

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA
FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**



**“EFECTO DEL ESTRÉS ABIÓTICO POST-COSECHA EN LA
SÍNTESIS DE GLUCOSINOLATOS, ACTIVIDAD MIROSINASA Y
CAROTENOIDES EN MASHUA (*Tropaeolum tuberosum*)”**

Presentado por:

EVELIN LIMAYMANTA CARHUALLANQUI

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

LIMA-PERÚ

2018

La UNALM es la titular de los derechos patrimoniales de la presente tesis
(Art. 24. Reglamento de Propiedad Intelectual de la UNALM)

DEDICATORIA

A mis padres Angel y Liliana por darme su apoyo incondicional y por quererme y soportarme tal y cual soy.

A mis hermanos que aunque sepan que soy pesada me quieren y apoyan siempre

A Ruben por apoyarme en muchos momentos.

AGRADECIMIENTO

- A la vida por permitirme experimentar nuevos retos.
- A mi asesor de tesis, Dr. David C. Campos Gutiérrez, por darme la oportunidad de formar parte del equipo de trabajo del Instituto de Biotecnología Industrial (IBT) de la UNALM, por compartir conmigo su experiencia y conocimiento en cuanto al tema de investigación.
- A mi co-asesor, Dra. Ana C. Aguilar Galvez, por guiarme de inicio a fin en el desarrollo de la investigación, por motivarme, exigirme y orientarme cuando más lo necesité y sobre todo por el cariño que siempre me brindó, lo cual hizo de esta experiencia única en mi vida.
- A los profesores del IBT Dra. Rosana Chirinos, Mg. Sc. Marianela Inga, por ayudarme con experiencias en investigaciones similares al tema desarrollado.
- A la Sra. Adelayda por el apoyo del día a día, la paciencia y comprensión en toda la etapa experimental.
- A mis compañeros de laboratorio Fiorela, Kathya, Miluska, Martín, Carmen, Rocío, Edith, Karina; con quienes compartí gratos momentos.
- A mis amigos Milagros y Angel por sus consejos y buenos deseos.
- A mis padres y hermanos por estar conmigo siempre, en las buenas y las malas.
- A Kathy, Helen y Sheyla quienes me apoyaron y motivaron cuando más lo necesité.
- A todos aquellos amigos y familiares que siempre me dieron su apoyo y confiaron en mi trabajo.
- Al Programa Nacional de Innovación para la Competitividad y Productividad (Innovate Perú), por el financiamiento para el desarrollo de la presente investigación como parte del proyecto “Análisis proteómico y metabolómico focalizado de tubérculos de mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) sometidos a estreses abióticos post-cosecha: énfasis en las rutas metabólicas involucradas en la síntesis de glucosinolatos y antioxidantes” (Contrato N° 189-PNICP-PIAP-2015).

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN

ABSTRACT

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA	2
2.1.	LA MASHUA	2
2.1.1.	CONSUMO Y USOS TRADICIONALES	4
2.1.2.	CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	5
2.1.3.	COMPOSICIÓN QUÍMICA Y NUTRICIONAL DEL TUBÉRCULO DE MASHUA.....	5
2.1.4.	PROPIEDADES MEDICINALES Y NUTRACEUTICAS	7
2.1.5.	PRODUCCIÓN NACIONAL.....	8
2.2.	POST-COSECHA.....	10
2.3.	ESTRÉS VEGETAL.....	11
2.3.1.	ESTRÉS ABIÓTICO EN LA POST-COSECHA	12
2.4.	GLUCOSINOLATOS.....	13
2.4.1.	ESTRUCTURA.....	13
2.4.2.	VÍA METABÓLICA DE LOS GLUCOSINOLATOS	15
2.5.	SISTEMA MIROSINASA-GLUCOSINOLATO	18
2.5.1.	EFFECTO ANTINUTRICIONAL DE LOS ISOTIOCIANATOS.....	20
2.5.2.	EFFECTO ANTICANCERIGENO DE LOS ISOTIOCIANATOS	21
2.6.	CAROTENOIDES.....	23
2.6.1.	ESTRUCTURA.....	23
2.6.2.	PROPIEDADES Y FUNCIONES DE LOS CAROTENOIDES.....	24
2.6.3.	VÍA METABÓLICA DE LOS CAROTENOIDES EN LAS PLANTAS.....	25
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	28
3.1.	LUGAR DE EJECUCIÓN	28
3.2.	MATERIA PRIMA.....	28
3.3.	MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS	28
3.3.1.	MATERIAL DE LABORATORIO	28
3.3.2.	REACTIVOS	29
3.3.3.	EQUIPOS.....	29
3.4.	MÉTODOS DE ANÁLISIS	30

3.4.1. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD Y MATERIA SECA	30
3.4.2. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE GLUCOSINOLATOS	30
3.4.3. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD MIROSINASA	31
3.4.4. IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE CAROTENOIDES	32
3.5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	33
3.5.1. ACONDICIONAMIENTO DE LA MUESTRA PARA EL ANÁLISIS	33
3.5.2. DISEÑO EXPERIMENTAL	34
3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	36
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
4.1. IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE GLUCOSINOLATOS EN MASHUA.....	37
4.2. EFECTO DEL ESTRÉS ABIÓTICO (REFRIGERACIÓN, SOMBRA Y SOLEADO) POST-COSECHA SOBRE LOS GLUCOSINOLATOS	40
4.3. EFECTO DEL ESTRÉS ABIÓTICO (REFRIGERACIÓN, SOMBRA Y SOLEADO) POST-COSECHA SOBRE LA ACTIVIDAD MIROSINASA.....	48
4.4. CAMBIOS EN EL CONTENIDO TOTAL DE CAROTENOIDES, β -CAROTENO EN MASHUA DURANTE EL ALMACENAMIENTO POST-COSECHA EN SOMBRA, SOLEADO Y REFRIGERACIÓN.....	53
4.5. CAMBIOS EN LA COMPOSICIÓN DE CAROTENOIDES EN MASHUA DURANTE EL ALMACENAMIENTO EN SOMBRA, SOLEADO Y REFRIGERACIÓN.....	57
V. CONCLUSIONES	69
VI. RECOMENDACIONES.....	70
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71
VIII. ANEXOS.....	94

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Composición química de 100g de mashua (porción comestible).....	6
Cuadro 2: Departamentos de mayor producción de mashua (miles de ton).....	9
Cuadro 3: Clases de glucosinolatos identificados en mashua	38
Cuadro 4: Contenido de glucosinolatos ($\mu\text{mol/g}$ bs) en mashua almacenadas en refrigeración, sombra y soleado durante 15 días	42
Cuadro 5: Contenido de carotenoides totales y β -caroteno en mashua almacenada en refrigeración, sombra y soleado.....	55
Cuadro 6: Identificación de los carotenoides presentes en mashua.....	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Dibujo de la planta de mashua.....	3
Figura 2: Producción Nacional de Mashua	9
Figura 3: Almacenamiento post-cosecha de los tubérculos de mashua	11
Figura 4: Efecto del estrés abiótico post-cosecha sobre los metabolitos	14
Figura 5: Estructura general del glucosinolato	15
Figura 6: Biosíntesis de la estructura central del glucosinolato	16
Figura 7. Representación de la localización de los componentes del sistema glucosinolato-mirosinasa superpuesto en una porción de una sección transversal del tallo de flor de <i>Arabidopsis thaliana</i>	19
Figura 8: Hidrólisis de glucosinolato-mirosinasa y algunos de los compuestos formados bajo diferentes condiciones de pH y la influencia de las proteínas epitoespecificadoras (ESP)	20
Figura 9: Mecanismo de acción del 3-butenil isotiocianato.....	22
Figura 10: a) Isopreno, 2-metil-1,3-Butadieno, b) β -Caroteno está compuesto de ocho unidades de isopreno de cinco carbonos y c) En la estructura del β -Caroteno encontramos once dobles enlaces conjugados	24
Figura 11: Ruta de biosíntesis de los principales carotenoides en las plantas	27
Figura 12: Esquema del diseño experimental. HR (Humedad relativa del ambiente entorno a las muestras), T (Temperatura del ambiente entorno a las muestras) y Ti (Temperatura interna de las muestras).....	35
Figura 13: Cromatograma de glucosinolatos en mashua, la identificación de los compuestos se muestra en el Cuadro 3	38
Figura 14: Evolución de la actividad mirosinasa de las muestras de mashua morada almacenadas en refrigeración, sombra y soleado durante 15 días	49
Figura 15: Contenido de Glucosinolato y actividad mirosinasa durante Refrigeración. 51	
Figura 16: Contenido de Glucosinolato y actividad mirosinasa durante Sombra	51
Figura 17: Contenido de Glucosinolato y actividad mirosinasa durante soleado	52
Figura 18: Cromatogramas HPLC de carotenoides de mashua almacenada en condiciones de refrigeración, durante 0 (A), 3 (B), 6 (C), 9 (D), 12 (E) y 15 (F) días	58
Figura 19: Cromatogramas HPLC de carotenoides de mashua almacenada en condiciones de sombra, durante 0 (A), 3 (B), 6 (C), 9 (D), 12 (E) y 15 (F) días.....	59

Figura 20: Cromatogramas HPLC de carotenoides de mashua almacenada en condiciones de soleado, durante 0 (A), 3 (B), 6 (C), 9 (D), 12 (E) y 15 (F) días	60
Figura 21: Corte transversal del tubérculo de mashua.....	61
Figura 22: Cromatograma del almacenamiento en soleado. Día 0 (negro), 3 (azul), 9 (verde) y 15 (celeste).....	64
Figura 23: Cromatograma del almacenamiento en sombra. Día 0 (negro), 3 (azul), 9 (verde) y 15 (celeste).....	65
Figura 24: Cromatograma del almacenamiento en refrigeración. Día 0 (negro), 3 (azul), 9 (verde) y 15 (celeste).....	66
Figura 25: Cromatograma del almacenamiento al día 3. Sol (verde), refrigeración (azul) y sombra (negro).....	67
Figura 26: Cromatograma del almacenamiento al día 9. Sol (verde), refrigeración (azul) y sombra (negro).....	68

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: HUMEDAD Y MATERIA SECA EN MASHUA LIOFILIZADA	94
ANEXO 2: ANÁLISIS ESTADÍSTICO: CONTENIDO DE GLUCOSINOLATOS TOTALES E INDIVIDUALES.....	95
ANEXO 3: ANÁLISIS ESTADÍSTICO: ACTIVIDAD MIROSINASA	103
ANEXO 4: CORRELACIÓN ENTRE ACTIVIDAD MIROSINASA Y GLUCOSINOLATOS TOTALES.....	105
ANEXO 5: ANÁLISIS ESTADÍSTICO: CONTENIDO DE CAROTENOIDES TOTALES	107

RESUMEN

La mashua es un tubérculo andino rico en compuestos fenólicos, carotenoides y glucosinolatos, todos ellos conocidos por que su consumo contribuye a la prevención y/o reducción del riesgo de contraer enfermedades. La presente investigación evaluó el efecto de diferentes tipos de manejo post-cosecha (soleado, almacenamiento en refrigeración y bajo sombra) sobre el contenido de glucosinolatos y su relación con la actividad mirosinasa, así como el contenido de carotenoides. Los tubérculos fueron cosechados y sometidos a condiciones de almacenamiento antes indicadas, se tomaron muestras periódicamente, cada 3 días durante quince días. El almacenamiento en condiciones de refrigeración y bajo sombra mantuvo el contenido de glucosinolatos y carotenoides. Particularmente se observó un incremento del β -caroteno en sombra. Al sexto día de someter los tubérculos a soleado se notó una degradación importante en los glucosinolatos y carotenoides. La actividad mirosinasa aumentó hasta el día 3 en soleado, día 6 en sombra y día 12 en refrigeración. El efecto del almacenamiento post-cosecha en la mashua mostró relaciones interesantes entre los metabolitos en respuesta a las influencias ambientales y nos permitió saber hasta qué punto estos factores de estrés son favorables para estimular la síntesis de estos compuestos bioactivos.

Palabras clave: Mashua, post-cosecha, estrés abiótico, glucosinolatos, carotenoides, actividad mirosinasa.

ABSTRACT

Mashua is an Andean tuber rich in phenolic compounds, carotenoids and glucosinolates, all of these compounds are well known for their preventive effect against degenerative diseases. This work evaluated the effect of different post-harvest handling techniques (sun exposure, refrigerated storage and storage under shade) on the glucosinolate content, myrosinase activity and carotenoid content. The tubers were harvested and subjected to the conditions indicated above. Samples were taken periodically each three days over a fifteen days period. Refrigerated storage and under shade kept the contents of glucosinolates and carotenoids. An increment on β -carotene content was observed on the tubers stored under shade. A considerable degradation of both glucosinolates and carotenoids occurred at the sixth day on the sun exposed tubers. Myrosinase activity increased until the day 3 on the sun exposed tubers, until the day 6 on the tubers stored in shade and until the day 12 on the refrigerated ones. All of the postharvest techniques evaluated showed interesting effects on the mashua metabolites probably as a response to the environmental conditions and gave insight on which of those conditions are favorable to elicit the synthesis of bioactive compounds.

Keywords: Mashua, post-harvest, abiotic stress, glucosinolates, carotenoids, myrosinase activity.

I. INTRODUCCIÓN

La mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav.) es una planta originaria de la región andina, se distribuye desde Colombia hasta el norte de Argentina, desde los 2400 hasta 4300 msnm (Manrique *et al.*, 2014). Los tubérculos de mashua tienen un elevado contenido de proteínas (mayores a los de la papa, oca y olluco), carbohidratos, fibra y ácido ascórbico (vitamina C). También contienen una elevada concentración de glucosinolatos aromáticos y compuestos fenólicos antioxidantes (Chirinos *et al.*, 2007). La mashua es utilizada en medicina folklórica por sus propiedades antibióticas, insecticidas, nematocidas, anticancerígenas y diuréticas. La síntesis y acumulación de metabolitos secundarios en vegetales está directamente afectada por el estrés abiótico durante la etapa de cultivo y post-cosecha. Estos compuestos son sintetizados como mecanismos de defensa. También son utilizados como marcadores taxonómicos, pues confieren a grupos restringidos de plantas colores, olores y sabores característicos, y principalmente muchos poseen actividad nutracéutica (Cisneros-Zevallos, 2003).

El papel que cumplen los antioxidantes de frutas y verduras en la salud humana ha motivado la investigación de los fitonutrientes y la ciencia de los alimentos funcionales para determinar cómo su contenido y la actividad se pueden mantener o incluso mejorar a través de la creación de cultivares, prácticas de producción y elaboración de alimentos (Chirinos, *et al.*, 2007).

El consumo y la comercialización de la mashua son muy limitados, una de las razones podría ser el poco estudio científico del cultivo, razón por la cual no se valora sus propiedades bioactivas. Por ello, el objetivo del presente estudio es conocer cómo los componentes secundarios (glucosinolatos y carotenoides) se ven afectados por los tipos de almacenamiento post-cosecha (soleado, sombra y refrigeración)

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. LA MASHUA

La mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) es un miembro de la familia *Tropaeolaceae*. Presenta nombres vernaculares según lengua o dialectos, como Sisaño (Aymara), Añu, Isaño, Apiña, Ocaquisañu (Quechua), Capuchinha-Tuberosa (Portugués), Cubio, Mashwa, entre otros (Lim, 2016).

La mashua aparentemente se originó en los Andes centrales (latitud 10° a 20°S) (Arbizu y Tapia, 1994). Las evidencias arqueológicas sugieren que sus tubérculos eran consumidos desde hace más de 7500 años (Manrique *et al.*, 2013). Se cree que su cultivo se ha propagado por las migraciones precolombinas a Colombia (latitud 8°N) y al norte de Argentina y Chile (latitud 25°S). Actualmente, se cultiva en los Andes de Bolivia, Perú, Ecuador, Colombia y Venezuela (Gibbs *et al.*, 1978), el norte de Argentina y Chile (Arbizu y Tapia, 1994). También se está cultivando experimentalmente en Nueva Zelanda y en el Pacífico noroeste para evaluar su potencial para el cultivo en todo el mundo (Soria *et al.*, 1998; Chirinos *et al.*, 2007; National Research Council, 1989 citado por Cuya, 2009; Manrique *et al.*, 2013).

La mashua es una especie nativa andina de altitudes elevadas que se caracterizan por terrenos escarpados, vientos fuertes, suelos poco profundos y superficies de roca desnudas con un alto escurrimiento de agua. Se cultiva a altitudes de 2400 a 4300 msnm, más frecuentemente de 3000 a 3800 msnm, donde la temperatura anual oscila entre 8 y 11°C (Grau *et al.*, 2003). Es tolerante a heladas ligeras y soporta temperaturas de 30°C por breve tiempo y tiene una amplia tolerancia al pH del suelo de 5.3-7.5 (Torres *et al.*, 1992).

Es una planta herbácea, glabra en todas sus partes, de 0.5 a 2 m de altura, de crecimiento inicialmente erecto, que luego varía a semiprostrado, ocasionalmente trepadora, de tallos delgados y cilíndricos (Tapia *et al.*, 1996). Su ciclo de cultivo varía entre 6 y 9 meses,

llegando a producir rendimientos superiores a los de otras tuberosas andinas (Grau *et al.*, 2003; Manrique *et al.*, 2013). Los tubérculos se producen en estolones axilares que se agrandan para formar tubérculos terminales, alargados, cónicos o elipsoidales de 5-15 cm de largo y 3-6 cm de ancho en el extremo distal (Chacón, 1960). Los tubérculos son variables en color, blanco, amarillo, rojo, rosa o púrpura, a menudo rayados o moteados, rojos o morados, especialmente por debajo de los “ojos”. La pulpa del tubérculo suele ser amarilla, blanca o pálida, dependiendo de los cultivares (Lim, 2016). En el Perú se ha encontrado las siguientes variedades: “Okke-añu” (plomizo), “Yurac-añu” (blanco), “Yana-añu” (negruzco), “Puca-añu” (rojizo), “Checchi-añu” (gris), “Ckellu-añu” “Zapallu-añu” (amarillo) y “Muru-añu” (morado) (Chacón, 1960). En la Figura 1 se puede observar la planta de la mashua.



Figura 1: Dibujo de la planta de mashua.

FUENTE: Lim (2016)

Perú y Bolivia ocupan los primeros lugares en área de siembra, donde generalmente se cultiva en asociación con otros tubérculos, como la oca (*Oxalis tuberosa*), el ulluco (*Ullucus tuberosus*) y las papas (*Solanum tuberosum*), ello por su resistencia a nematodos, insectos y varias plagas, como el gorgojo de la papa (*Premnotrypes* spp.). Aunque el área de siembra de la mashua es mucho menor al de las otras tuberosas andinas, su cultivo no deja de ser importante, pues forma parte de la seguridad alimentaria de miles de familias campesinas en los Andes a través del autoconsumo o la generación de ingresos monetarios (Manrique *et al.*, 2013).

2.1.1. CONSUMO Y USOS TRADICIONALES

Los tubérculos de Mashua se consumen generalmente hervidos o cocinados, estos cultivos contienen isotiocianatos que les dan un sabor agudo y picante que recuerda a los rábanos calientes cuando se consumen crudos (Soria *et al.*, 1998). Son consumidos en guisos en combinación con carne, vegetales verdes, maíz, papas y hierbas, o solo como un vegetal cocido o frito (King y Gershoff, 1987). Los tubérculos también se mezclan con melaza y se comen como dulces; así en Bolivia y algunas partes del Perú, los tubérculos se recubren con melaza y se congelan para hacer un postre especial (National Research Council, 1989 citado por Grau *et al.*, 2003). En Bolivia, el isaño se come en un guiso, como asado u ocasionalmente se conserva en un proceso de secado similar a la producción de chuño de papas para preparar un producto llamado thayacha; para esta preparación, los tubérculos se exponen durante la noche a la helada y se comen al día siguiente mezclados en jarabe de sirope (Cárdenas, 1989). Además, con las hojas jóvenes y las flores se pueden preparar mates o comer como vegetales hervidos (National Research Council, 1989 citado por Grau *et al.*, 2003). En Colombia, la mashua se siembra como un cultivo complementario para repeler las plagas en los campos de papa. Su extraordinaria resistencia a plagas de insectos, nemátodos y bacterias se atribuye a altos niveles de isotiocianatos (Ortega *et al.*, 2006). También se ha sugerido que la mashua sea cultivada como alimento para el ganado debido a sus partes vegetativas altamente nutritivas (National Research Council, 1989 citado por Grau *et al.*, 2003). La gastronomía de Ecuador impulsa el consumo de mashua a través de sus platos típicos, algunos de ellos son: colada de mashua con leche (postre), cariucho uchito (guiso), locro de mashua y pan de mashua y oca (Espín, 2013).

