional José María Arguedas, pp. 71-80.

RIOJA ANTEZANA, A., VIZALUQUE, B., ALIAGA ROSSEL, E., TEJEDA, L., BOOK, O., MOLLINEDO, P. y PEÑARRIETA, M., 2018. Determinacion de la capacidad antioxidante total, fenoles totales y la activida enzimática en una bebida no láctea en base a granos de Chenopodium quinoa. *Revista Boliviana de Química*, vol. 35, no. 5, pp. 168-176. ISSN 0250-5460.

ROJAS RUIZ, J.M., CABEZAS, L., ESTACIO YALAN, C.I. y CHAVARRY, K., 2017. Io Cu Ar Io Cu Ar. *Biblioteca Digital - Dirección de Sistemas de Informática y Comunicación* [en línea], vol. 0, no. 0, pp. 59. Disponible en: [https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/17049/Hernández Chávarry%20Karla Yajaira.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/17049/Hernández%20Chávarry%20Karla%20Yajaira.pdf?sequence=1&isAllowed=y) [https://repositorio.unica.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13028/3171/Identificación de especies fúngicas asociadas al decaimiento de p.](https://repositorio.unica.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13028/3171/Identificación%20de%20especies%20fúngicas%20asociadas%20al%20decaimiento%20de%20papa)

SIÑANI, L.B., PARDO, A.R., CHÁVEZ, C.F., JOSÉ, J. y PORRES, A.J.J., 2018. IDENTIFICACIÓN DE VARIEDADES DE PAPA NATIVA (Solanum sp.) PRODUCIDAS EN TRES COMUNIDADES DEL MUNICIPIO DE TIAHUANACO. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales, La Paz*, vol. 5, no. 2, pp. 117-124.



SOLEDA, B. y ROPERO, M., 2020. Estudio del perfil de antocianinas en *Rubus Niveus* utilizando cromatografía líquida (HPLC) y pH diferencial. *ResearchGate* ISSN: 1856-9587 [en línea], no. September, pp. 147-156. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81318808007>.

SURCO LAOS, F., AYQUIPA PAUCAR, H., QUISPE GAMBOA, W., GARCÍA CECCARELLI, J. y VALLE CAMPOS, M., 2020. Determinación De Polifenoles Totales Y Actividad Antioxidante De Extracto De Semillas De Uvas Residuos De La Producción De Piscos. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, vol. 86, no. 2, pp. 123-131. ISSN 1810-634X. DOI 10.37761/rsqp.v86i2.282.

TELLEZ MESA, C., 2019. Aplicaciones De La Espectroscopía Infrarroja En El Análisis De Alimentos. *Trabajo Fin De Grado* [en línea], vol. 1, no. 0, pp. 46. Disponible en: https://ciatej.mx/files/divulgacion/divulgacion_5f89fd7801268.pdf.

TREJO-ESCOBAR, D.M., CORTÉS, M. y MEJÍA-ESPAÑA, D.F., 2019. Influencia de Proceso de Fritura al Vacío Sobre la Calidad de Chips de Papa Nativa, Variedad Botella Roja. *Información tecnológica*, vol. 30, no. 5, pp. 67-80. DOI 10.4067/s0718-07642019000500067.

ZAPATA, H.S., 2018. Universidad Nacional De San. *Universidad Nacional de San Martín*, vol. 1, pp. 1-125.





Figura 35 — Papas enteras y congeladas

Anexo 3 — Extracción de pigmentos antociánicos de muestras de papas nativas pigmentadas congeladas



Figura 36 — Extracción con solventes

Anexo 4 — Extracción de pigmentos antociánicos de muestras de papas nativas pigmentadas congeladas



Figura 37 — Extractos de papas nativas pigmentadas congeladas



Figura 38 — Separación de solventes y partículas del extracto



Figura 39 — Rotavapor: Reducción de solventes a presión reducida de extractos de papas nativas pigmentadas

Anexo 5 — Extracción de pigmentos antociánicos de muestras de papas nativas pigmentadas congeladas