2.1.2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

La mashua tiene la siguiente clasificación taxonómica según Robles (1981) y Font (1982):

División	: Espermatofita
Subdivisión	: Angiospermas
Clase	: Dicotiledóneas
Subclase	: Archidamideas
Orden	: Geraniales
Suborden	: Geraniínea
Familia	: Tropaeolaceae
Género	: <i>Tropaeolum</i>
Especie	: <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavón

2.1.3. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y NUTRICIONAL DEL TUBÉRCULO DE MASHUA

El contenido de agua de los tubérculos de mashua es relativamente alto, que va desde 79 hasta 94% de la materia fresca o comestible. La principal contribución de la mashua está en su contenido de carbohidratos, en particular de almidón, así también de azúcares. El contenido de proteína del tubérculo de la mashua, en base húmeda, se aproxima a los valores de la papa; aunque la papa es mucho más alta en contenido de materia seca. El análisis aminoacídico de las proteínas del tubérculo de mashua muestra una composición nutricional satisfactoria comparada con las recomendaciones de la WHO (*World Health Organization*) (Shat *et al.*, 1993 y Stegemann y Shah, 1993 citados por Grau *et al.*, 2003). Contienen todos los aminoácidos esenciales (mg/g de proteína): lisina 35-41 mg, treonina 22-24 mg, valina 25-46 mg, isoleucina 25-37 mg, leucina 35-43 mg, fenilalanina + tirosina 14 -37 mg, triptófano 4,7-5,3 mg y metionina + cistina 12-15 mg (National Research Council, 1989; citado por Lim, 2016). El aminoácido lisina es limitante en muchos cereales y leguminosas; sin embargo, la mashua contiene una elevada cantidad (Espinoza *et al.*, 2002, citados por Chan, 2015).

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

Cuadro 1: Composición química de 100g de mashua (porción comestible)

COMPONENTE	Sperling y King (1990)	Espin <i>et al.</i> (2001)	Reyes <i>et al.</i> (2009)
Agua (g)	87	88.70	87.4
Proteínas (g)	1.5	1.03	1.5
Grasa (g)	0.1	0.52	0.7
Carbohidratos totales (g)	9.7	8.52	9.8
Fibra cruda (g)	0.8	0.67	0.9
Cenizas (g)	0.5	0.54	0.6
Calcio (mg)	-	0.68	12
Fósforo (mg)	-	36.16	29
Hierro (mg)	-	-	1.00
Tiamina (mg)	-	-	0.10
Riboflavina (mg)	-	-	0.12
Niacina (mg)	-	-	0.67
Vitamina C (mg)	-	77.37	77.50

El contenido de provitamina A, expresado como equivalentes de retinol (RE), identificó a la mashua como la especie de tubérculo más rica en carotenos, con un nivel promedio de 73.56 RE / 100 g bh (Barrera *et al.*, 2004). El contenido nutricional de Mashua es bueno cuando se compara con otros cultivos de raíces y tubérculos consumidos en todo el mundo; sin embargo, no es tan apetecible como otros tubérculos y tiende a ser abandonado más fácilmente cuando la gente tiene acceso a otros alimentos.

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

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

Respecto a los glucosinolatos, contienen una elevada concentración del tipo aromáticos que al ser hidrolizados se transforman en isotiocianatos, compuestos químicos responsables de otorgar el típico sabor picante a los tubérculos. Los isotiocianatos son conocidos por sus propiedades antibióticas, insecticidas, nematocidas, anticancerígenas y diuréticas, lo que contribuye a sustentar el uso tradicional de la mashua en la medicina folklórica de los Andes (Manrique *et al.*, 2013). Pérez (2005) menciona que el consumo de mashua en las zonas de producción se da después de haber sometido la raíz a un proceso de soleado de aproximadamente 10 días. Del mismo modo Grau *et al.* (2003) señala que la práctica andina de exponer los tubérculos y raíces a la luz solar directa se utiliza también para la mashua, con el fin de aumentar la dulzura y reducir los niveles de cianuro antes de cocinarlos.

2.1.4. PROPIEDADES MEDICINALES Y NUTRACEUTICAS

Tradicionalmente se le atribuye a los isotiocianatos de la mashua propiedades antibióticas, insecticidas, nematocidas y diurética (Johns, 1981); así también tiene efecto benéfico sobre el hígado y riñones (Hodge, 1946 y Oblitas, 1969; citados por Grau *et al.*, 2003).

La mashua se usa en la medicina popular andina para tratar enfermedades renales, úlceras cutáneas, cálculos renales y para matar parásitos (Ortega *et al.*, 2006) y para reducir la función reproductiva en los hombres (Cárdenas-Valencia *et al.*, 2008).

Rea (1984) citado por Grau *et al.* (2003) reportó el uso de mashua por personas con diabetes, utilizando tanto el tubérculo cocido y el agua en el que fueron hervidos. Así mismo, Tapia *et al.* (1996) citados por Grau *et al.* (2003) lista varias aplicaciones medicinales, como el tratamiento de la amigdalitis, dengue, fiebre malaria y post-parto; sin especificar las partes de las plantas utilizadas.

Investigaciones recientes atribuyen a la mashua propiedades funcionales, debido a que las diferentes variedades presentan antocianinas, carotenoides, compuestos fenólicos, glucosinolatos, los cuales han sido relacionados con la incidencia de algunas enfermedades. El alto contenido de fenoles totales, antocianinas y carotenoides de algunos cultivares de mashua indican que este cultivo puede considerarse una importante fuente de antioxidantes protectores de la salud (Chirinos *et al.*, 2007). En otro estudio se confirma que los tubérculos de mashua constituyen una fuente prometedora de compuestos fenólicos antioxidantes, y potencialmente podrían ser considerados como un alimento funcional con efectos benéficos para la salud (Chirinos *et al.*, 2008a). Así también los compuestos fenólicos de la mashua podrían proporcionar una buena fuente de antioxidantes dietéticos que podrían ofrecer efectos protectores potenciales contra la oxidación de los lípidos y que podrían ser explotados por la industria alimentaria o cosmética (Chirinos *et al.*, 2008b). Aun mas, se ha evidenciado que la variedad morada presenta entre ocho a diez veces más capacidad antioxidante que la mashua amarilla (Chirinos *et al.*, 2008b).

2.1.5. PRODUCCIÓN NACIONAL

En la Figura 2, se muestra la producción nacional de mashua del 2000-2017. La mashua forma parte del grupo de cultivos menores, ya que su producción es solo de importancia local (Trivelli y Smith, 1997). La superficie de cosecha para el año 2000 fue 6700 ha y para el 2016 fue 4841 ha, y el rendimiento paso de 5.29 ton/ha a 6.84 ton/ha para los mismos años (Ministerio de Agricultura y Riego, 2018).

En el Cuadro 2 se muestra a los principales productores de mashua, notándose un incremento progresivo anual en Apurímac, Cuzco y Puno y una reducción anual en Junín y Huancavelica. Los productores de Junín después de evaluar la problemática de su baja productividad y calidad del cultivo en el 2015, presentaron y ganaron un proyecto al PNIA,

logrando incrementar al 2016 los niveles de productividad de la mashua negra de 8.0 ton/ha a 10.3 ton/ha, a través de la introducción de un manejo técnico de labores culturales, buenas prácticas de producción, manufactura y control biológico y manejo integrado de plagas y enfermedades (PNIA, 2017).

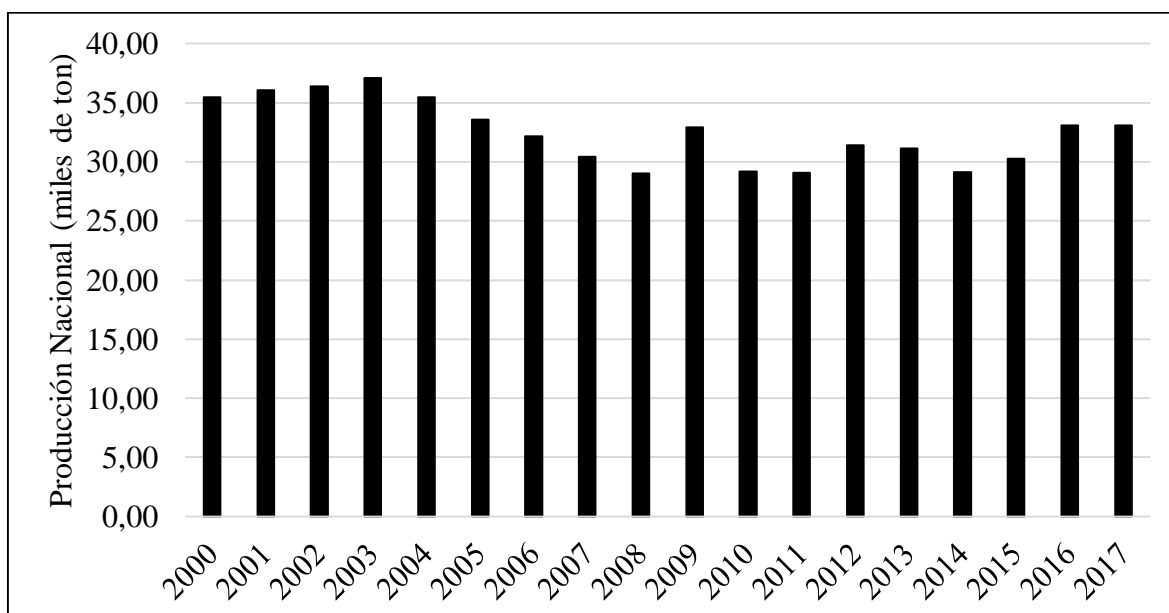


Figura 2: Producción Nacional de Mashua.

FUENTE: Ministerios de Agricultura y Riego (2018)

Cuadro 2: Departamentos de mayor producción de mashua (miles de ton)

AÑO	APURÍMAC	AYACUCHO	CUSCO	HUANCAVELICA	JUNÍN	PUNO
2000	5.12	5.07	4.85	4.11	9.58	4.30
2001	3.88	5.44	6.18	3.85	10.17	4.63
2002	4.95	4.15	6.53	3.23	9.34	5.89
2003	4.69	4.35	6.76	3.04	10.30	6.05
2004	3.23	4.15	6.76	1.87	9.18	6.20
2005	3.03	3.67	6.02	1.83	8.75	6.17
2006	2.14	3.01	6.93	0.92	7.83	6.56
2007	2.85	2.64	5.92	0.52	7.53	7.08
2008	2.64	3.99	6.36	0.37	6.59	6.31
2009	3.28	3.93	7.58	1.67	6.49	7.10
2010	2.34	3.70	6.77	1.65	6.13	6.14
2011	2.62	2.91	7.04	2.59	6.04	5.74
2012	4.12	4.19	7.13	1.95	5.67	6.58
2013	4.42	3.91	7.33	1.78	5.50	6.40
2014	4.06	3.96	7.22	1.41	4.15	6.72
2015	4.81	3.69	8.90	1.05	3.26	6.97

«Continuación»

2016	7.02	3.84	8.30	1.13	3.62	6.83
2017	6.76	5.60	7.17	0.70	3.41	7.37

FUENTE: Ministerio de Agricultura y Riego (2016). Datos actualizados a marzo del 2018.

2.2. POST-COSECHA

La post-cosecha es parte integral de la cadena alimentaria y se ubica desde que el producto es cosechado hasta que llega al consumidor para su consumo en fresco o hasta que el producto es utilizado como materia prima para su posterior procesamiento. En ese sentido es un área intermedia entre la producción agrícola y el procesamiento de alimentos, pero que requiere un enfoque integral y multidisciplinario debido a la complejidad de la logística involucrada que incluye preparación, mantenimiento, transporte y distribución de productos perecederos muchas veces a grandes distancias de los lugares de producción (Kader, 2011).

La post-cosecha es muy variable, consecuencia de distintos factores intrínsecos y extrínsecos de cada producto: especie, variedad, características físicas y bioquímicas, edad o estado de desarrollo, tipo de tejido u órgano, contenido de agua y comportamiento fisiológico, estructuras biológicas naturales de protección, nivel de sanidad, grado de madurez a que debe ser recolectado, la finalidad o uso a que será destinado como alimento en sí mismo o como materia prima industrial, las distancias entre los centros de producción y de consumo, las condiciones ambientales que lo rodean y rodearán, las medidas aplicables y los medios disponibles para su conservación en esta etapa postcultural (Planella, 1987).

Para el caso de la mashua no se ha investigado mucho sobre las prácticas post-cosecha. Las prácticas tradicionales estándar incluyen la limpieza de los tubérculos para eliminar el suelo (si se cosecha en suelo húmedo y arcilloso), la clasificación de los tubérculos según el tamaño y el color y la eliminación del material lesionado o magullado. Al igual que otros tubérculos, la mashua a menudo es almacenada en casas de campo. Al sur del Perú central los tubérculos se sostienen generalmente al aire libre y cubiertos con ichu seco, esta capa tiene algunos centímetros de espesor, lo suficiente para mantener los tubérculos en la oscuridad y aislarlos contra las heladas nocturnas (que son comunes después del período de cosecha) y altas temperaturas diurnas. La variación de temperatura por debajo de la capa es

pequeña y oscila mínimamente alrededor de la temperatura ambiente media (Grau *et al.*, 2003). En la Figura 3 se muestra como se realiza el almacenamiento de los tubérculos.

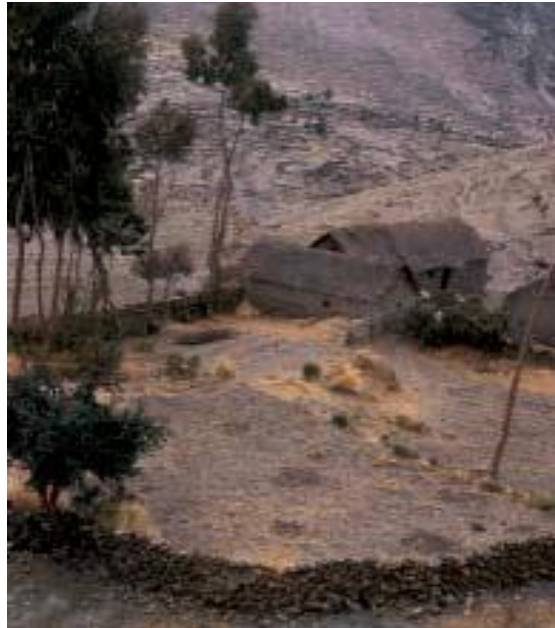


Figura 3: Almacenamiento post-cosecha de los tubérculos de mashua.

FUENTE: Grau *et al.* (2003)

2.3. ESTRÉS VEGETAL

El estrés es definido como un factor externo que ejerce una influencia favorable o desfavorable en la planta. El concepto de estrés está íntimamente asociado con el término tolerancia al estrés, que es la capacidad de la planta a enfrentarse a un ambiente desfavorable (Taiz y Zeiger, 2006). Se considera como estrés a cualquier factor ambiental que actúe sobre el vegetal cuando se desvía del nivel óptimo para el organismo en cuestión, pudiendo provocar daños o lesiones. Ocasionalmente se pueden usar factores de estrés como un factor positivo que ayuda a la producción agrícola (Salisbury y Ross, 2000).

Las respuestas celulares al estrés incluyen cambios en el ciclo y en la división, cambios en el sistema endomembranoso y cambios en la arquitectura de la pared celular. A nivel bioquímico las plantas alteran el metabolismo en varias formas para acomodarse al ambiente (Taiz y Zeiger, 2006). Las plantas a lo largo de su ciclo de vida, están expuestas a un gran número de factores estresantes, que pueden agruparse en bióticos y abióticos. El estrés

abiótico es el causado por la acción de seres vivos, animales pequeños o grandes, plantas; y agentes patógenos (bacterias, hongos, virus). El estrés abiótico que puede ser causado por agentes físicos o químicos; factores físicos como agua, luz solar, temperatura, viento, condiciones de suelo y heridas, y los factores químicos como elementos minerales, contaminantes ambientales y productos químicos (Azcón-Bieto y Talón, 2001).

2.3.1. ESTRÉS ABIÓTICO EN LA POST-COSECHA

Los cultivos cosechados pueden estar potencialmente expuestos a diversos estreses abióticos que afectan la calidad en la cadena de valor de los alimentos. Éstas incluyen pérdidas cualitativas y cuantitativas incluyendo pérdidas sensoriales y nutricionales (Gonzalez *et al.*, 2010). Según Kader (2011) el principal problema en la post-cosecha es el deterioro y la pérdida de calidad de las frutas y hortalizas. Los factores que aceleran el deterioro son la respiración, los cambios composicionales, el desarrollo y crecimiento, la pérdida de agua, la transpiración, el deterioro fisiológico y microbiano, temperatura, humedad relativa, composición atmosférica y luz. Al ser cortados de la planta madre, se les priva de los nutrientes principales y del agua. Durante la post-cosecha, utilizan sus recursos de carbono para la respiración; pierden agua debido a la transpiración y están expuestos a una serie de diferentes estreses abióticos. Su vida útil es corta, si no se aplica tecnología post-cosecha (por ejemplo, frío, bajo nivel de oxígeno, etc.) (Pedreschi y Lurie, 2015). Por lo tanto, la comprensión de los efectos del estrés abiótico sobre el terreno en la susceptibilidad al estrés post-cosecha son importantes, debido a que los esfuerzos post-cosecha están limitados al almacenamiento y la vida útil de los cultivos (Sánchez *et al.*, 2014).

Es así que se utiliza el estrés abiótico en actividades post-cosecha como herramienta tradicional para extender la vida útil de los productos, centrándose principalmente en cambios de color, textura y sabor. Entre los estreses utilizados durante la post-cosecha tenemos el cortado, atmósferas controladas y modificadas o gas etileno para la maduración. Estos factores abióticos pueden afectar los niveles de metabolitos secundarios en los tejidos de los cultivos durante la post-cosecha. El estrés abiótico afecta principalmente las vías involucradas en la síntesis de tres grupos principales de metabolitos secundarios: terpenos, compuestos fenólicos y compuestos nitrogenados (Cisneros-Zevallos, 2003). En la Figura 4 se muestra como los estreses ambientales controlados pueden modificar el metabolismo de

las frutas y hortalizas durante la post-cosecha. Para la mashua se ha investigado que almacenamientos superiores a 7 días después de la cosecha es perjudicial para el contenido de antocianinas y compuestos fenólicos, excepto para el contenido de los carotenoides, los cuales se mantienen casi constantes (Chirinos *et al.*, 2007). Así también el nivel de glucosinolatos en mashua durante el almacenamiento post-cosecha depende de la variedad y tiempo de cosecha, es así que se observó un incremento y disminución en la variedad amarilla, mientras que en la variedad de rayas moradas no hubo cambio significativo, almacenadas a 6°C (Ramallo *et al.*, 2004). Mientras que un almacenamiento post-cosecha en sol no generó cambio significativo en el nivel de glucosinolatos para mashua variedad morada (Moscol, 2013).

2.4. GLUCOSINOLATOS

2.4.1. ESTRUCTURA

Los glucosinolatos son metabolitos secundarios tioglucosídicos que se encuentran en las familias de las plantas angiospermas, principalmente en el orden Brassicales (Clarke, 2010, Muñoz *et al.*, 2010). Son aniones orgánicos solubles en agua que derivan del metabolismo de los aminoácidos y comparten una estructura básica común que consiste en un resto β -D-tioglucosa, un grupo oxima sulfonado y una aglicona variable (Wittstock y Halkier, 2002; Agerbirk y Olsen, 2012; Avato y Argentieri, 2015). La estructura general de los glucosinolatos se muestra en la Figura 5.

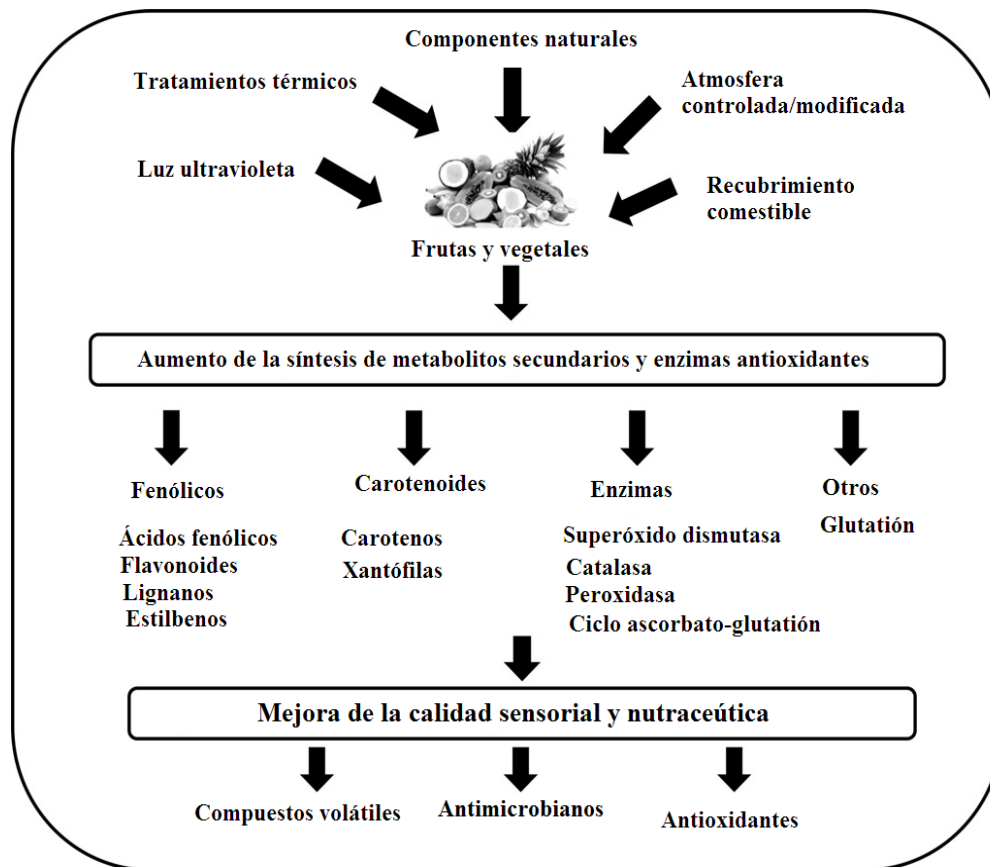


Figura 4: Efecto del estrés abiótico post-cosecha sobre los metabolitos.

FUENTE: Adaptado de Gonzalez *et al.* (2010)

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

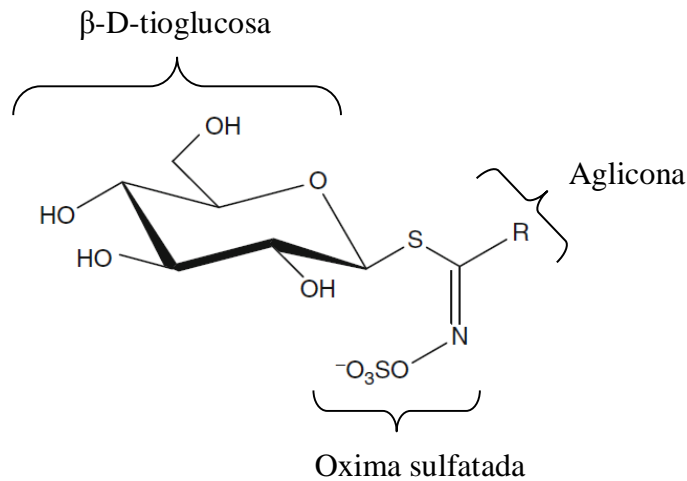


Figura 5: Estructura general del glucosinolato.

FUENTE: Adaptado de Avato y Argentieri (2015)

2.4.2. VÍA METABÓLICA DE LOS GLUCOSINOLATOS

La formación de glucosinolatos puede dividirse convenientemente en tres formas diferenciadas. En primer lugar, ciertos aminoácidos alifáticos y aromáticos son alargados insertando grupos metileno en sus cadenas laterales. En segundo lugar, el propio resto de aminoácido, ya sea alargado o no, se reconfigura metabólicamente para dar la estructura de núcleo de glucosinolatos. En tercer lugar, los glucosinolatos formados inicialmente se modifican mediante diversas transformaciones secundarias (Gershenzon y Halkier, 2006). La Figura 6 muestra la biosíntesis de la estructura central del glucosinolato, la cual es descrita a continuación

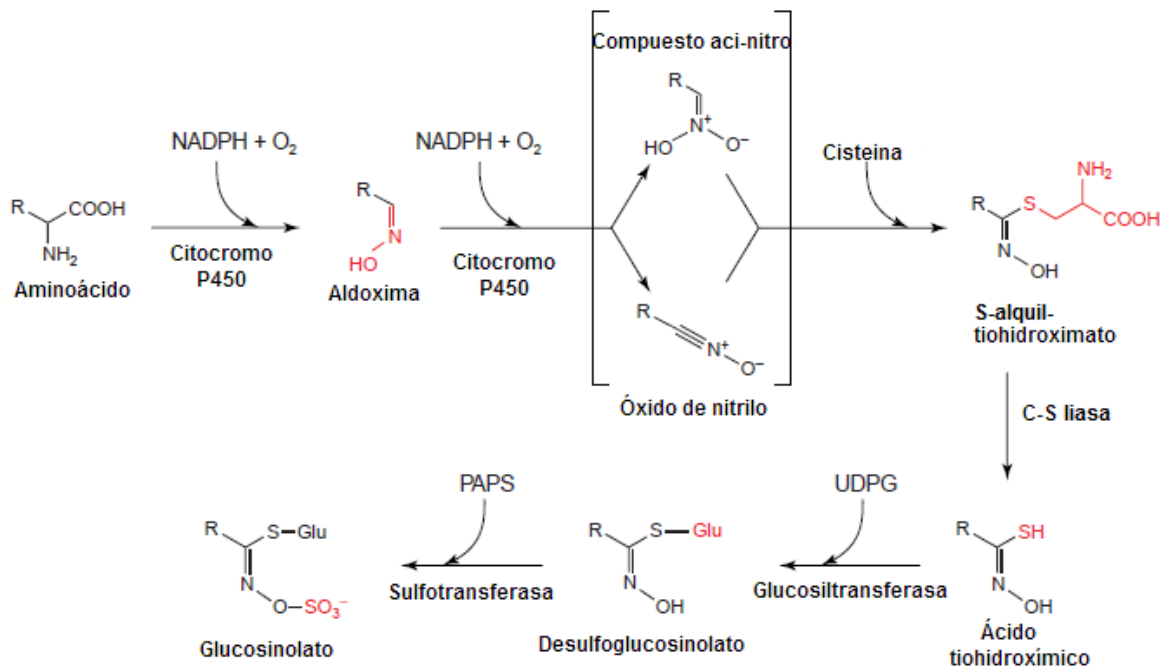


Figura 6: Biosíntesis de la estructura central del glucosinolato.

FUENTE: Adaptado de Wittstock y Halkier (2002)

a. ELONGACIÓN DE LA CADENA LATERAL DE AMINOÁCIDOS PRECURSORES

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

b. FORMACIÓN DE LA ESTRUCTURA CENTRAL DEL GLUCOSINOLATO

La primera etapa de la elongación de la cadena de la biosíntesis de glucosinolatos comienza en el citosol, y pasos posteriores se producen en el cloroplasto (Gershenzon y Halkier, 2006). Sin embargo, la formación de la estructura del núcleo tiene lugar en el citosol. Esto implica la necesidad de un transportador que pueda trasladar entre el citoplasma y las membranas de cloroplasto. Gigolashvili *et al.* (2009) han demostrado que el transportador del ácido biliar está involucrado en el transporte de ácido 4-metiltio-2-oxobutanoico y cetoácidos de cadena larga a través de la membrana de cloroplasto antes, durante y después de la elongación de cadenas laterales de cetoácidos. Una vez lograda la elongación del aminoácido se iniciará la formación de la estructura base, a través de la conversión del aminoácido a aldoxima inducida por el citocromo P450, el cual pertenece a la familia CYP79, y es responsable de catalizar esta conversión (Wittstock y Halkier, 2002). Al ser obtenida la aldoxima, otro citocromo P450 que pertenece a la familia CYP83 produce una forma oxidada de la oxima, conocido como compuesto acinitro, el cual presenta una gran inestabilidad, este reacciona eficientemente con los donadores de azufre (S) y forma el S-alquiltiohidroximato. Esto sugiere que esta reacción debe estar controlada por una glutatión-S-transferasa la cual logrará la conjugación del compuesto con un donador de azufre (Hansen *et al.*, 2001). De esta forma el S-alquiltiohidroximato es metabolizado por la enzima C-S liasa que actúa sobre el compuesto produciendo ácido tihdroxímico. Consecuentemente, los tihdroximatós formados experimentan una reacción de glucosilación catalizada por la glucosiltransferasa para generar desulfoglucosinolatos, el que posteriormente será sulfatado por la acción de la enzima desulfoglucosinolato sulfottransferasa, obteniéndose así la estructura final del glucosinolato (Piotrowski *et al.*, 2004).

c. MODIFICACIONES SECUNDARIAS DE GLUCOSINOLATOS

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

2.5. SISTEMA MIROSINASA-GLUCOSINOLATO

La mirosinasa (tioglucósido glucohidrolasa, E.C. 3.2.3.147) está presente en todas las plantas que contienen glucosinolatos (Fenwick *et al.*, 1983). El complejo enzimático glucosinolato-mirosinasa, denominado de otra forma la “bomba de aceite de mostaza”, es un sistema bioquímico muy complejo, caracterizado por la ubicación de la mirosinasa y su sustrato a nivel celular y subcelular en compartimientos separados (Yan y Chen 2007; Oerlemans *et al.*, 2006; Kissen *et al.* 2009), como se demostró en *Arabidopsis*, por la identificación de células ricas en sulfuro entre el floema y la endodermis del pedúnculo de la flor, las cuales presumiblemente contenían altas concentraciones de glucosinolatos (Oerlemans *et al.*, 2006). Las mirosinasas se expresan en “células de mirosina” específicas en estrecha proximidad a las células que acumulan glucosinolatos, mientras que, a nivel subcelular, tanto la mirosinasa como los glucosinolatos se almacenan en la vacuola (Yan y Chen 2007; Kissen *et al.* 2009; Becker, 2015). En la Figura 7 se muestra la localización de los componentes del sistema glucosinolato-mirosinasa.

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

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

La hidrólisis de glucosinolatos es el proceso de escisión del enlace glucosídico por la mirosinasa, dando como resultado una molécula de glucosa y un tiohidroximato-O-sulfato inestable que se reorganiza espontáneamente (Bones y Rossiter, 1996; Oerlemans *et al.*, 2006; Angelino y Jeffery, 2014; Becker, 2015) para producir compuestos biológicamente activos como por ejemplo isotiocianatos, tiocianatos, tiones, epitionitrilos y nitrilos, a partir

del cual los isotiocianatos e indoles en particular, han sido relacionados con propiedades anticancerígenas (Oerlemans *et al.*, 2006). La formación de estos productos depende de varios factores, entre los factores intrínsecos se puede citar, la coexistencia de la mirosinasa y cofactores como el ácido ascórbico, proteína epitoespecificadora (ESP), la estructura de la cadena del glucosinolato, sustrato o disponibilidad de iones ferrosos y como factores extrínsecos, el pH y la temperatura, pueden afectar la hidrólisis de glucosinolatos (Bones y Rossiter, 1996; Oerlemans *et al.*, 2006), algunos de estos factores están representados en la Figura 8. Al respecto, los métodos de procesamiento, tales como el corte y cocción pueden influir en el grado de hidrólisis de glucosinolatos y la relación de los derivados producidos (Rungapamestry *et al.*, 2006).

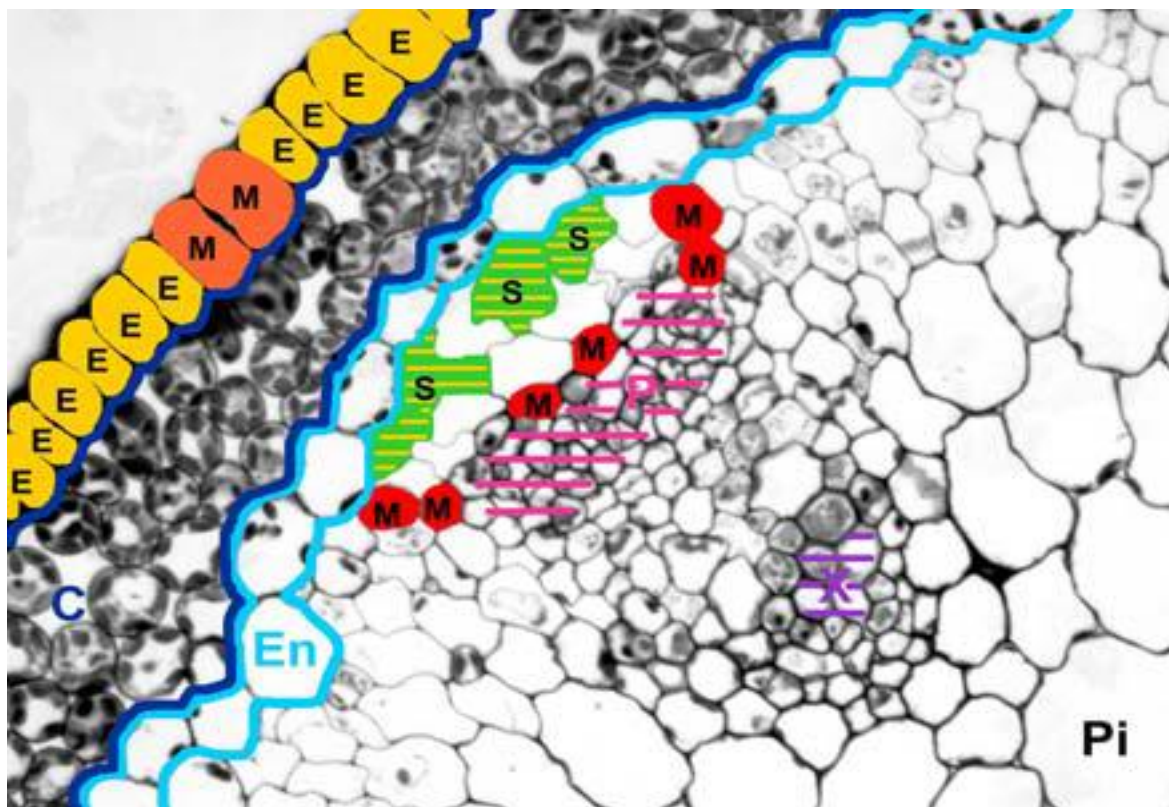


Figura 7. Representación de la localización de los componentes del sistema glucosinolato-mirosinasa superpuesto en una porción de una sección transversal del tallo de flor de *Arabidopsis thaliana*.

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

FUENTE: Adaptado de Kissen *et al.* (2009)

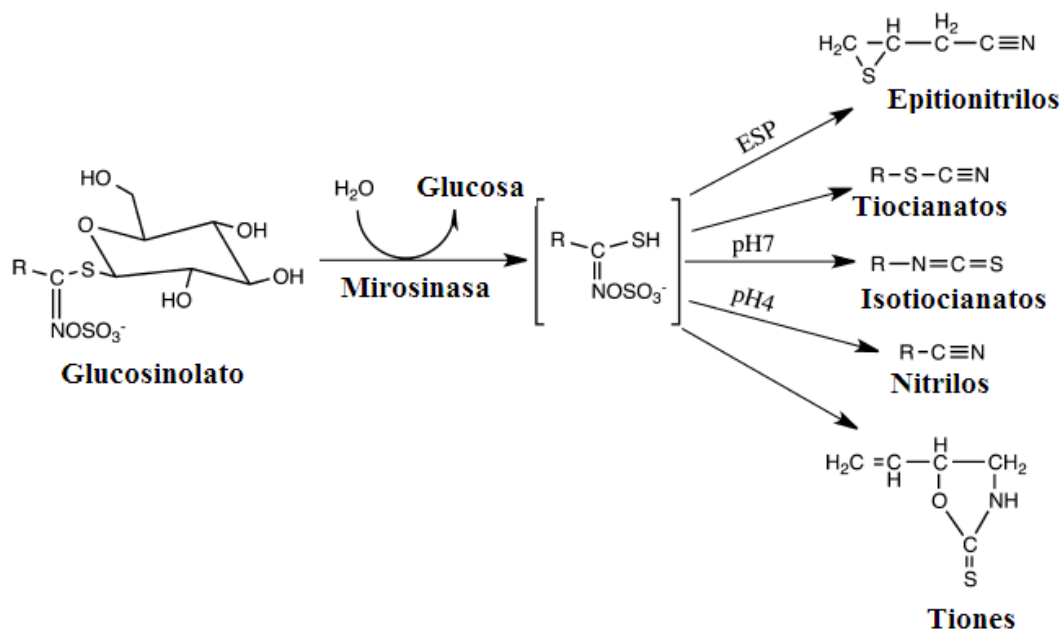


Figura 8: Hidrólisis de glucosinolato-mirosinasa y algunos de los compuestos formados bajo diferentes condiciones de pH y la influencia de las proteínas epitoespecificadoras (ESP).

FUENTE: Adaptado de Bell y Wagstaff (2014)

2.5.1. EFECTO ANTINUTRICIONAL DE LOS ISOTIOCIANATOS

La presencia de glucosinolatos en la torta de extracción de aceite de semillas oleaginosas de las crucíferas reduce significativamente la calidad de la alimentación del ganado (Laurberg *et al.*, 2002) cuando se consume en concentraciones altas. Eso se debe a la hidrólisis de compuestos β -hidroxialquil glucosinolato (Progoitrina, glucosinolato en menor concentración en las hojas de *Brassica napus*) que pueden producir oxazolidina-2-tionas tales como goitrina (5-viniloxazolidina-2-tiona). En gran medida atribuida a la condición tiroidea del bocio en los mamíferos, pero se piensa que la acción de la microflora en el intestino mediaría los problemas asociados con la alta ingesta de oxazolidina-2-tiona. Dicho esto, las oxazolidina-2-tionas interfieren con Tiroxina y, por tanto, es probable que tengan un efecto biológico adverso independientemente de la acción de la microflora intestinal o del estado de yodo corporal. Sin embargo, un estudio demostró que estos compuestos no son teratogénicos o embriotóxicos (Bell y Wagstaff, 2014).

Los tiocianatos, que también pueden derivarse de glucosinolatos, pueden tener actividad goitrogénica actuando como competidores de yodo. Las mirosinasas vegetales no son importantes para estos efectos antinutricionales, debido a que las bacterias intestinales tienen suficiente actividad tioglucosidasa para degradar los glucosinolatos. Sin embargo, no hay evidencia de ningún efecto goitrogénico en seres humanos por el consumo de brassicas (Mithen, 2001).

2.5.2. EFECTO ANTICANCERIGENO DE LOS ISOTIOCIANATOS

Muchos estudios han contribuido a la incorporación de agentes dietéticos como formas de remediación del cáncer. Las verduras crucíferas se enriquecen con varios componentes químicos que tienen enormes efectos negativos sobre múltiples vías de las células cancerosas debido a sus propiedades anti-proliferativas y anti-tumorígenas (Royston y Tollefsbol, 2015). Estudios epidemiológicos extensos revelaron repetidamente una relación inversa entre el consumo de crucíferos vegetales y la incidencia de cáncer en varios órganos (Lam *et al.*, 2009; Bhattacharya *et al.*, 2009). El consumo de estas verduras es beneficioso en el sentido de que son precursores de glucosinolatos que dan lugar a isotiocianatos tales como sulforafano e indoles como indol-3-carbinol. Los isotiocianatos influyen directamente en las enzimas de biotransformación y por lo tanto modifican el metabolismo de los compuestos carcinógenos (Lawson *et al.* 2015). También pueden actuar mediante la inhibición de la proliferación celular y la inducción de la apoptosis (Brown y Hampton, 2011).

La mayoría de los cánceres se caracterizan por la sobreexpresión de histonas desacetilasas y metiltransferasas y la mala expresión de MicroRNAs. Tanto el indol-3-carbinol como el sulforafano son inhibidores y reguladores de estos procesos y la incorporación de estos compuestos hace que las líneas celulares cancerosas adopten una apariencia más sana y normalizada. Además, se observan disminuciones significativas en el crecimiento celular no controlado así como aumentos en la muerte celular programada con la incorporación de sulforafano e indol-3-carbinol. Muchos estudios revelan que las verduras crucíferas son instrumentos clave para avanzar en el progreso hacia la prevención del cáncer (Royston, y Tollefsbol, 2015).

Las dietas ricas en brócoli se han asociado con una reducción en el riesgo de cáncer a la próstata, que se ha atribuido al compuesto sulforafano. Aunque el modo de acción del sulforafano ha sido ampliamente estudiado en modelos celulares y animales y se ha propuesto múltiples mecanismos que podrían sustentar sus efectos protectores, la evidencia reciente de estudios de intervención humana sugiere que el sulforafano está involucrado en una compleja interacción entre el estado redox y metabolismo para dar lugar a un entorno del tejido que no favorece la progresión del cáncer de próstata (Traka *et al.*, 2014).

El 3-butenil isotiocianato extraído con una pureza >90 por ciento de la mostaza roja exhibió una actividad anticancerígena entre las diferentes líneas celulares de cáncer humano. Entre éstas, las células de cáncer de próstata, mostraron una gran sensibilidad frente a este compuesto. La vía implicada en la muerte celular de las células de cáncer de próstata se evaluó utilizando una serie de ensayos y se concluyó que las células fueron sacrificadas después de la apoptosis. La potente actividad anticancerígena del isotiocianato de 3-butenilo lo convierte en un candidato adecuado para el estudio con modelo animal (Arora *et al.*, 2016). El modo de acción de este isotiocianato se muestra en la Figura 9.

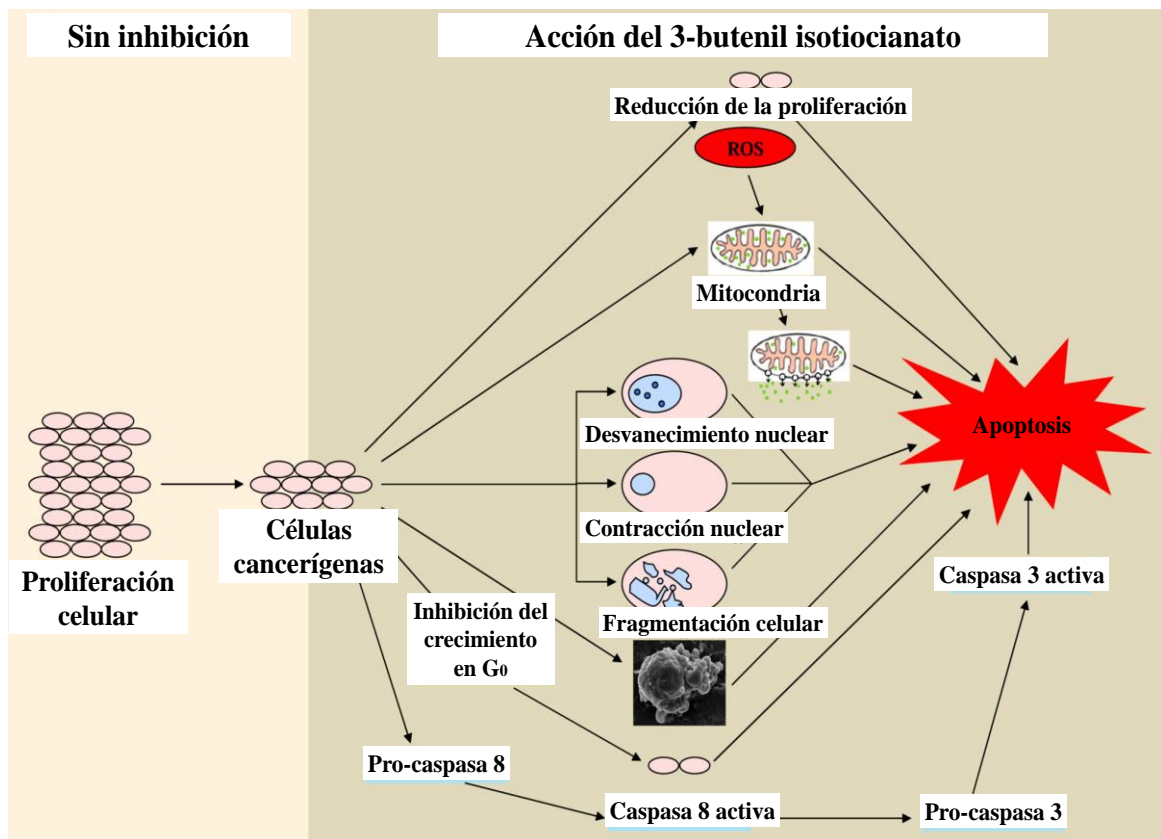


Figura 9: Mecanismo de acción del 3-butenil isotiocianato.