Figura 40 — Extractos aforados de papas nativas pigmentadas con HCl 0.01%

Anexo 6 — Hidrólisis ácida y purificación de extractos de antocianinas

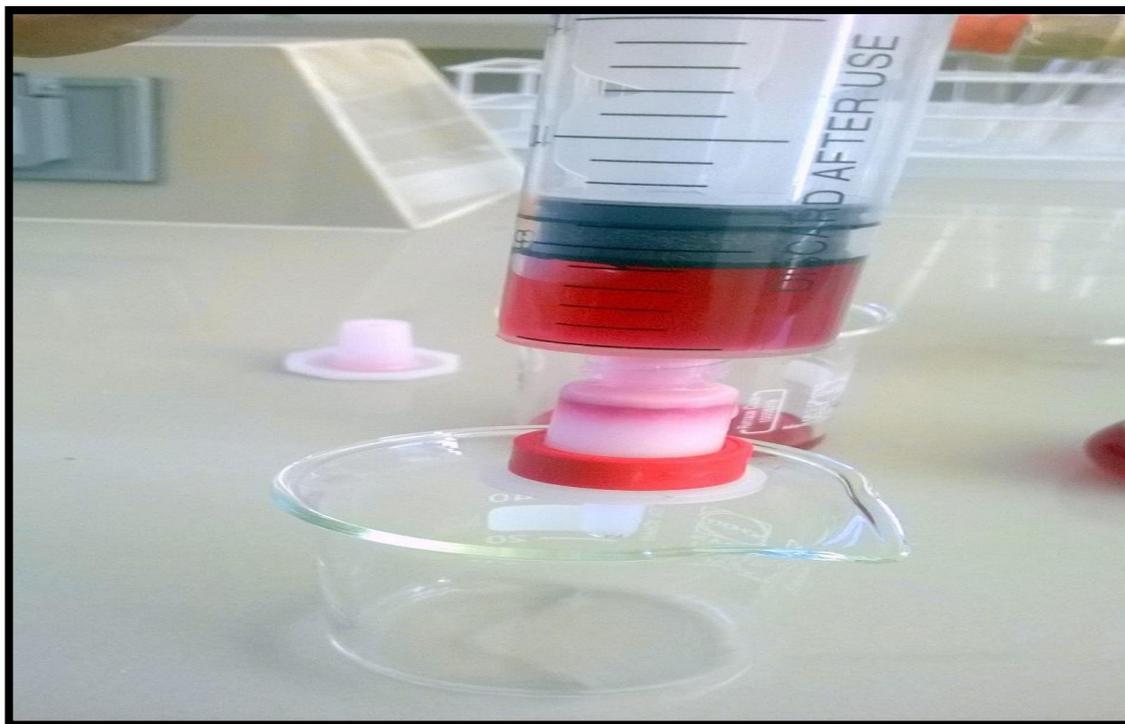


Figura 41 — Purificación de antocianinas por cartucho C-18

Anexo 7 — Espectrofotometría UV – Visible de antocianinas

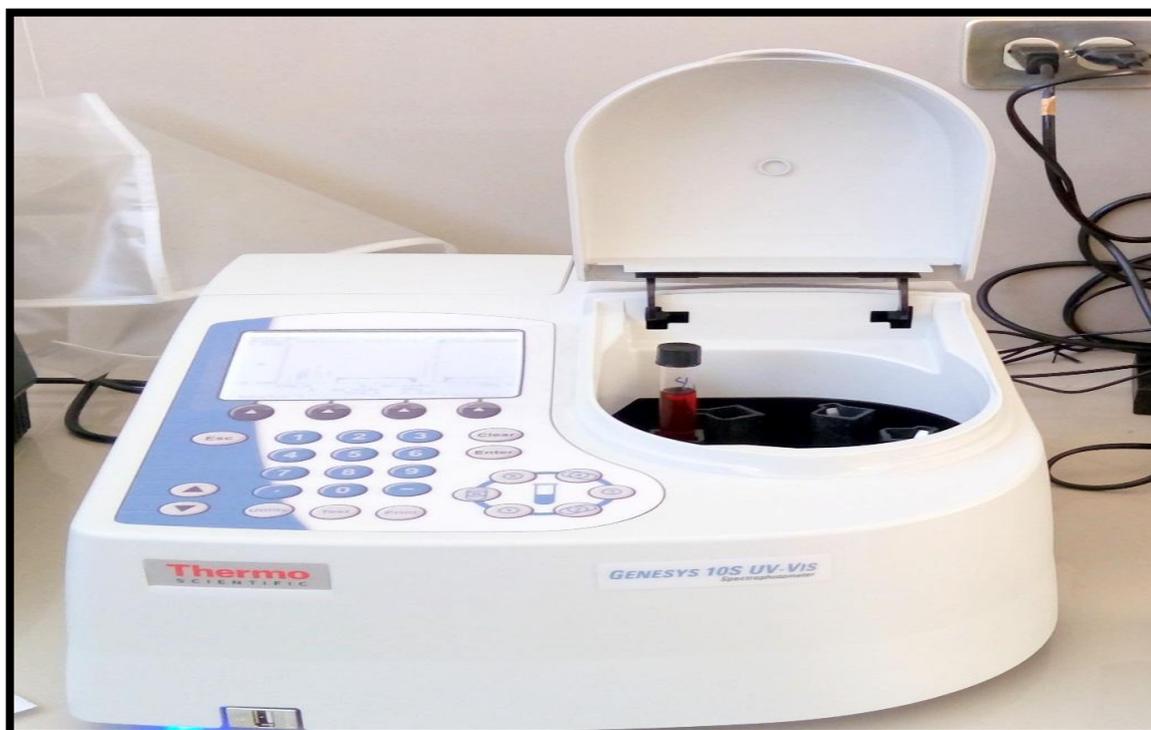


Figura 42 — Espectrofotómetro UV Visible para caracterizar antocianinas

Anexo 8 — Espectrómetro FTIR – ATR de antocianinas



Figura 43 — Espectrómetro FTIR – ATR

Anexo 9 — Contenido de antocianinas totales CAT



Figura 44 — Extractos de método pH diferencial para CAT.

Anexo 10 — Contenido de polifenoles totales PFT



Figura 45 — Extractos para análisis de polifenoles totales.



Figura 46 — Extractos de método Folin Ciocalteu para PFT.