FUENTE: Adaptado de Arora *et al.* (2016)

2.6. CAROTENOIDES

Los carotenoides son los segundos pigmentos naturales más abundantes en la tierra, con más de 750 miembros (Nizar *et al.*, 2015). Pero sólo unos 50 tienen actividad pro-vitamina A. De los cuales los precursores más importantes en humanos son tres: el α -caroteno, la β -criptoxantina y el β -caroteno, que son los principales componentes pro-vitamina A de la mayoría de los alimentos que contienen carotenoides (Noviendri *et al.*, 2011). Los carotenoides de las plantas son isoprenoides de 40 carbonos con cadenas de polieno que pueden contener hasta 15 enlaces dobles conjugados (Hirschberg, 2001; Cazzonelli y Pogson, 2010). Los carotenoides de los alimentos principalmente se encuentran en forma de trans, y los hidroxicarotenoides en la forma libre (Juárez *et al.*, 2005). Los carotenoides varían de incoloro a amarillo, naranja y rojo, con variaciones reflejadas en muchas frutas, flores y verduras, que también contribuyen a su valor económico. Varios ejemplos llamativos incluyen β -caroteno de zanahorias y camotes, licopeno de tomates y sandía, capsantina y capsorubina de pimientos rojos, y luteína de flores de caléndula (Nizar *et al.*, 2015). Estos compuestos también presentan una gran relevancia para la nutrición y la alimentación humana, y la industria correspondiente, debido a su capacidad antioxidante y como precursores de la vitamina A, además de su utilización como colorantes en alimentos y suplementos nutricionales (Fraser y Bramley, 2004).

2.6.1. ESTRUCTURA

Los carotenoides pertenecen a la enorme familia de terpenoides y, en consecuencia, se componen de las unidades de cinco carbonos 2-metil-1,3-butadieno, también conocido como isopreno. Los carotenoides son tetraterpenoides, que están compuestos de ocho precursores condensados de isopreno de 5 carbonos, que generan un esqueleto lineal de cuarenta carbonos (Figura 10) (Domonkos *et al.*, 2013). El número de dobles enlaces conjugados determina el cromóforo y el espectro de absorción de la molécula y, por lo tanto, su coloración (Fraser y Bramley, 2004).

Pueden dividirse en dos grupos: las xantofilas, aquellas moléculas que contienen oxígeno, como luteína y zeaxantina; y carotenos, moléculas no oxigenadas como el β -caroteno, α -

caroteno y el licopeno; entre la gran cantidad de carotenoides descritos, sin duda los más estudiados son los mencionados anteriormente (Shen *et al.*, 2009; Muñoz *et al.*, 2010).

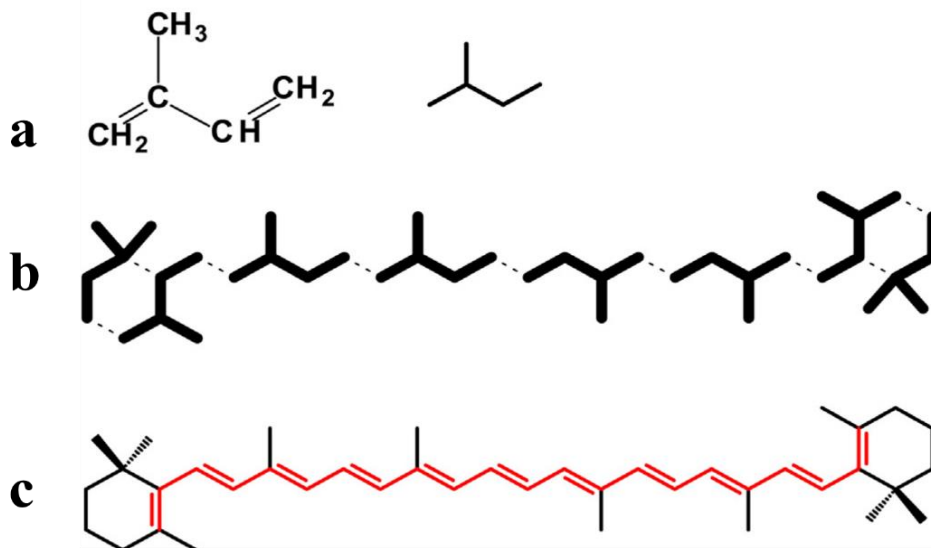


Figura 10: a) Isopreno, 2-metil-1,3-Butadieno, b) β -Caroteno está compuesto de ocho unidades de isopreno de cinco carbonos y c) En la estructura del β -Caroteno encontramos once dobles enlaces conjugados.

FUENTE: Domonkos *et al.* (2013)

2.6.2. PROPIEDADES Y FUNCIONES DE LOS CAROTENOIDES

Los carotenoides son pigmentos liposolubles responsables del color de una amplia variedad de alimentos. Debido a sus propiedades químicas, los carotenoides son componentes esenciales de todos los organismos fotosintéticos (bacterias, algas y plantas), así como en algunas bacterias y hongos no fotosintéticos (Nizar *et al.*, 2015). Se encuentran en los tejidos vegetales formando parte del sistema fotosintético, disueltos en gotitas de aceite, o como sólidos unidos a membranas en forma semicristalina. Estas diferencias en la localización y forma, afectan considerablemente la absorción, y explican la aparente mayor absorción del beta caroteno a partir de frutos anaranjados (donde se encuentra formando parte del sistema fotosintético) (Juárez *et al.*, 2005).

Casi todos los carotenoides, en mayor o menor grado, muestran propiedades de barrido contra un número excesivo de radicales libres que pueden producirse a lo largo del ciclo de

vida de una célula (Santocono *et al.*, 2007), que se producen durante la fotosíntesis, la respiración, o ante distintos tipos de estreses (Hannoufa y Hossain, 2012). Las especies reactivas de oxígeno (ROS) pueden provocar daños importantes en las células, afectando a la estructura de proteínas, lípidos, carbohidratos y ADN, lo que se conoce como daño oxidativo (Gill y Tuteja, 2010). El daño oxidativo se manifiesta cuando la concentración de ROS excede a la capacidad de la célula de eliminarlas, como ocurre por ejemplo cuando se someten las plantas a un exceso de luz. El comportamiento antioxidante de los carotenoides depende estrechamente de su estructura química, concentración y localización (Edreva, 2005); así, la capacidad antioxidante de los carotenoides está determinada por el número de dobles enlaces conjugados que posee, siendo mayor en el caso del licopeno (11), seguido por el β -caroteno (9 más dos en los anillo β), luteína y α -caroteno (9 más uno en el anillo β) y las xantofilas violaxantina y neoxantina (9) (Meléndez-Martínez *et al.*, 2007).

Los animales, invertebrados y vertebrados, carecen de la capacidad para sintetizar los carotenoides de novo y dependen de las plantas en su dieta como fuentes de carotenoides. Además, los investigadores han demostrado que las dietas altas en carotenoides proporcionan numerosos beneficios para la salud (por ejemplo, promover el desarrollo ocular saludable, la prevención de diversos tipos de cáncer, degeneración macular, enfermedades cardíacas y otras enfermedades relacionadas con la edad (Ip *et al.*, 2013).

La composición cualitativa y cuantitativa de carotenoides de los alimentos varía considerablemente. Un determinado alimento también tendrá variación composicional debido a factores tales como variedad o cultivar, el tiempo de maduración, el genotipo, las técnicas de cultivo y las condiciones climáticas que ocurren durante el período previo a la cosecha y parte de la planta utilizada (Kimura *et al.*, 2007; Tavarini *et al.*, 2008; Kamffer *et al.*, 2010).

2.6.3. VÍA METABÓLICA DE LOS CAROTENOIDEOS EN LAS PLANTAS

La biosíntesis de carotenoides tiene lugar en los plástidos, ya sea cloroplastos de tejidos verdes (fotosintéticos), o cromoplastos en los órganos o tejidos coloreados (flores y frutos, principalmente) (Rodríguez-Concepción, 2010; Hemmerlin *et al.*, 2012; Moise *et al.*, 2013). Derivan de sucesivas condensaciones de las dos formas interconvertibles de isopreno activo:

el isopentenil difosfato (IPP) y su isómero dimetilalil difosfato (DMAPP). Estos precursores provienen de dos vías metabólicas, la primera y más conocida es la vía acetato-mevalonato (MVA) que se desarrolla en el citosol. La segunda es la vía gliceraldehído 3-fosfato (MEP), conocida como la vía 1-desoxi-D-xilulosa-5-fosfato (DXP) que tiene lugar en los plastidios. A partir de estos se sintetiza un diverso grupo de compuestos que incluye a los tocoferoles, clorofilas, fitohormonas y monoterpenos (Nisar *et al.*, 2015; Cuttriss *et al.*, 2011; Eskin y Hoehn, 2013). Condensaciones consecutivas de estos precursores forman el geranylgeranildifosfato (GGPP), dos de estas moléculas se requieren para la formación del 15-*cis*-fitoeno, el primer hidrocarburo C₄₀, el cual es incoloro, a partir del cual se derivan los carotenoides coloreados mediante desaturaciones consecutivas de la molécula. Cuatro enlaces dobles se introducen en el fitoeno a través de dos enzimas filogenéticamente relacionadas: fitoeno desaturasa (PDS) y ζ -caroteno desaturasa (ZDS). Estas enzimas catalizan dos reacciones de deshidrogenación simétricas que convierten el 15-*cis*-fitoeno en tetra-*cis*-licopeno (Eskin y Hoehn, 2013; Nisar *et al.*, 2015). La etapa final es la ciclación del licopeno, en las plantas, todo el licopeno es el sustrato preferido para las ciclasas. La ciclación del licopeno es un paso crucial en el metabolismo de los carotenoides y genera diversidad de carotenoides (Nisar *et al.*, 2015). Esta etapa divide la vía en dos rutas que se caracterizan por el grupo cíclico beta (β) o épsilon (ϵ). Las moléculas con dos anillos beta forman la rama (β , β) que comprende al β -caroteno y sus derivados. Con un anillo beta y uno épsilon se forma la rama (β , ϵ) que incluye al α -caroteno y sus derivados (Cuttriss *et al.*, 2011; Hannoufa y Hossain, 2012).

Las xantofilas se sintetizan a partir de los carotenos. La introducción de un grupo hidroxilo por una β -hidroxilasa en cada anillo del β -caroteno lleva a la producción de zeaxantina, mientras que se requiere la acción de una ϵ -hidroxilasa sobre el α -caroteno para la formación de luteína. A partir de la zeaxantina se forma otra xantofila, la violaxantina, via la zeaxantina epoxidasa (Cuttriss *et al.*, 2011). Bajo un alto estrés lumínico, la violaxantina de epoxidasa cataliza la epoxidación de la violaxantina de nuevo a zeaxantina (Pfündel y Bilger 1994). Violaxantina se convierte en neoxantina por neoxantina sintasa (Cuttriss *et al.*, 2011). La neoxantina es el último carotenoide de la rama β , β de la vía carotenoide en plantas superiores. Tanto la 9-*cis*-neoxantina como la 9-*cis*-violaxantina pueden escindirarse por la 9-*cis*-epoxicarotenoide dioxigenasa (NCED), y estos productos de escisión se modifican adicionalmente para producir ácido abscísico (Schwartz *et al.*, 1997, Seo y Koshiba, 2002),

una fitohormona sintetizada como respuesta al estrés oxidativo que acelera la maduración y abscisión de los frutos (Barceló *et al.*, 2009), estas reacciones se muestran en la Figura 11.

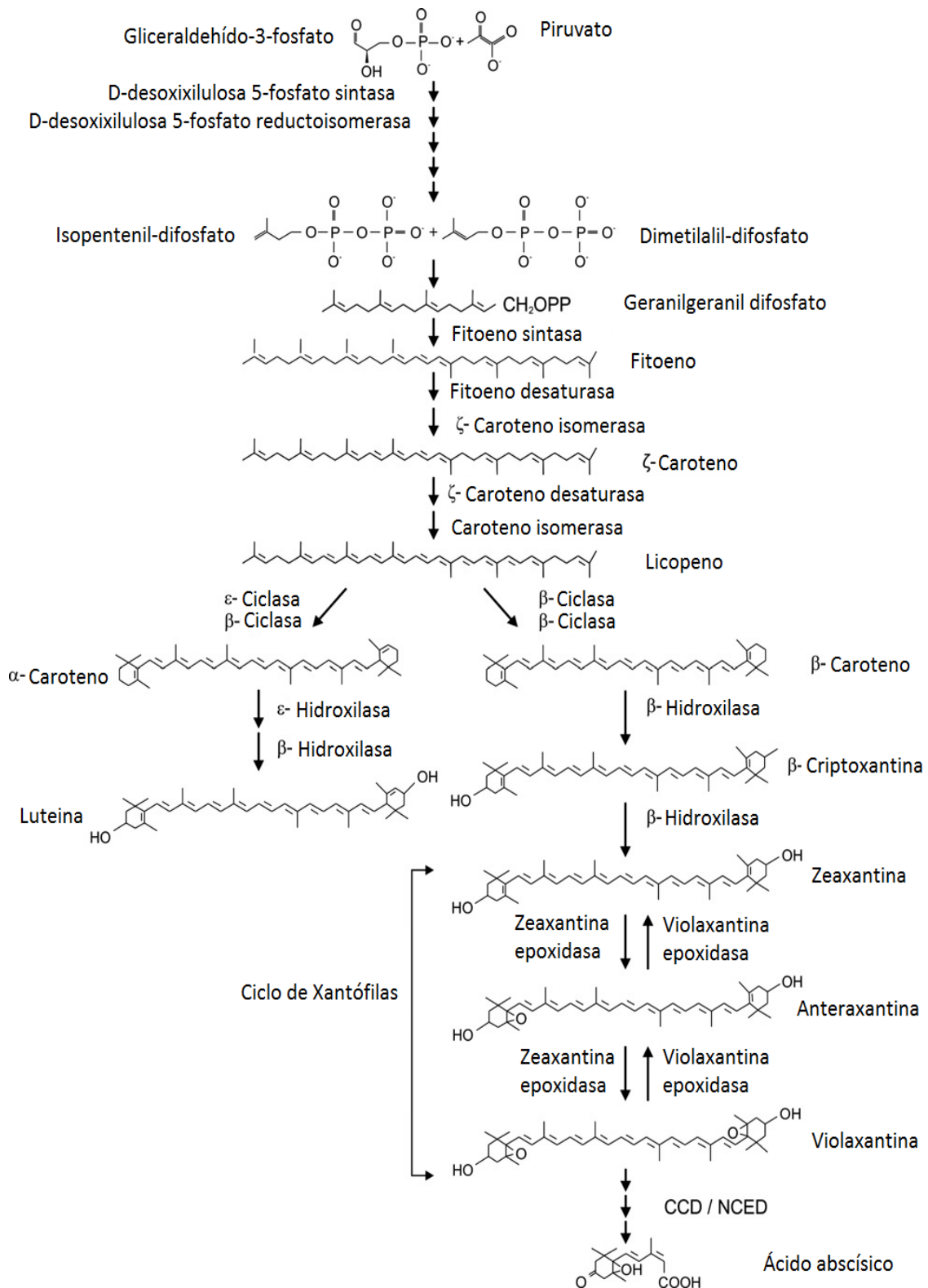


Figura 11: Ruta de biosíntesis de los principales carotenoides en las plantas.

FUENTE: Adaptado de Hannoufa y Hossain (2012)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

La presente investigación se realizó en las instalaciones del Instituto de Biotecnología-Área Biotecnología Industrial & Bioprocesos de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).

3.2. MATERIA PRIMA

Se trabajó con la accesión de mashua ARB 5241 (CIP 203021). Los tubérculos fueron colectados en la Provincia de Jauja, del Distrito de Apata, Anexo de La Nueva Esperanza, Barrio Miravalle, ubicada a 3384 msnm de altitud, 11°46'45.89"S de latitud y 75°29'45.00"W de longitud.

3.3. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

3.3.1. MATERIAL DE LABORATORIO

- Materiales de vidrio: vasos de precipitado, fiolas, matraz erlenmeyer, probetas, tubos de ensayo, de diversos volúmenes, bagueta, etc.
- Micropipetas de 20-200 μL , 100-1000 μL y 500-5000 μL
- Otros: gradilla, papel filtro whatman, filtros Millipore de 0.22 μm , Eppendorf de 1.5 y 2mL, tubos falcon de 15 y 50 mL, etc.

3.3.2. REACTIVOS

- Acetato de sodio (Merck, Alemania)
- Acetonitrilo grado HPLC (Fermont, México)
- Alcohol metílico (p.a. J.T. Baker, USA)
- Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (EMD Chemicals, USA)
- Enzima sulfatasa (S9626-10KU, Sigma, USA)
- Etanol (Fermont, México)
- Fosfato de potasio monobásico (Fermont, México)
- Fosfato de sodio dibásico (Merck, Alemania)
- Gel DEAE Sephadex A-25 (GE Healthcare, Suecia)
- Estándares: Sinigrina (Sigma, USA), Glucotropaeolina (Sigma, USA), β -caroteno (Sigma, USA).
- Hexano (p.a. J.T. Baker, USA)
- Acetona (p.a. J.T. Baker, USA)
- Cloruro de metileno (p.a. J.T. Baker, USA)
- Cloruro de metileno grado HPLC (Fischer Scientific, USA)
- Cloruro de sodio (Merck, Alemania)
- Hidroxido de potasio (Mallinckrodt, Suecia)

3.3.3. EQUIPOS

- Agitador magnético (CAT, Modelo M6, Alemania)
- Agitador vortex (VELP Scientifica, Modelo F202A0175, Italia)
- Balanza analítica (OHAUS, Modelo AR2140, U.S.A.)
- Baño maría con agitación (GFL, Modelo 1083, Alemania)
- Bomba de vacío (Vacubrand, Modelo ME2C, Alemania)
- Cabina extractora (C4, Modelo CEX150, Colombia)
- Centrífuga (Hettich Zentrifugen, Modelo Rotofix 32, Alemania)
- Centrífuga refrigerada (Hettich Zentrifugen, Modelo Mikro 220R, Alemania)
- Cocina eléctrica (Magefesa, Modelo MGF811, España)
- Congeladora (Electrolux, Modelo H300, Brasil)

- Cromatógrafo líquido de alta performance (HPLC) (Modelo 2695) con detector de arreglo de diodos (DAD) (Modelo 2996) (Waters, USA)
- Destilador automático (GLF, Modelo 2008 N° 1114511I, Alemania)
- Espectrofotómetro (Thermo Spectronic, Modelo Genesys 20, USA)
- Espectrofotómetro de microplacas UV/VIS (Biotek, Modelo EONC, U.S.A.)
- Horno microondas (Samsung, Modelo N°AME 610B, Tailandia)
- Liofilizador (Labconco, Modelo 117, USA)
- Potenciómetro (Thermo-Orion, Modelo Star A211, USA)
- Refrigeradora (LG, Modelo P/No 3850JD2244B, Corea)
- Rotavapor (Buchi, Modelo CH-9230 Flawil 1, Suiza)
- Selladora (Machintek Seaer, Modelo KF-300H, USA)
- Sistema de purificación de agua (Millipore, Modelo Simplicity UV, Francia)
- Ultracongelador (Ilshin, Modelo DF8517, Corea)
- Ultrasonido (Bransonic, Modelo 3510 R-DTH, México)

3.4. MÉTODOS DE ANÁLISIS

3.4.1. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD Y MATERIA SECA

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

3.4.2. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE GLUCOSINOLATOS

Los glucosinolatos se extrajeron de acuerdo con el método descrito por Verkerk *et al.* (2001) con algunas modificaciones.

Se pesaron 0.5 g de mashua liofilizada en polvo en un tubo de 50 mL y se añadieron 10 mL de metanol al 70 por ciento caliente (75 °C). Las muestras se incubaron a 75 °C durante 30 minutos en baño maria. La mezcla se centrifugó a 1520 x g por 10 min a 4°C y el

sobrenadante se decantó en otro tubo. La extracción se repitió a partir del precipitado usando el mismo procedimiento. Los dos sobrenadantes se combinaron y se añadieron 2 mL del extracto de glucosinato a una columna cromatográfica conteniendo dietilaminoetanol (DEAE) Sephadex A-25 activada con 20 mM de acetato de sodio, y desulfatada por sulfatasa. Después de la reacción a temperatura ambiente durante 18 horas, los glucosinatos desulfatados se eluyeron con agua milliQ hasta un volumen final de 5 mL. El eluido se concentró a 40 °C por un tiempo de 150 minutos y se almacenó a -20 °C antes del análisis de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Para realizar el análisis por HPLC se usó el detector PAD a una longitud de onda de 229 nm. La separación se hizo sobre un módulo de separación (Waters) equipado con un autoinyector, un PAD y el software Empower. Se empleó una columna XBridge Shield RP18 (5 µm, 250 mm, 4.6 mm DI.) y un guarda columna (5 µm, 2.0 mm, 4.6 mm DI.) a 28 °C. Se utilizó como estándar al glucosinato glucotropaeolina. La separación de los desulfoglucosinatos se realizó mediante un sistema isocrático utilizando como solvente agua:acetonitrilo (98:2, v/v). El tiempo que duró la corrida fue de 40 minutos. El volumen de la muestra inyectada fue de 20 µL y el flujo de la corrida de 0.5 mL/min. Las muestras y las fases móviles fueron filtradas a través de un filtro de 0.22 µm, tipo GV (Millipore) previo a la inyección al HPLC. Finalmente los glucosinatos fueron cuantificados como µmol glucotropaeolina equivalente/g de muestra (bs.).

3.4.3. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD MIROSINASA

Se utilizó la metodología descrita por Li y Kushad (2005) con algunas modificaciones.

El método se basó en la determinación de la actividad enzimática de la mirosinasa a través de la evaluación de la velocidad de hidrólisis del estándar sinigrin. La muestra (0.25 g) se trató con 5 mL de Buffer A (EDTA 0.5 mM, ácido ascórbico 0.25 mM en buffer fosfato 33.3 mM pH 6.5) a 4 °C con agitación durante una hora, luego se centrifugó a 3420 g a 4 °C por 20 minutos, se recuperó el sobrenadante y se filtró en papel filtro lento. Se purificó 1.5 mL del extracto en membrana de celulosa dentro del buffer fosfato de 33.3 mM pH 6.5 (1:100, v/v), a 4 °C por 16 horas. La muestra purificada se diluyó con buffer fosfato 33.3 mM pH

6.5 (1:4, v/v). Se hizo reaccionar 900 μL de sinigrin 0.12 mM con 100 μL de la muestra diluida, la reacción se realizó a 37 °C.

Se determinó la actividad mirosinasa indirectamente al medir el descenso de la densidad óptica, resultado de la degradación del sinigrin a 227 nm durante 20 minutos con intervalos de 2.5 minutos. Se utilizó un blanco en donde la enzima se inactivó con 5 minutos en ebullición. Una unidad de actividad se definió como la cantidad de mirosinasa que cataliza la hidrólisis de 1 μmol de sinigrin por minuto.

3.4.4. IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE CAROTENOIDES

La extracción de carotenoides se realizó utilizando una mezcla de acetona:hexano (1:1, v/v). El extracto fue evaporado a sequedad y re-suspendido en acetona. El extracto fue usado para la determinación de carotenoides totales por espectrofotometría y una fracción fue sometida a saponificación para la cuantificación de β -caroteno e identificación de carotenoides por HPLC-DAD. La cuantificación de carotenoides totales se realizó a 450 nm, previamente se establecerá una curva estándar y acetona como blanco. El contenido de carotenoides fue expresado en mg de β -caroteno por cien gramo de materia seca.

La saponificación fue realizada de acuerdo a lo propuesto por André *et al.* (2007b) y el análisis por HPLC-DAD de acuerdo a lo propuesto por Kao *et al.* (2012) con ligeras modificaciones. Se utilizó una columna C30 (YMC, Waters) (5 μm , 250 mm, 4.6 mm DI.). La fase móvil estuvo compuesta por metanol/acetonitrilo/agua (79:14:7, v/v/v) (A) y cloruro de metileno (B). La corrida cromatográfica fue realizada en gradiente, tal como se indica a continuación, 95 por ciento de A inicialmente y mantenido por nueve minutos, luego disminuido a 85 por ciento en el minuto 23, 83 por ciento en el minuto 33, 71 por ciento en el minuto 35, 70 por ciento en el minuto 45, 66 por ciento en el minuto 66, y retorno a 95 por ciento en el minuto 71. Se empleó un flujo de 1 mL/min y detección a 450 nm. Los carotenoides fueron identificados por comparación de los tiempos de retención y espectros de absorción (330-550 nm) con datos reportados en la literatura (Kao *et al.*, 2012; Inbaraj *et al.*, 2006).

3.5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

El periodo de cosecha se realizó a los 8 meses desde el momento de la siembra. Las muestras de mashua fueron colectadas el 18 de junio del 2015. Se colectó un total de 13.8 Kg de muestra de tubérculos. Posterior a ello, se realizaron las siguientes operaciones post-cosecha:

- **Selección.** Se eliminaron los tubérculos que se encontraban en estado de deterioro (quebradas o magulladas), obteniéndose al final, 11.7 Kg de muestra de mashua para ser usada en el diseño experimental.
- **Limpieza.** Con el objetivo de retirar la tierra y polvo que se encontraba en la superficie de los tubérculos.
- **Almacenamiento post-cosecha.** Se realizaron tres tipos de almacenamiento en soleado, sombra y refrigeración. Del total de tubérculos se tomó una muestra representativa para ser considerada como día cero o control y el resto se dividió en tres grupos para cada almacenamiento. Durante el almacenamiento se monitoreo diario la temperatura y humedad relativa (HR) del ambiente entorno a los tubérculos, correspondiente a cada tratamiento; además, cada tres días se controló la temperatura interna en algunos tubérculos. De forma simultánea, se tomaron muestras al azar, a los días 3, 6, 9, 12 y 15, para cada uno de los tratamientos, de 0.5 Kg aproximadamente.
- **Lavado y desinfectado.** Para retirar las impurezas de la superficie del tubérculo, se empleó una solución de hipoclorito de sodio de 200 ppm para el desinfectado.
- **Envasado al vacío.** Las diferentes muestras de mashua obtenidas durante los 15 días de aplicación de los estreses abióticos post-cosecha fueron envasadas al vacío para ser almacenadas posteriormente.
- **Almacenamiento.** Finalmente, las muestras de mashua se almacenaron en congelación a una temperatura de -40 °C.

3.5.1. ACONDICIONAMIENTO DE LA MUESTRA PARA EL ANÁLISIS

Los tubérculos de mashua tomados en los días 3, 6, 9, 12 y 15 de aplicación de los tratamientos de soleado, sombra y refrigeración, y la muestra control, fueron sometidas a las siguientes operaciones como parte del acondicionamiento antes de la realización de los análisis experimentales:

- **Liofilización.** Antes de liofilizar se redujo el tamaño de la muestra, para ello se sumergió en nitrógeno líquido y luego se molió con una licuadora artesanal. La liofilización se realizó a $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 133×10^{-3} mBar de presión.
- **Molienda y tamizado.** Las muestras liofilizadas se molieron y se tamizaron con una malla N° 35 de $0.5\text{ }\mu\text{m}$.
- **Envasado.** Las muestras de mashua liofilizadas, molidas y tamizadas se envasaron en bolsas de aluminio, los cuales fueron rotuladas con el código correspondiente a cada tratamiento.
- **Almacenamiento.** A temperatura de congelación ($-40\text{ }^{\circ}\text{C}$).

3.5.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental empleado consideró dos variables, tipo de almacenamiento post-cosecha y días de almacenamiento. El almacenamiento en sombra, se realizó en un cuarto cerrado (protegido de los rayos solares), para lo cual se extendió rafia negra y encima se colocó los tubérculos, por las noches se taparon con yute para evitar el cambio brusco de temperatura. El almacenamiento soleado, se realizó en un espacio abierto, para lo cual se extendió rafia negra y sobre ella se colocó los tubérculos y en las noches se cubrieron con yute; estos dos almacenamientos se realizaron en la zona de cultivo. El almacenamiento refrigerado se realizó en el laboratorio IBT, para lo cual las muestras fueron enviadas inmediatamente después de la cosecha y se almacenaron aproximadamente a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se tomaron muestras de cada tratamiento a los días 3, 6, 9, 12 y 15.

Este diseño experimental se aplicó con la finalidad de evaluar el efecto de los tres almacenamientos post-cosecha, los que implican factores abióticos como radiación solar, temperatura y deshidratación, sobre las variables respuestas consideradas, actividad mirrosinasa, contenido y perfil de glucosinolatos y carotenoides. El diseño experimental es mostrado en la Figura 12.

	Almacenamiento post-cosecha			Estudio enzimático y de metabolitos secundarios	
Variables	Soleado	HR (%) T (°C) Ti (°C)	Control 0 días	→	Muestra liofilizada
			3 días	→	
			6 días	→	
			9 días	→	
			12 días	→	
			15 días	→	
	Refrigeración	HR (%) T (°C) Ti (°C)	3 días	→	
			6 días	→	
			9 días	→	
			12 días	→	
			15 días	→	
	Sombra	HR (%) T (°C) Ti (°C)	3 días	→	
			6 días	→	
			9 días	→	
			12 días	→	
15 días			→		
Análisis				Análisis enzimático Actividad Mirosinasa Metabolitos secundarios Contenido y perfil de glucosinolatos y carotenoides	

Figura 12: Esquema del diseño experimental. HR (Humedad relativa del ambiente entorno a las muestras), T (Temperatura del ambiente entorno a las muestras) y Ti (Temperatura interna de las muestras).

3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico se utilizó un diseño multifactorial y se evaluaron mediante un Análisis de Varianza (ANVA) al 5 por ciento de significancia y comparados mediante la prueba de Tukey. El tratamiento estadístico de los datos se realizó con el software STATGRAPHICS.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la presente investigación se estudió el efecto del estrés abiótico de tres almacenamientos post-cosecha (refrigeración, sombra y soleado) sobre la síntesis de glucosinolatos, actividad mirosinasa y carotenoides de la mashua (accesión ARB 5241, de cáscara púrpura y pulpa amarillenta con jaspes morados).

La temperatura y humedad relativa del medio circundante a los tubérculos almacenados fue monitoreada, así en refrigeración la temperatura osciló entre 1.6-5.2 °C y 75-90 por ciento de HR; en condiciones de sombra entre 8.2-19.1 °C y 35-82 por ciento de HR y en el soleado entre 3.5-50.8 °C y 10-88 por ciento de HR.

El control de la temperatura interna del tubérculo varió entre 1.8-6.9, 8.2-17.7 y 3.4-46.6 °C para el tratamiento refrigeración, sombra y soleado, respectivamente. La humedad inicial de los tubérculos de mashua fue de 88.19 por ciento, 88.7 por ciento de humedad fue reportado por Espín et al. (2001); asimismo Grau et al. (2003) reportó el rango de 79 a 94 por ciento, valores similares al obtenido en el presente estudio.

A continuación, se presentan los resultados obtenidos y su respectiva discusión, del efecto de los diferentes almacenamientos post-cosecha (refrigeración, sombra y soleado) sobre el metabolismo de los glucosinolatos, actividad mirosinasa y carotenoides.

4.1. IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE GLUCOSINOLATOS EN MASHUA

La mashua cosechada (control) fue analizada por su perfil y contenido de glucosinolatos (Figura 13); donde podemos determinar por los tiempos de retención (tr), la presencia de cinco glucosinolatos los cuales se muestran en el Cuadro 3; atendiendo a su clase se

identifican como un alifático, un indólico y tres aromáticos. Cabe resaltar que esta especie es muy característico por estos metabolitos secundarios.

Cuadro 3: Clases de glucosinolatos identificados en mashua

°N	NOMBRE SISTEMÁTICO	NOMBRE TRIVIAL	CLASE
1	5-metilsulfinilpentil glucosinolato	Glucoalisina	Alifático
2	4-hidroxibencil glucosinolato	Glucosinalbina	Aromático
3	3-indolmetil glucosinolato	Glucobrasicina	Indólico
4	bencil glucosinolato	Glucotropaeolina	Aromático
5	4-metoxibencil glucosinolato	Glucoaubrietina	Aromático

Dos tipos diferentes de glucosinolatos han sido reportados en la familia Tropaeolaceae, alifáticos derivados de metionina, isoleucina y valina y aromáticos derivados de fenilalanina y tirosina (Fahey *et al.*, 2001). Sin embargo, en la accesión (ARB 5241) de la presente investigación se encontró también un glucosinolato indólico. Ortega *et al.* (2006) mencionan que los precursores de los glucosinolatos en la mashua son la fenilalanina y la tirosina.

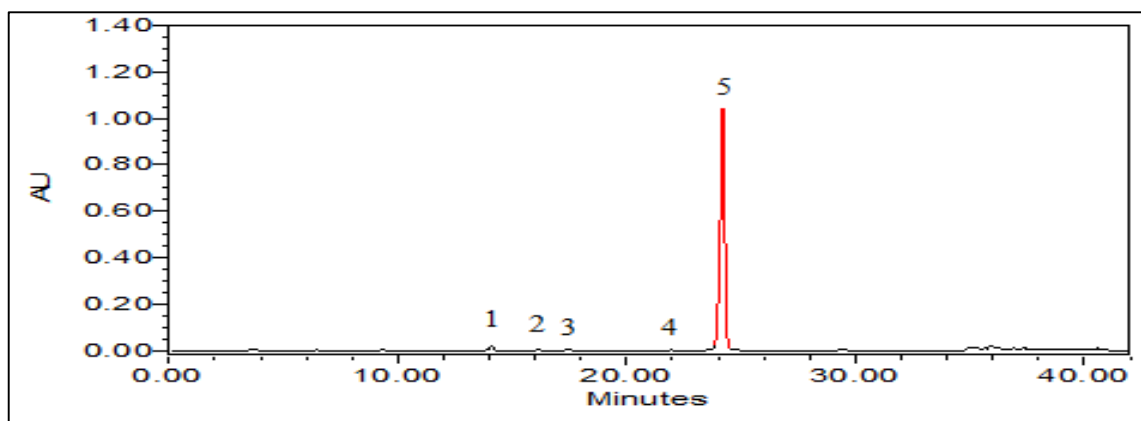


Figura 13: Cromatograma de glucosinolatos en mashua, la identificación de los compuestos se muestra en el Cuadro 3.

La glucoaubrietina representa el 97.43 por ciento del total de glucosinolatos, seguido de la glucoalisina que representa el 1.85 por ciento y el resto de glucosinolatos representa el 0.72 por ciento, por lo cual la correlación entre glucosinolatos totales y glucoaubrietina es alta. Al respecto Johns y Towers (1981) y Ramallo *et al.* (2004), han reportado solo la presencia de Glucoaubrietina en variedades domésticas de mashua. Por otro lado, Ortega *et al.* (2006)

identificaron tres glucosinolatos aromáticos en muestras de mashua cultivadas y sus parientes silvestres, los cuales fueron: glucosinalbina, glucotropaeolina y glucolimnatina (3-metoxibencil glucosinolato) y seis perfiles diferentes de glucosinolatos (solo glucolimnatina; solo glucotropaeolina; glucosinalbina y glucotropaeolina; glucosinalbina y glucolimnatina; glucotropaeolina y glucolimnatina; y aquellos que presentaron glucoalisina, glucotropaeolina y glucolimnatina). Así también, Martín e Higuera (2016) identificaron como glucosinolato predominante en accesiones de mashua colombiana a la glucoaubrietina, y en menor cantidad a la glucoalisina. Valer *et al.* (2001) citados por Gonzales *et al.* (2009) reportaron la presencia de glucosinalbina, metoxi-hidroxi-bencil glucosinolato, glucoaubrietina y glucotropaeolina en diferentes partes de la planta de mashua, siendo la glucoaubrietina el glucosinolato predominante, tal como lo señalan Johns y Towers (1981), Ramallo *et al.* (2004) y Martín e Higuera (2016). Ramírez y Roosevelt (2017) identificaron a glucotropaeolina, gluconasturtina, glucoaubrietina y glucobrassicina en la accesión de mashua chispeada, predominando la glucobrassicina en esta accesión.

La muestra de mashua cosechada (día cero) presentó una cantidad total de glucosinolatos de 54.19 $\mu\text{mol/g bs}$ (calculada como equivalente de glucotropaeolina). Moscol (2013) reportó la cantidad de 107.3 $\mu\text{mol/g bs}$ en mashua morada. Ramallo *et al.* (2004) determinaron la concentración de glucosinolatos en variedades domésticas de mashua boliviana y encontraron valores entre 36.5 y 90.0 $\mu\text{mol/g bs}$. Ortega *et al.* (2006) reportaron el contenido total de glucosinolatos entre 0.27 a 50.74 $\mu\text{mol/g bs}$ en mashua cultivada y sus parientes silvestres, así también determinaron que la mayoría de las accesiones de glucosinolato de bajo contenido se distribuyeron dentro de la población cultivada con una concentración de glucosinolato total inferior a 5.00 $\mu\text{mol/g bs}$ y los mayores contenidos de glucosinolatos totales y específicos (más de 25.00 $\mu\text{mol/g bs}$) en la población silvestre. Martín e Higuera (2016) reportaron el contenido total de glucosinolatos en accesiones de mashua colombiana entre $>3.00 \times 10^{-1}$ y 25.8 $\mu\text{mol/g bs}$. Ramírez y Roosevelt (2017) determinaron el contenido de glucosinolatos en mashua amarilla chispeado, encontrando el valor de 13.09 $\mu\text{mol/g bs}$. Arias (2011) afirma que el contenido de glúcidos cianogénicos y glucosinolatos en vegetales frescos se ve afectados por muchos factores, tales como el tipo de suelo, el espacio entre planta, la luz, la temperatura y aplicación de fertilizantes, esto podría indicar la gran variación en el contenido de glucosinolatos de los estudios revisados. Por otro lado, en raíces de maca, Yabar *et al.* (2011) reportaron valores de 15.0, 22.6 y 27.7 $\mu\text{mol/g bs}$ para

los ecotipos de maca negra, amarilla y roja respectivamente; así también Campos *et al.* (2013) reportaron un valor máximo de 16.4 $\mu\text{mol/g}$ bs de glucosinolatos totales. Zhang *et al.* (2017) analizaron el contenido de glucosinolatos en quince muestras de maca cultivada en China y encontraron un total de glucosinolatos entre 18.76 a 73.33 $\mu\text{mol/g}$ bs.

Pocos son los estudios de glucosinolatos orientados a raíces y tubérculos andinos en comparación a especies del género *Brassica*. Múltiples trabajos reportaron el contenido de glucosinolatos en flores de brócoli 10.97, 10.35, de 3.0 a 20.9 $\mu\text{mol/g}$ bs (Alvarez-Jubete *et al.*, 2014; Aguiló-Aguayo *et al.*, 2015; Valverde *et al.*, 2015 respectivamente). Así también, Kapusta-Duch *et al.* (2016) reportaron el contenido de glucosinolato en coliflor verde, coliflor púrpura y nabicol encontrando valores de 5.2, 8.26 y 7.34 $\mu\text{mol/g}$ bs respectivamente.

Martín e Higuera (2016) mencionan que el perfil y el contenido de glucosinolatos en el tubérculo de mashua dependen de la variedad, región y estados de crecimiento. Del análisis de glucosinolatos en mashua, el representativo es la glucoaubrietina, la cual se encuentra con poca frecuencia en plantas comestibles, en consecuencia no hay informes sobre sus efectos fisiológicos (Ramallo *et al.*, 2004). Sin embargo, hay estudios de su efecto fungicida (Martín e Higuera, 2016), además han sido muy exitosos en la reducción de hongos patógenos de suelo, nematodos, insectos y también se ha evaluado su efecto en el mejoramiento del rendimiento de los cultivos (McGuire, 2004). Así también se puede decir que el contenido de glucosinolatos en mashua es mayor en comparación al de la maca y a especies del género *Brassica*, lo cual hace de este cultivo una fuente valiosa en glucosinolatos principalmente del tipo aromático. Sin embargo, los glucosinolatos en grandes cantidades puede tener efectos perjudiciales sobre el sistema nervioso, por lo que la dosis diaria admisible se encuentra entre 24 y 1200 mg /persona /día (Hernández *et al.*, 1995).

4.2. EFECTO DEL ESTRÉS ABIÓTICO (REFRIGERACIÓN, SOMBRA Y SOLEADO) POST-COSECHA SOBRE LOS GLUCOSINOLATOS

Los resultados del contenido de glucosinolatos de la mashua almacenada en refrigeración, sombra y soleado se muestran en el Cuadro 4. El análisis estadístico (anexo 2) mostró que

existe diferencia significativa ($p < 0.05$) en el contenido total de glucosinolatos/glucoaubrietina y el tipo de almacenamiento: siendo mayor el contenido en sombra, segundo en refrigeración y en menor contenido en soleado; sin embargo, para los demás glucosinolatos no existe diferencia significativa entre el almacenamiento refrigerado y sombra, pero si con el soleado, presentándose este último en menor cantidad. Según Endara y Coley (2011) los factores ambientales influyen en el metabolismo secundario, debido a que las plantas sometidas a estrés producen más metabolitos secundarios. Cramer *et al.* (2011), mencionan que las respuestas de las plantas a las tensiones abióticas son dinámicas y complejas; como las rutas metabólicas de síntesis de glucosinolatos. La mashua al estar almacenada en diferentes condiciones estuvieron expuestas a estreses abióticos de humedad relativa, temperatura y radiación solar principalmente, no se controló estos factores; sin embargo se monitorio la humedad relativa y temperatura del tubérculo y del entorno donde estuvieron las muestras, así como las temperaturas internas del tubérculo, como se señaló anteriormente.

Como se observa en el Cuadro 4 el contenido de glucosinolatos de las muestras sometidas a refrigeración respecto al control se comportó de forma oscilante durante los 15 días de almacenamiento teniendo como pico más alto al día 12 ($78.38 \mu\text{mol/g bs}$) y mostrando al día 15 una ligera disminución respecto al control ($49.57 \mu\text{mol/g bs}$).

Cuadro 4: Contenido de glucosinolatos ($\mu\text{mol/g bs}$) en mashua almacenadas en refrigeración, sombra y soleado durante 15 días

	GLUCOSINOLATOS TOTALES	GLUCOALISINA	GLUCOSINALBINA	GLUCOBRASICINA	GLUCOTROPAEOLINA	GLUCOAUBRIETINA
Días	Refrigeración					
0	54.19±0.82 ^{Ccd}	1.00±0.19 ^{ABCabc}	0.12±0.00 ^{ABCab}	0.09±0.02 ^{BCab}	0.17±0.00 ^{Bbcd}	52.80±0.98 ^{Ccd}
3	57.56±0.27 ^{Acđ}	1.11±0.01 ^{Aabc}	0.14±0.02 ^{Aab}	0.12±0.00 ^{Aa}	0.19±0.00 ^{Aa}	56.01±0.28 ^{Acđ}
6	75.78±4.77 ^{Ba}	1.19±0.05 ^{Abab}	0.16±0.03 ^{ABab}	0.13±0.00 ^{ABa}	0.18±0.01 ^{CDabc}	74.12±4.68 ^{Ba}
9	57.62±1.76 ^{Dcd}	0.96±0.04 ^{Cbc}	0.16±0.00 ^{ABCab}	0.11±0.00 ^{CDa}	0.15±0.00 ^{DEef}	56.24±1.72 ^{Dcd}
12	78.38±0.35 ^{CDa}	1.36±0.02 ^{BCa}	0.14±0.00 ^{BCab}	0.13±0.00 ^{CDa}	0.18±0.00 ^{Cab}	76.56±0.33 ^{CDa}
15	49.57±6.60 ^{Ed}	1.06±0.16 ^{BCabc}	0.11±0.01 ^{Cabc}	0.09±0.00 ^{Dab}	0.15±0.00 ^{Ef}	48.16±6.42 ^{Ed}
Días	Sombra					
0	54.19±0.82 ^{Ccd}	1.00±0.19 ^{ABCabc}	0.12±0.00 ^{ABCab}	0.09±0.02 ^{BCab}	0.17±0.00 ^{Bbcd}	52.80±0.98 ^{Ccd}
3	78.63±1.94 ^{Aa}	1.17±0.05 ^{Aab}	0.20±0.03 ^{Aa}	0.13±0.00 ^{Aa}	0.18±0.00 ^{Aab}	76.95±1.87 ^{Aa}
6	82.13±0.50 ^{Ba}	1.36±0.01 ^{Aba}	0.18±0.03 ^{ABa}	0.13±0.00 ^{ABa}	0.17±0.01 ^{CDcde}	80.29±0.47 ^{Ba}
9	74.85±3.08 ^{Dab}	1.19±0.02 ^{Cab}	0.15±0.00 ^{ABCab}	0.13±0.00 ^{CDa}	0.17±0.00 ^{DEbcd}	73.22±3.06 ^{Dab}
12	64.03±6.37 ^{CDbc}	0.98±0.06 ^{BCbc}	0.14±0.01 ^{BCab}	0.11±0.01 ^{CDa}	0.17±0.00 ^{Cbcd}	62.63±6.30 ^{CDbc}
15	58.83±0.40 ^{Ecd}	0.86±0.03 ^{BCbcd}	0.13±0.00 ^{Cab}	0.11±0.00 ^{Da}	0.16±0.00 ^{Edef}	57.58±0.43 ^{Ecd}
Días	Soleado					
0	54.19±0.82 ^{Ccd}	1.00±0.19 ^{ABCabc}	0.12±0.00 ^{ABCab}	0.09±0.02 ^{BCab}	0.17±0.00 ^{Bbcd}	52.80±0.98 ^{Ccd}
3	76.05±3.02 ^{Aa}	1.19±0.04 ^{Aab}	0.16±0.00 ^{Aab}	0.13±0.01 ^{Aa}	0.18±0.00 ^{Aab}	74.39±2.97 ^{Aa}
6	23.81±0.07 ^{Be}	0.53±0.02 ^{ABde}	0.09±0.00 ^{ABab}	0.07±0.00 ^{ABb}	0.00±0.00 ^{CDg}	23.12±0.09 ^{Be}
9	7.66±0.38 ^{Df}	0.38±0.00 ^{Ce}	0.05±0.07 ^{ABCbc}	0.00±0.00 ^{CDc}	0.00±0.00 ^{DEg}	7.23±0.30 ^{Df}
12	5.90±0.08 ^{CDf}	0.32±0.00 ^{BCe}	0.05±0.08 ^{BCbc}	0.00±0.00 ^{CDc}	0.00±0.00 ^{Cg}	5.53±0.01 ^{CDf}
15	4.51±0.29 ^{Ef}	0.76±0.04 ^{BCcd}	0.00±0.00 ^{Cc}	0.09±0.02 ^{Dc}	0.00±0.00 ^{Eg}	3.75±0.25 ^{Ef}

Los valores medios que presentan letra capital diferente en la misma columna muestran diferencias significativas al someterse a la prueba de Tukey ($p < 0.05$) para el factor días de evaluación. Las letras minúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas para la interacción de factores ($p < 0.05$) entre todas las muestras.

De lo expuesto se podría afirmar que la refrigeración conserva el nivel de glucosinolatos durante los 15 días de evaluación. La temperatura es un factor decisivo en la actividad respiratoria en particular, y en el metabolismo, en general. Ramón (2017) menciona que la refrigeración disminuyó la respiración y transpiración en los tubérculos de mashua. Una disminución de 10°C trae consigo una reducción en la velocidad de las reacciones a aproximadamente la mitad (Wills *et al.*, 1999). Por otro lado, Ramallo *et al.* (2004) realizaron una prueba con dos variedades de mashua para evaluar el efecto del almacenamiento a 6 °C sobre los glucosinolatos, observando que en la variedad de rayas moradas el contenido de glucosinolato se mantuvo estable durante el periodo de evaluación en contraste de la variedad amarilla, cuyo contenido de glucosinolatos aumento y posteriormente disminuyo, dicha tendencia fue justificada por la complejidad de la bioquímica de la regulación de glucosinolatos en la síntesis y degradación en los tubérculos.

Cabe mencionar que en la presente investigación la temperatura del entorno donde estuvieron los tubérculos fluctuó entre 1.6 – 5.2 °C y la humedad relativa entre 75 – 90 por ciento durante el periodo de evaluación, lo cual pudo haber influenciado en la tendencia oscilante del contenido de glucosinolatos. Cartea y Velasco (2008) mencionan que la humedad relativa solo es un factor crítico para la retención de glucosinolatos cuando las temperaturas post-cosecha se elevan por encima de 4 °C, así también mencionan que se recomienda una alta humedad relativa del 98 – 100 por ciento para mantener la calidad post-cosecha en el brócoli. En nuestro estudio la humedad relativa permitió mantener el contenido de glucosinolatos en la mashua, posiblemente relacionado a la tasa de respiración. Lee *et al.* (2015) realizaron un estudio para investigar el efecto del almacenamiento a 4 °C por 72 horas de la col china, de lo cual hallaron que el contenido de glucosinolatos se redujo gradualmente de 13.1 a 7.41 $\mu\text{mol/g}$ bs, sugiriendo finalmente que los contenidos nutricionales de la col china, especialmente glucosinolatos no se conservan durante mucho tiempo en frío. Yang *et al.* (2010) estudiaron la influencia del almacenamiento de hojas de Pakchoi (*Brassica rapa* L. ssp. chinensis var. Communis) a 4°C durante 9 días, observándose un incremento del nivel de glucosinolatos totales al día 5 y 7 y retornando al nivel inicial al día 9, recomendando el almacenamiento en refrigeración debido a que aumenta el nivel de glucosinolatos y aumenta el tiempo de vida del vegetal. Baenas *et al.* (2017) evaluaron el almacenamiento de rabanos y brócoli a 5 y 10 °C por 14 días observando menor disminución de glucosinolatos a 5 °C. Schreiner y Huyskens (2006) mencionan que el efecto de la temperatura sobre el contenido

y la composición de los glucosinolatos depende de la etapa de desarrollo del producto; es así que Chong y Berard (1983) mencionan que durante el almacenamiento a 5 °C, el contenido de glucosinolatos en el repollo aumentó hasta el inicio de la senescencia, y posteriormente disminuyó rápidamente. También se produjo una descomposición distinta del glucosinolato en brócoli almacenado a 4 °C cuando las cabezas de brócoli comenzaron a deteriorarse (Rangkadilok *et al.*, 2002); de acuerdo a Farnsworth (2004) este efecto pudo haber sido causado por la pérdida de la integridad de la membrana celular inducida por la senescencia, Rodrigues y Rosa (1999) mencionan que la refrigeración a 4 °C y la congelación demostraron ser los mejores procesos de conservación para mantener altos niveles de glucosinolatos en brócoli. El contenido de glucosinolatos individuales y totales disminuyó en los vegetales de Brassica (brócoli, coles de Bruselas, coliflor y col verde), cuando se almacenaron en un refrigerador doméstico (4 – 8 °C) durante 7 días, a diferencia de cuando se almacenó a temperatura ambiente (Song y Thornalley, 2007), lo que se podría deber a su perecibilidad y efectos negativos frente temperatura de refrigeración. Por otro lado, Hodges *et al.* (2006) realizaron una evaluación de 2 tipos de almacenamiento (atmosfera controlada y aire, ambos a 0 °C) por 56 días a intervalos de análisis a 0, 14, 28, 42 y 56 días para coliflor (*Brassica oleracea* var. Botrytis cv. Freemont), encontrando que no existe diferencia en el perfil de glucosinolatos entre los tratamientos de almacenamiento. Los aumentos en los niveles de gluconapina y glucobrasicina pueden estar relacionados con cambios metabólicos asociados con senescencia natural y/o inducida por estrés. Así mismo, Rybarczyk-Plonska *et al.* (2016) estudiaron cómo los niveles de glucosinolato en los brotes de brócoli se ven afectados por el tiempo de almacenamiento, la temperatura y los tratamientos de radiación, simulando las condiciones de almacenamiento comercial mapeado desde la cosecha hasta la compra del consumidor, de ello sugieren que la combinación de pre-almacenamiento a 0 °C y posterior almacenamiento a 10 °C debe aplicarse preferentemente para promover altos niveles de glucosinolatos y para retrasar la senescencia (para mantener las inflorescencias de brócoli más tiempo en la etapa vegetativa).

Es importante considerar que la estructura celular, la respiración y la transpiración de hortalizas y tubérculos no es la misma. Por lo tanto las condiciones de almacenamiento en frío generarán diferentes resultados. La mayoría de estudios recomienda la refrigeración para mantener o incrementar el contenido de glucosinolatos en especies del género Brassica, en nuestro estudio la refrigeración ha permitido incrementar en 44.64 por ciento respecto al

control el contenido de glucosinolatos hasta el día 12, con lo cual podríamos recomendar mantener a temperatura de refrigeración los tubérculos de mashua después de la cosecha por un tiempo menor a 12 días.

Respecto al almacenamiento en sombra permitió incrementar el nivel total de glucosinolatos hasta el día 6 (82.13 $\mu\text{mol/g}$ bs) y posteriormente el contenido disminuyó hasta un valor ligeramente mayor al control (58.83 $\mu\text{mol/g}$ bs). La temperatura del microclima generado en torno a los tubérculos fluctuó entre 8.2-19.1 °C y la humedad relativa entre 35.0-82.0 por ciento. Song y Thornalley (2007) no observaron disminución significativa en el contenido de glucosinolatos en verduras de Brassica (brócoli, coles de Bruselas, coliflor y repollo verde) cuando se almacenó a temperatura ambiente y refrigerada. Las diferencias en los datos puede deberse a la diferencia en las condiciones de almacenamiento (temperatura fluctuante frente a temperatura controlada). Hwang *et al.* (2012) Mencionan que un almacenamiento prolongado a temperatura ambiente puede reducir el nivel de glucosinolatos en col coreana, así también Toivonen y Forney (2004) reportaron un rápido deterioro de glucosinolatos en brócoli después de la cosecha cuando se mantuvieron a temperatura ambiente, causada principalmente por una deshidratación más rápida y ruptura de las paredes celulares y por lo tanto una hidrólisis enzimática por la mirosinasa. Ramón (2017), menciona que la mashua almacenada en sombra sufrió pérdida de agua durante los días de evaluación, sin embargo esta deshidratación no generó demasiados cambios en el nivel de glucosinolatos.

Como se menciona en los estudios, en vegetales de Brassica el almacenamiento a temperatura ambiente mantiene o disminuye el nivel de glucosinolatos, por el contrario en la mashua el almacenamiento a temperatura ambiente bajo sombra ha permitido incrementar el nivel de glucosinolatos incluso mayor al almacenamiento refrigerado. En los vegetales de Brassica posiblemente se genera pérdida de la estructura celular a temperatura ambiente, lo cual genera pérdidas en el contenido de glucosinolatos, caso contrario a lo que sucede en el almacenamiento de los tubérculos de mashua en sombra.

Respecto al almacenamiento en soleado los tubérculos estuvieron expuestos a tres estreses abióticos (humedad relativa, temperatura y radiación solar) principalmente, los cuales generaron cambios en el metabolismo de la mashua, es así que se observa un incremento en el contenido total de glucosinolatos hasta el día 3 (76.05 $\mu\text{mol/g}$ bs), de allí hasta el día 15

el nivel de glucosinolatos descendió paulatinamente hasta el valor de 4.51 $\mu\text{mol/g}$ bs. Así también se observa que a partir del día 9 no se detecta la presencia de glucobrasicina, ello se podría deber a que los glucosinolatos indólicos son más sensibles a las condiciones de almacenamiento en comparación a los alifáticos y aromáticos (Verkerk *et al.*, 2001). Así también la glucotropaeolina no es detectada a partir del día 6. La temperatura del microclima generado en torno de los tubérculos oscilo entre 3.5-50.8 °C, temperaturas muy extremas y cambiantes. De acuerdo a un pronóstico estacional realizado por el Senamhi para el distrito de Jauja en el mes de Junio del 2015 se estimó que la temperatura máxima de la zona estaría alrededor de 16 a 20 °C y la temperatura mínima de 0 a 4 °C (Ramos *et al.*, 2015); lo que nos podría indicar que el calor generado por la respiración de los tubérculos más el calor ganado por el soleado hacen que la temperatura del entorno suba hasta 50 °C, relacionándose este hecho con la pérdida de peso durante este periodo (Ramón, 2017). Por lo expuesto se puede asumir que se presentó ruptura de tejido celular, haciendo que el glucosinato y la mirosinasa entren en contacto, generando de este modo efectos significativos sobre el contenido de glucosinolatos. Ninguno de los estreses fue controlado, pero si monitoreado, el soleado es una práctica doméstica/ancestral que realizan los productores de mashua en la sierra del Perú, el soleado es realizado con el objetivo de aumentar la dulzura y disminuir el contenido de glucosinolatos en la mashua (Grau *et al.*, 2003).

Por otro lado Moscol (2013) no observo diferencia significativa entre el contenido de glucosinato inicial y después de 7 días de soleado en mashua morada. La diferencia podría deberse a la variedad, intensidad del soleado, el cual depende de la intensidad de radiación que se presentó en ese año, clima, entre otros factores. De acuerdo a Variyar *et al.* (2014) la radiación UV-B actúa como un estrés ambiental y desencadena diversas respuestas en las plantas. Estos incluyen cambios en el crecimiento, desarrollo, morfología y aspectos fisiológicos. Según Nadeau *et al.* (2011) desde el punto de vista de la preservación de la calidad y el incremento de la cantidad de glucosinolatos en el brócoli fresco, sería favorable tratar el brócoli con 0.333 Wh/m^2 , dosis óptima de radiación UV-C. Así también Schreiner *et al.* (2009) en un estudio sobre el efecto de la radiación UV sobre hojas de *Tropaeolum majus* demostró que a una dosis de 0.150 Wh/m^2 , un tiempo de exposición de 2 horas a UV-B y un tiempo de adaptación de 22 horas después de la exposición podría aumentar la concentración de glucotropaeolina hasta seis veces en comparación al control. Wang *et al.* (2011) investigaron el contenido de glucosinolatos y la expresión de genes relacionados en

respuesta a la radiación UV-B mejorada (1.55 W/m^2) en *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*). En la primera hora de radiación UV mejorada, la radiación UV-B indujo la producción de glucosinolatos; sin embargo, después de una exposición UV-B continua durante 12 horas, la expresión de los genes relacionados con el metabolismo del glucosinolato se inhibió significativamente y el contenido de glucosinolato disminuyó, especialmente el de los glucosinolatos indólicos, también observaron que la exposición a UV-B condujo al daño de la membrana celular y la disminución del contenido relativo de agua, para contrarrestar dicho efecto las plantas irradiadas se mantuvieron en oscuridad durante 12 horas, de manera que el estado fisiológico de las hojas pudo recuperarse parcialmente. Como resultado, tanto la expresión del gen de glucosinolato como el contenido volvieron a los niveles del control.

Como se observa en los estudios realizados se recomienda exponer a radiación UV a los vegetales de Brassica a periodos cortos (horas), dado que incrementa el nivel de glucosinolatos. En nuestra investigación someter al tubérculo por un periodo de 15 días a soleado (radiación solar) provocó la pérdida de 91.67 por ciento de glucosinolatos. En todo caso se recomienda exponer los tubérculos al sol por un periodo hasta de 3 días por las razones expuestas.

Hasta el momento se conoce las vías de señalización de síntesis de glucosinolatos ante factores biológicos, mas no hay información sobre las vías de señalización en caso de factores abióticos que afectan a los vegetales posterior a la cosecha, como mencionan Yan y Chen (2007) el metabolismo del glucosinolato se desarrolla a través de las interacciones de las plantas con el medio ambiente y está constantemente regulado por diferentes factores ambientales. Durante los últimos años, se ha prestado mayor atención a la producción de glucosinolatos inducida por patógenos y herbívoros (factores biológicos). El proceso está mediado al menos parcialmente por ácido jasmónico (JA), ácido salicílico (SA) y etileno (ET), las principales hormonas asociadas con las respuestas de defensa. Se cree generalmente que estas tres moléculas de señalización interactúan para generar las reacciones de defensa de las plantas. Se necesitan más estudios para determinar la sofisticada red de señalización que conecta los factores ambientales y el metabolismo del glucosinolato. Así también el nivel de glucosinolatos es diferente en todas las partes de la planta tal como lo menciona Valer (2001) citado por Gonzales *et al.* (2009) que analizaron el nivel de glucosinolatos de mashua en hojas, tubérculos, raíces y tallos; observando un mayor

contenido de glucosinolatos en los tubérculos, seguido de las raíces, tallos y hojas, por lo que podríamos decir, que las partes de la planta en contacto con el suelo presentan mayor contenido de glucosinolatos. Van Dam *et al.* (2009) resumieron información sobre los niveles de glucosinolatos en raíz y brotes de 29 especies de plantas, señalando que las raíces tienen concentraciones más altas y una mayor diversidad de glucosinolatos que los brotes. Los mismos autores señalan que las raíces tienen niveles significativamente más altos 2-feniletilo glucosinolato (aromático), posiblemente por la mayor eficacia y toxicidad de sus productos de hidrólisis en el suelo. Dicha información podría sustentar la mayor concentración de glucosinolatos en los tubérculos y raíces, en comparación a los vegetales como los del género *Brassica*. Además de confirmar el predominio de glucosinolatos aromáticos en los tubérculos.

4.3. EFECTO DEL ESTRÉS ABÍOTICO (REFRIGERACIÓN, SOMBRA Y SOLEADO) POST-COSECHA SOBRE LA ACTIVIDAD MIROSINASA

En Brassicaceae, el sistema glucosinolato-mirosinasa juega un papel importante en la defensa contra herbívoros y patógenos (Gershenzon y Halkier, 2006). Su eficacia puede estar relacionada con la calidad y cantidad de glucosinolatos así como de la actividad de las mirosinasas. A continuación se muestra los resultados de la actividad mirosinasa de la mashua durante la post-cosecha almacenada en refrigeración, sombra y soleado en la Figura 14. El análisis estadístico mostró que existe diferencia significativa ($p < 0.05$) en la actividad mirosinasa y los tres tipos de almacenamiento (Anexo 3). Durante la cosecha la actividad mirosinasa para la mashua fue de 3.14 U/g bs.

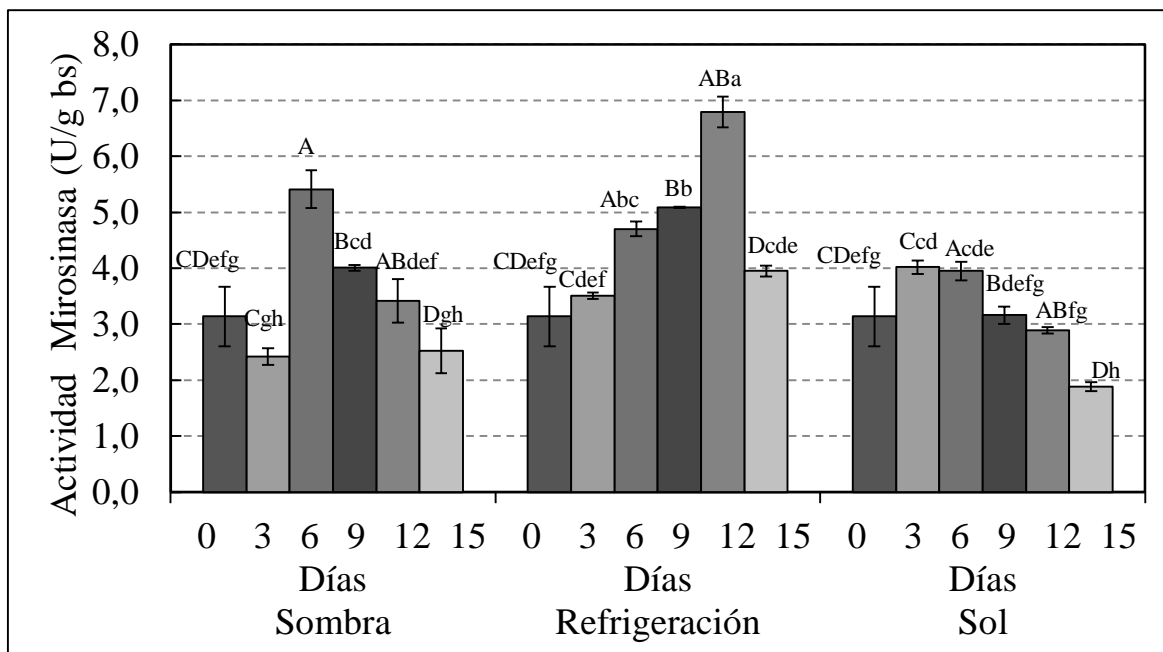


Figura 14: Evolución de la actividad mirosinasa de las muestras de mashua morada almacenadas en refrigeración, sombra y soleado durante 15 días.

Se puede notar claramente que en los tres almacenamientos la actividad mirosinasa se incrementa hasta cierto día, a partir del cual disminuye. También se puede observar que la mayor actividad mirosinasa se obtuvo en el almacenamiento en refrigeración del día 12; sin embargo, por el contenido de glucosinolatos, se podría decir que no entraron en contacto enzima-sustrato, o que hubo mayor síntesis que degradación de lo cual la acumulación neta de glucosinolatos fue casi constante.

La baja actividad de la mirosinasa en el soleado puede estar relacionada con la disminución de la concentración del ácido L-ascórbico, esta disminución fue reportada por Ramón (2017). Al respecto, Shikita *et al.* (1999) y Burmeister, (2000), mencionan que el ácido ascórbico es un cofactor conocido de la mirosinasa, que sirve como catalizador base en la hidrólisis de glucosinolatos, y la variación en su concentración altera la actividad de la enzima. Lee *et al.* (2017) mencionan que la disminución del contenido de ácido ascórbico y la expresión del gen MBP2 (relacionado con la mirosinasa) fueron las causas primarias de la actividad reducida de la mirosinasa en rábano. Posiblemente también la actividad de la enzima disminuya al reducir la cantidad de sustrato presente en la mashua.

Según Banerjee *et al.* (2014) los daños en los tejidos como resultado del procesamiento post-cosecha del vegetal pueden dar lugar a descomposición celular y la consecuente hidrólisis de los glucosinolatos por la mirosinasa endógena. La presencia de mirosinasa activa es un requisito previo para la formación de productos de descomposición de glucosinolatos, tales como isotiocianatos. Sin embargo, hay pocos informes sobre el efecto del tratamiento post-cosecha sobre la actividad mirosinasa, debido a que los trabajos se centran principalmente en la pérdida de la actividad de la mirosinasa o la inhibición por cocción en microondas o por vaporización. Así también reportan que irradiando coles con 0.5 a 2.0kGy no hay cambio significativo en la actividad mirosinasa. Lim *et al.* (2015) evaluaron la calidad post-cosecha de 2 variedades de raíces de rábano. Midieron la concentración de formación de sulforafano y la actividad mirosinasa, observando la mayor formación del isotiocianato el primer mes así como la mayor actividad mirosinasa, luego disminuyeron continuamente. Así Aires (2012) señala que las plantas con mayor actividad mirosinasa son más propensas a una mayor degradación de glucosinolatos, y por lo tanto, cuando se someten a ciertas condiciones de almacenamiento son más afectadas que las plantas que presentan menor actividad mirosinasa. Se ha informado de que el glucosinolato y sus productos de degradación, así como los genes del sistema enzimático de la mirosinasa, podrían ser regulados en respuesta al estrés abiótico (Jost *et al.*, 2005; Del Carmen Martínez-Ballesta *et al.*, 2013)

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

Así también se podría señalar la relación entre la síntesis y degradación de glucosinolatos o la formación de isotiocianatos, por tal motivo se analizó el sistema glucosinolato-mirosinasa en la mashua morada. En la Figura 15, 16 y 17 se muestra la evolución de la actividad mirosinasa y glucosinolatos, se puede apreciar que la actividad mirosinasa se incrementa y

disminuye conforme lo hacen los glucosinolatos. Para ver la correlación entre los glucosinonatos y la actividad mirosinasa se determinó el coeficiente de correlación (R^2) (Anexo 4).

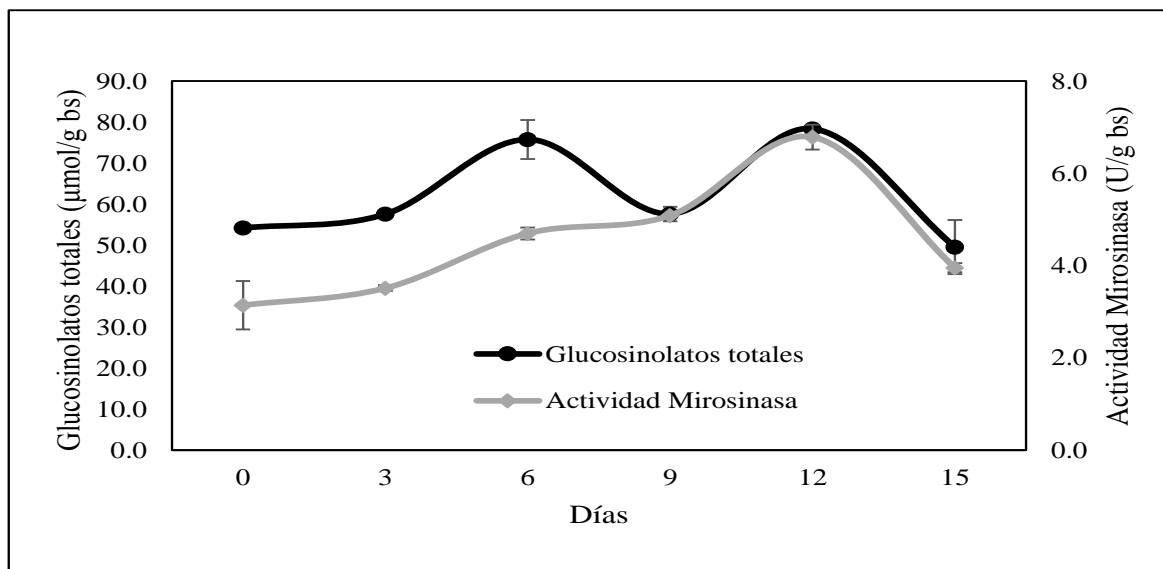


Figura 15: Contenido de Glucosinolato y actividad mirosinasa durante refrigeración.

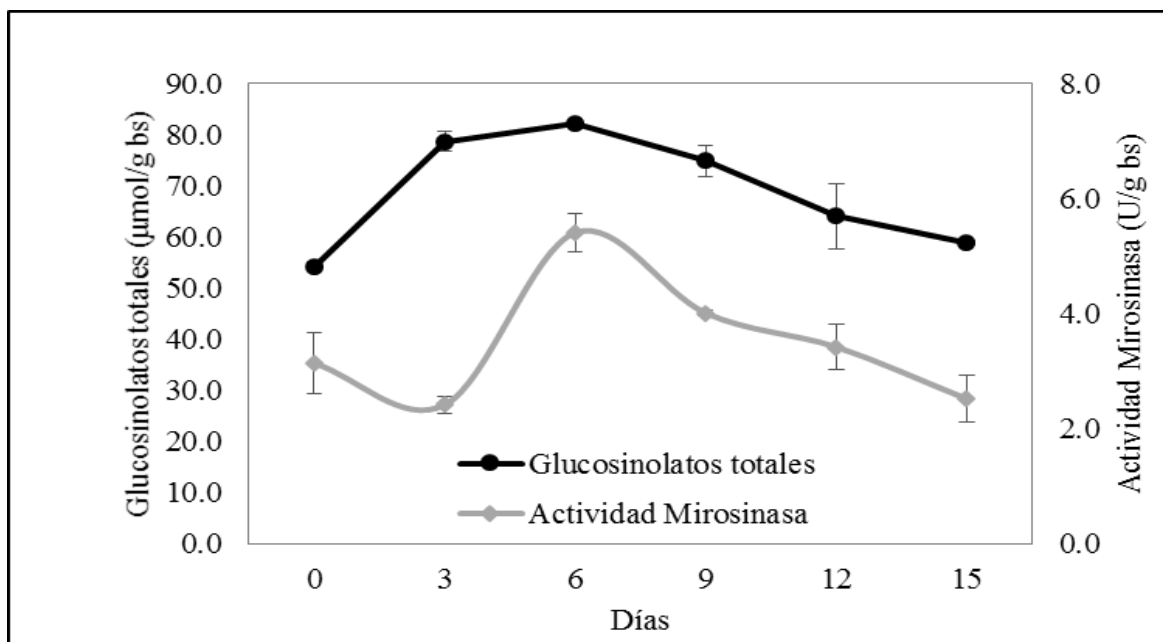


Figura 16: Contenido de Glucosinolato y actividad mirosinasa durante sombra.

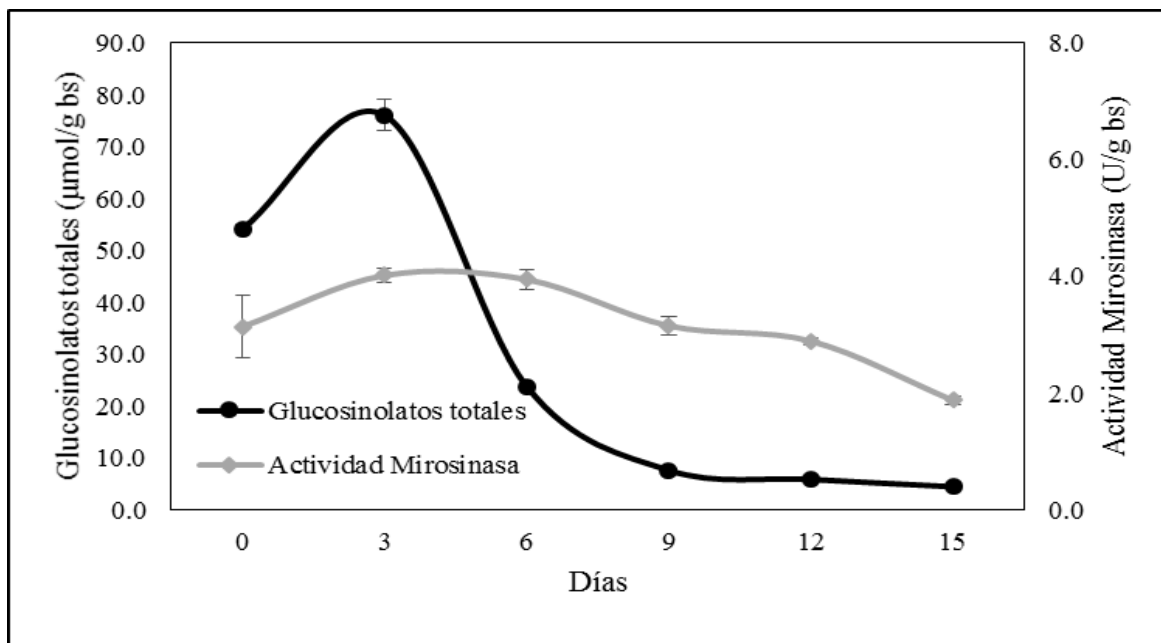


Figura 17: Contenido de Glucosinolato y actividad mirosinasa durante soleado.

El coeficiente de correlación para glucosinolatos totales y la actividad mirosinasa para el almacenamiento en refrigeración, sombra y soleado fue de 0.57, 0.28 y 0.39 respectivamente. Interpretando como una correlación positiva media para refrigeración y baja para sombra y soleado. Lo que nos indica que en refrigeración presentó una relación entre el nivel de glucosinolatos y la actividad mirosinasa. Li *et al.* (2004) determinó la correlación de Pearson de la actividad de mirosinasa con glucosinolatos totales y sinigrina en 27 accesiones de raíces y 9 de hojas en rábano picante, a lo que afirmó que la correlación no fue significativa en las raíces. Sin embargo, en las hojas hubo correlaciones significativas entre la actividad mirosinasa y la sinigrina, y entre la actividad mirosinasa y los glucosinolatos totales. La falta de correlaciones entre la actividad de la mirosinasa, la sinigrina y los glucosinolatos totales en las raíces se observó incluso cuando se utilizó el mismo subconjunto de accesiones que en las hojas. Kleinwächter *et al.* (2008) mencionan que las fuertes diferencias en la degradación del glucosinolato no están correlacionadas con la actividad real de la mirosinasa, y las actividades menores detectadas en hojas de *Tropaeolum majus* parecen no limitar la hidrólisis de la glucotropaeolina inducida por el secado. Esto indica que existen factores diferentes al contenido real de actividad mirosinasa que determinan el grado de degradación del glucosinolato mientras se seca. Se puede suponer que, la estabilidad de las estructuras celulares es importante. En este contexto, el espesor de las paredes celulares es de especial interés. Mientras más gruesa es la pared

celular, menor es la probabilidad de que las células se colapsen cuando la turgencia disminuye y que debido al descompartimiento en curso, los glucosinolatos se hidrolizan. Además, no puede excluirse que otros factores, que son inducidos durante el secado, pueden desempeñar un papel importante, como proteínas que se unen a las mirosinasas (Taipalensuu *et al.*, 1996).

4.4. CAMBIOS EN EL CONTENIDO TOTAL DE CAROTENOIDES, β -CAROTENO EN MASHUA DURANTE EL ALMACENAMIENTO POST-COSECHA EN SOMBRA, SOLEADO Y REFRIGERACIÓN

El contenido de carotenoides totales en la mashua cosechada fue de 5.26 mg de β -caroteno equivalente/100g bs. Temoche (2003) reportó el contenido de carotenoides totales en 6 clones de mashua morada los cuales estuvieron entre 0.70 y 2.85 mg de β -caroteno/100g bs, así algunos clones amarillos exhibieron valores de carotenoides más altos. Chirinos *et al.* (2007) obtuvieron el contenido total de carotenoides en 3 cultivares de tubérculos de mashua morada cosechadas a los 7.5 meses, dicho valor se encontró entre 1.0 y 5.0 mg β -caroteno equivalente/100g bs. Dichos valores son similares al valor encontrado en la presente investigación. Sin embargo, la mashua amarilla parece presentar valores mayores de carotenoides totales (7.0-13.2 mg β -caroteno equivalente/100g bs) tal como lo reporta Chirinos *et al.* (2007). Huaccho (2016) reportó valores de carotenoides en 48 cultivares de tubérculos de mashua amarilla en un rango entre 0.48 a 15.09 mg β -caroteno equivalente/100g bs. Con lo cual podríamos afirmar que las variedades amarillas de mashua presentan por lo general mayores valores de carotenoides totales en comparación a los morados. El valor encontrado de carotenoides totales en la investigación se encuentra más cercano al reportado por Chirinos *et al.* (2007), la diferencia con los resultados reportados por otros autores se podría deber a la variedad, accesión o genotipo, al método de análisis, tratamiento de muestra, zona de procedencia de la materia prima, entre otros factores.

La papa es un tubérculo muy estudiado en cuanto a su contenido de carotenoides, es así que Campbell *et al.* (2010) reportaron el contenido de 0.9 mg/100g bs como carotenoides totales en pulpa de papa; por otro lado, en razas andinas de papa se encontraron valores de 0.3 a 3.6 mg/100g bs (André *et al.*, 2007a) y en cultivares amarillos reportaron valores de 2.62 mg/100g bs (Kotíková *et al.*, 2016). La mashua en comparación a la papa parece presentar

un mayor contenido de carotenoides; lo cual confirma lo mencionado por Campos *et al.* (2006), que los tubérculos de mashua presentan mayor contenido de carotenoides totales en comparación a la papa, olluco y oca; sin embargo, presenta un contenido de carotenoides inferior a otras frutas, verduras y raíces, por ejemplo la zanahoria recién cosechada presenta un valor de 72.7 mg/100g en β - y α - caroteno, los cuales representan el 90 por ciento de carotenoides totales (Lee, 1985). Así también García (2016) reportó el contenido total de carotenoides en dos variedades de lúcuma, 30.0 y 25.0 mg β -caroteno equivalente/100g bs para variedad Beltrán y Seda respectivamente; lo cual nos permite mencionar que el contenido de carotenoides de la mashua es importante entre algunos tubérculos; sin embargo, como fuente de carotenoides tenemos a otros alimentos con mayor contenido.

Después de la cosecha el contenido de carotenoides se comportó diferente, de acuerdo al análisis estadístico de los datos, el tipo de almacenamiento post-cosecha, días e interacción con respecto al contenido de carotenoides totales mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) (Anexo 5). En general estos resultados indican que el tipo de almacenamiento bajo diferentes condiciones ambientales puede ejercer variación en el contenido de carotenoides.

El almacenamiento refrigerado mostró resultados casi constantes (Cuadro 5) a lo largo de los 15 días. La temperatura (1.6 - 15.7 °C) al parecer reduce las actividades bioquímicas de síntesis y se observa más bien una ligera degradación. Griffiths *et al.* (2007) evaluaron el almacenamiento post-cosecha de 37 líneas de papa criolla a 10 y 4 °C por 12 semanas, observando en promedio una disminución en el contenido de carotenoides a ambas temperaturas de almacenamiento. Carmona *et al.* (2012) evaluaron el efecto de la temperatura de almacenamiento a 2 °C, observando que el contenido de carotenoides permanece casi sin cambios. Caprioli *et al.* (2009) mencionan que temperaturas bajas (1 ó 10 °C) bajo atmosferas modificadas de almacenamiento post-cosecha, se podría retrasar la síntesis de carotenoides totales en melocotones.

Cuadro 5: Contenido de carotenoides totales y β -caroteno en mashua almacenada en refrigeración, sombra y soleado

	CAROTENOIDES TOTALES (mg β-caroteno equivalente/100g bs)	β-caroteno (μg/g bs)
Refrigeración	B	
0	5.26 \pm 0.34 ^{ABcde}	7.59
3	5.58 \pm 0.43 ^{Abcd}	12.64
6	5.50 \pm 0.57 ^{Ac}	7.16
9	4.36 \pm 0.76 ^{Bdefg}	10.99
12	5.40 \pm 0.25 ^{ABcd}	15.62
15	5.02 \pm 0.13 ^{ABcdef}	16.44
Sombra	A	
3	5.07 \pm 0.33 ^{Acde}	10.74
6	7.47 \pm 0.68 ^{Aa}	23.25
9	5.83 \pm 0.12 ^{Bbc}	19.47
12	6.21 \pm 0.88 ^{ABabc}	20.65
15	6.99 \pm 0.08 ^{ABab}	24.88
Soleado	C	
3	6.08 \pm 0.20 ^{Aabc}	13.44
6	3.83 \pm 0.81 ^{Aefg}	8.23
9	3.53 \pm 0.73 ^{Bg}	6.53
12	3.60 \pm 0.30 ^{ABfg}	5.11
15	3.61 \pm 0.16 ^{ABfg}	5.68

Los valores medios que presentan letra capital diferente en la misma columna muestran diferencias significativas al someterse a la prueba de Tukey ($p < 0.05$) para los factores tipo de almacenamiento y días de evaluación. Las letras minúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas para la interacción de factores ($p < 0.05$)

El contenido de carotenoides totales mostró un aumento durante el almacenamiento en sombra hasta el día 6, posteriormente disminuyó ligeramente. Este comportamiento podría deberse a la temperatura (8.2 - 19.1 °C) de almacenamiento. Bhushan y Thomas (1990) mencionan que el contenido de carotenoides tiende a disminuir en papas almacenadas a 15 y 20 °C. Janave y Thomas (1979) indican que el almacenamiento a temperatura ambiente (25-30 °C) permitiría incrementar el contenido de carotenoides en tubérculos de papa de la India. Carmona *et al.* (2012) mencionan que el almacenamiento post-cosecha de la naranja a 12 °C estimula el incremento del contenido total de carotenoides en la cáscara y en menor

grado en la pulpa, este efecto se puede deber a la expresión creciente de genes claves en la biosíntesis de carotenoides.

El almacenamiento en sol redujo el contenido de carotenoides totales y β -caroteno (Cuadro 5), solo se observó un ligero incremento al tercer día de soleado. Britton (1992) citado por Temoche (2003) menciona que se debe tener en cuenta que los carotenoides son sensibles al oxígeno, la luz y el calor. La estructura puede variar por ácido o álcalis. Todos los procedimientos que inevitablemente tienen riesgos de oxidación, isomerización, etc., se deben llevar lo más rápido posible. Posiblemente esto se deba a la temperatura generada en torno a los tubérculos (3.5-50.8 °C), la cual en la noche era muy baja y en el día llegaba a registros de más de 50 °C. Sin embargo, Chirinos *et al.* (2007) mencionan que el tiempo habitual de exposición solar para el consumo de mashua es de 5-7 días, y de acuerdo a las observaciones durante este período de almacenamiento hay tiempo suficiente para la síntesis inducida de nuevos compuestos fenólicos y carotenoides. Por otro lado Griffiths *et al.* (2007) sometieron a los tubérculos de papa criolla a luces de mercurio y sodio por 7 días, resultando en un aumento significativo en el contenido total de carotenoides. Ambos tipos de radiación produjeron un aumento similar, pero el perfil de carotenoides para cada tipo de luz, fue diferente. Si bien es cierto el soleado puede ser bueno para algunas vías de síntesis de metabolitos, este proceso debe ser controlado, en la presente investigación el soleado bajo las condiciones de estrés ambiental al que estuvo la mashua, solo provocó pérdida en los carotenoides. Sin embargo, la reducción de este metabolito se podría deber a las antocianinas, Giami y Alu (1994) mencionan que las frutas donde el color en la etapa de maduración se debe a las antocianinas y en aquellas que retienen el color verde, el contenido de carotenoides disminuye durante la maduración.

Nuestros resultados indican que la síntesis, degradación o acumulación de carotenoides en la mashua continúan después de la cosecha, y el sistema se mejora durante el almacenamiento en sombra; además las condiciones ambientales son relevantes, debido a que se observó un incremento de β -caroteno, el cual es un precursor de la vitamina A.

4.5. CAMBIOS EN LA COMPOSICIÓN DE CAROTENOIDES EN MASHUA DURANTE EL ALMACENAMIENTO EN SOMBRA, SOLEADO Y REFRIGERACIÓN

También se analizó los perfiles de carotenoides en los tres almacenamientos post-cosecha (Figura 18, 19 y 20), el análisis HPLC permitió la separación de 8 carotenoides, 7 de los cuales pudieron ser identificados tentativamente mediante comparación de tiempos de retención y espectros de absorción de picos desconocidos con patrones de referencia citados por Kao *et al.* (2012). Los principales carotenoides identificados fueron: Neoxantina, luteoxantina, luteína, zeaxantina, isómero de luteína (9 o 9'-cis luteína), criptoxantina y β -caroteno, (Cuadro 6).

Cuadro 6: Identificación de los carotenoides presentes en mashua

Nº	CAROTENOIDE	t _R (min)	λ (nm, referencia)	λ (nm)
1	Neoxantina	15.62	416, 440, 468	418.0, 442.2, 472.4
2	Luteoxantina	19.20	446, 474	448.2, 477.3
3	Luteína	30.87	334, 420, 446, 474	335.5, 448.2, 476.1
4	Zeaxantina	35.49	342, 428, 454, 480	453.1, 480.9
5	Isómero de luteína	39.41	330, 420, 440, 470	447.0, 473.7
6	Criptoxantina	40.24	342, 428, 450, 482	450.6, 480.9
7	No identificado	59.70		457.9, 484.6
8	β -caroteno	62.37	454, 478	351.0, 453.1, 479.7

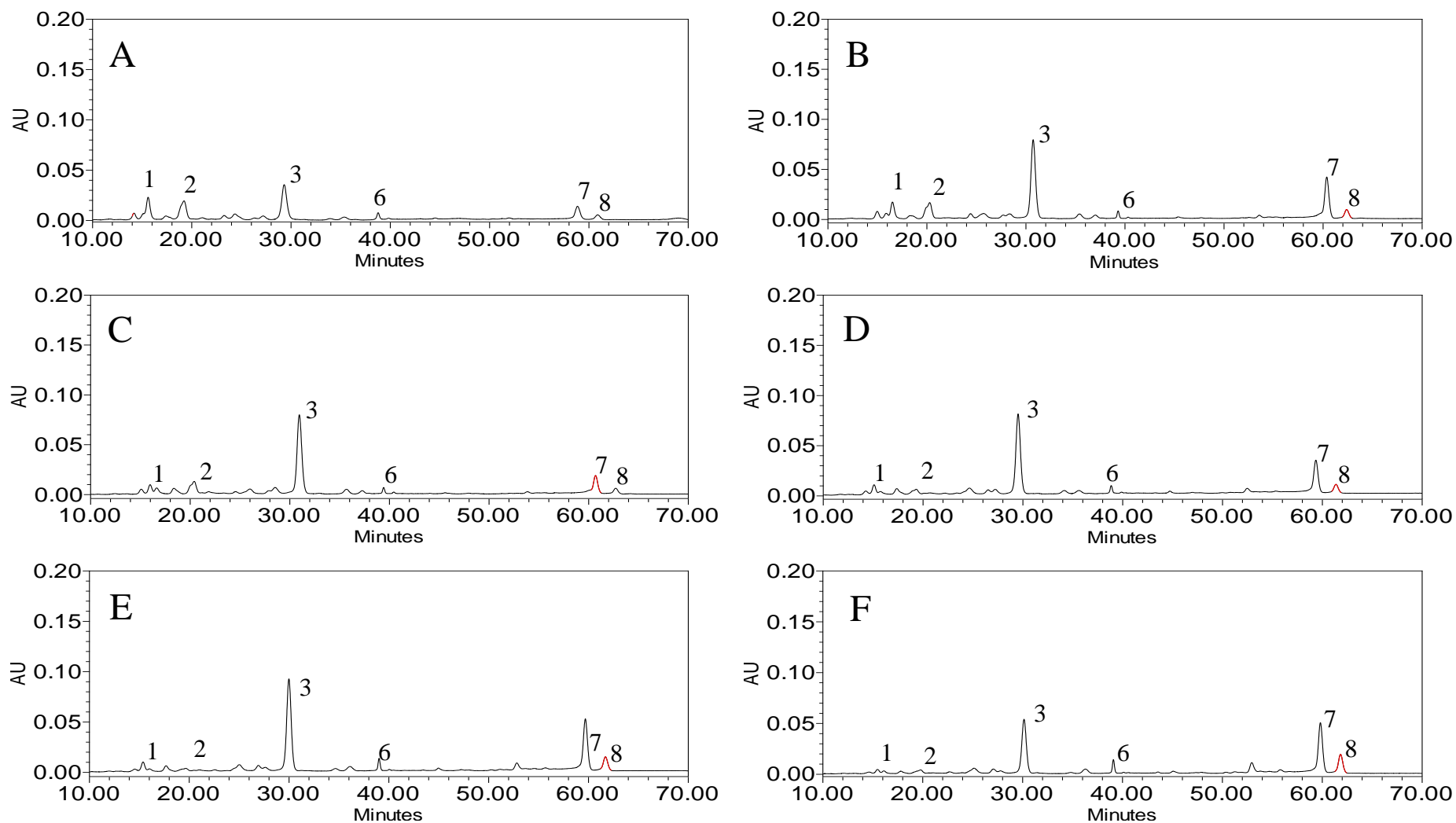


Figura 18: Cromatogramas HPLC de carotenoides de mashua almacenada en condiciones de refrigeración, durante 0 (A), 3 (B), 6 (C), 9 (D), 12 (E) y 15 (F) días.

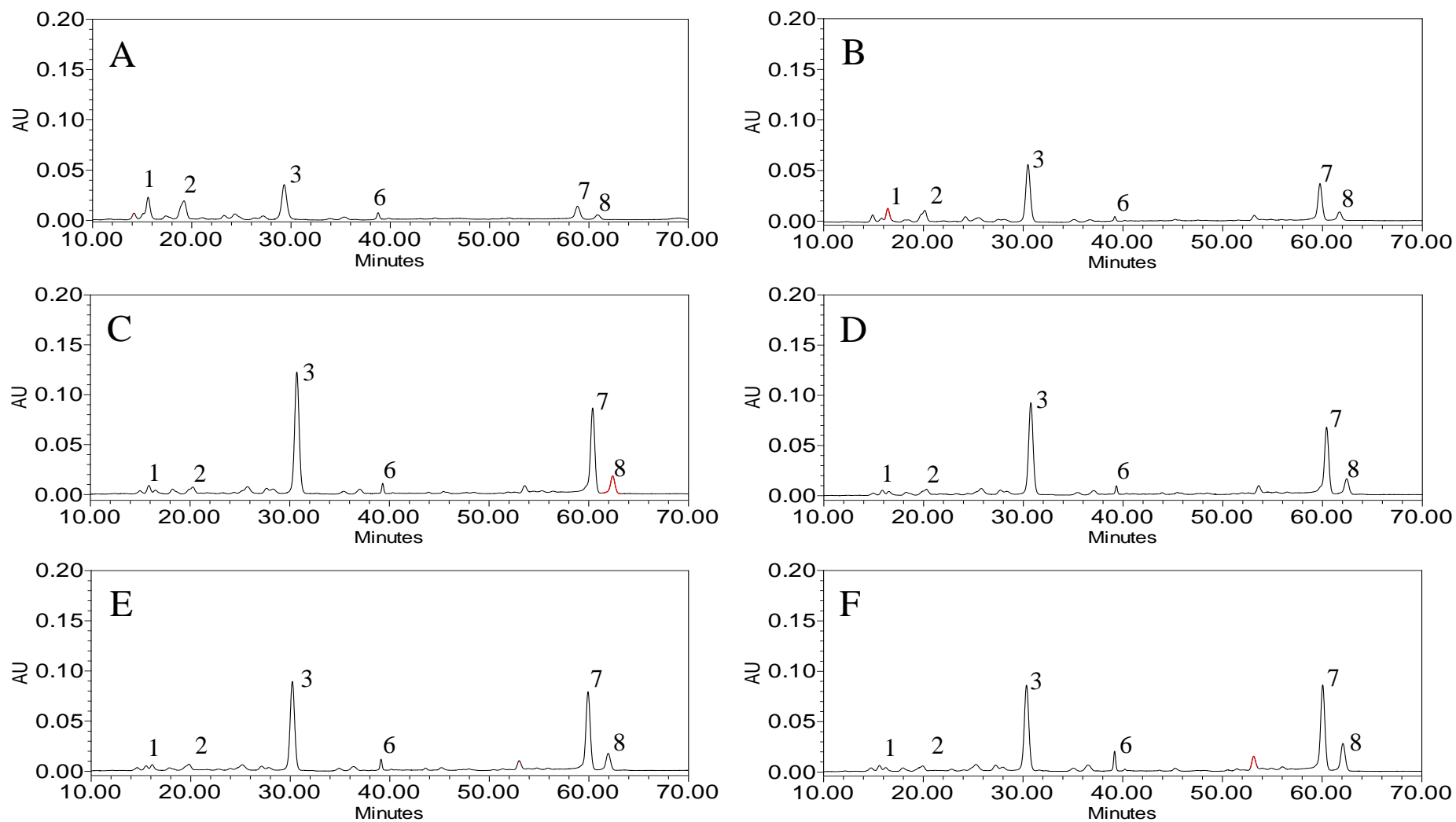


Figura 19: Cromatogramas HPLC de carotenoides de mashua almacenada en condiciones de sombra, durante 0 (A), 3 (B), 6 (C), 9 (D), 12 (E) y 15 (F) días.

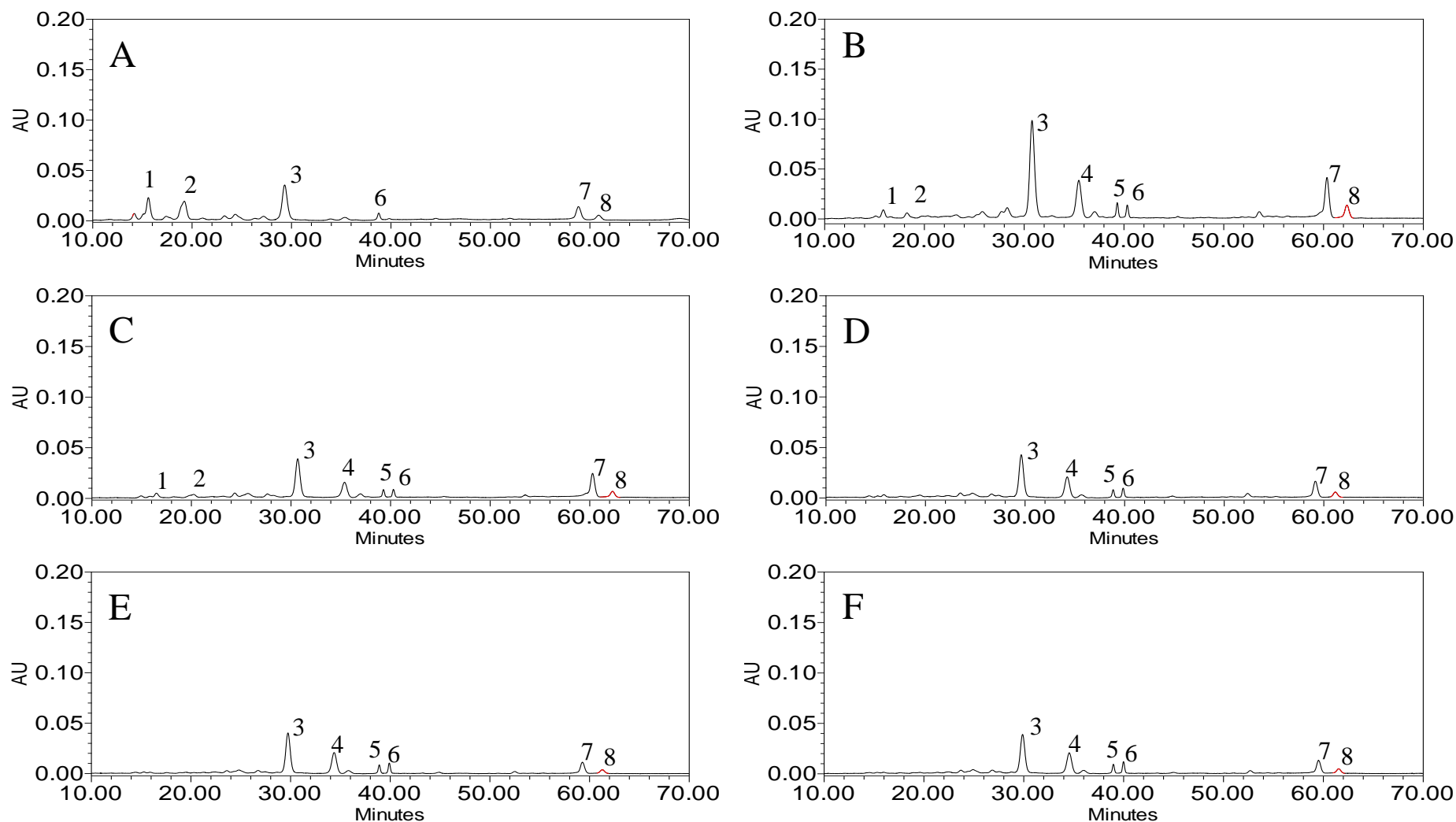


Figura 20: Cromatogramas HPLC de carotenoides de mashua almacenada en condiciones de soleado, durante 0 (A), 3 (B), 6 (C), 9 (D), 12 (E) y 15 (F) días.

Estas identificaciones se realizaron durante los 15 días de evaluación, observándose diferentes perfiles cromatográficos en los tres tipos de almacenamiento post-cosecha.

En el día 0 el carotenoide principal fue la luteína, seguido de neoxantina y luteoxantina y pequeñas cantidades de criptoxantina y β -caroteno. La pulpa de la mashua estudiada (ARB 5241) es crema con zonas moradas, tal como se muestra en la Figura 21, este color crema-amarillo se debe principalmente a la luteína. Brown *et al.* (2008) indicaron que el color amarillo y naranja en la pulpa de tubérculos de papa se debe principalmente a la luteína y zeaxantina, respectivamente; y la intensidad en el color se puede deber al contenido de carotenoides que presentan los tubérculos (Brown, 2005). Los cultivares de papa con pulpa blanca contienen menos carotenoides que los cultivares de color amarillo o naranja (Brown *et al.*, 2008).

Investigaciones del perfil de carotenoides en el tubérculo de mashua no se ha encontrado; sin embargo el tubérculo de la papa es el más estudiado en este tema; es así que algunos autores citan a la neoxantina, violaxantina, anteraxantina, luteína y zeaxantina como carotenoides presentes en este alimento (Griffiths *et al.*, 2007). Römer *et al.* (2002) mencionan que los principales carotenoides de la papa son violaxantina, anteraxantina, luteína y zeaxantina; y en pequeñas cantidades β -caroteno, un precursor de la vitamina A; sin embargo, mediante ingeniería genética se ha logrado un incremento promisorio de neoxantina y acumulación de β -caroteno en los tubérculos. Estos dos tubérculos tienen en común a los carotenoides de neoxantina, luteína, zeaxantina y β -caroteno, lo cual podría deberse al color de la pulpa de ambos tubérculos.



Figura 21: Corte transversal del tubérculo de mashua.

También se investigó el efecto de los estreses ambientales durante los almacenamientos post-cosecha en el perfil de carotenoides de forma individual. A continuación se explica el comportamiento del metabolismo de los carotenoides durante los 15 días de evaluación. Mercadante (2007) menciona que la carotenogénesis continúa en la mayoría de las frutas y verduras que contienen carotenoides después de la cosecha, como albaricoque, mango, naranja, melón, papaya, pimienta, caqui y tomate; sin embargo, en las frutas cuyo color al madurar se debe a pigmentos distintos de los carotenoides (fresas) y en las frutas que permanecen verdes (kiwi y aceitunas), el contenido de carotenoides disminuye durante la maduración.

Al tercer día del almacenamiento en soleado se observó una reducción importante de la neoxantina y la luteoxantina; así también, hay un incremento considerable en la síntesis de los demás carotenoides se sintetiza zeaxantina y un isómero de luteína (9 o 9'-cis-luteína). Al día 6, 9, 12 y 15 se observa la reducción de todos los carotenoides, especialmente de neoxantina y luteoxantina que casi desaparece; lo cual se observa en la Figura 22. Griffiths *et al.* (2007) mencionan que la exposición de luz de mercurio a tubérculos de papa podría dar como resultado la activación de las enzimas hidroxilasas necesarias para la conversión de α - y β -caroteno en sus análogos luteína y zeaxantina, respectivamente, pasando la zeaxantina a violaxantina y neoxantina; sin embargo, la luz de sodio parece solo incrementar la síntesis de anteraxantina y la acumulación del precursor zeaxantina; en nuestra investigación, estos eventos podrían indicar el incremento de luteína, zeaxantina y β -caroteno; sin embargo en la ruta de biosíntesis solo llegaría a formarse hasta zeaxantina por lo cual se observa un incremento en estos carotenoides. Liu *et al.* (2009) reportaron el efecto de la radiación UV-C, luz roja y luz solar sobre el contenido de carotenoides en el almacenamiento post-cosecha en tomates, mostrando un incremento del licopeno en UV-C y luz roja, mientras que en luz solar sólo incrementó 1.5 veces. El β -caroteno se incremento ligeramente hasta el día 4 con UV-C y luz roja; sin embargo, el tratamiento con luz solar disminuyó significativamente su contenido después del cuarto día de almacenamiento, esta experiencia nos podría señalar que la exposición a la luz solar por más de 3 días generaría pérdidas del contenido de carotenoides. En el tomate, el aumento de la temperatura del fruto a 32 °C inhibió la acumulación de fitoeno y licopeno, pero no afectó el contenido de β -caroteno (Gautier *et al.*, 2008). Por lo tanto se podría decir que en el tomate la luz solar y la temperatura son reguladores de la síntesis y aculumación de carotenoides durante el

almacenamiento post-cosecha. Matsumoto *et al.* (2009) encontraron que la expresión génica de la mayoría de las enzimas de la biosíntesis de carotenoides fue menor a 20 y 30 °C. Sin embargo, el contenido de carotenoides se mantuvo a 20 °C, lo cual indica que no hay una relación directa entre la expresión génica de enzimas y el contenido de carotenoides.

Perkins-Veazie y Collins (2006) indican que exista una posible sensibilidad de la biosíntesis de carotenoides con la temperatura de almacenamiento post-cosecha. Es así que observaron un incremento en el contenido de licopeno, β -caroteno y fitoflueno a 21 °C, pero no a 5 °C.

En los frutos almacenados a 21 °C, se puede explicar el incremento de licopeno por la reserva de geranylgeranyl difosfato, el incremento de la actividad de las enzimas fitoeno sintasa y fitoeno desaturasa, o los isómeros de estas enzimas pueden haber sido activados. Para el caso del β -caroteno, la enzima β -ciclase puede haber aumentado en actividad. Por el contrario, la actividad enzimática en las sandías mantenidas a 5 °C puede haber tenido actividad disminuida.

Se podría mencionar que en el soleado la luz solar y la temperatura ejercen gran importancia sobre la síntesis y acumulación de carotenoides, debido a que hay un incremento importante en la mayoría de carotenoides hasta el día 3 de almacenamiento post-cosecha; sin embargo, posterior a este día hay una disminución importante.

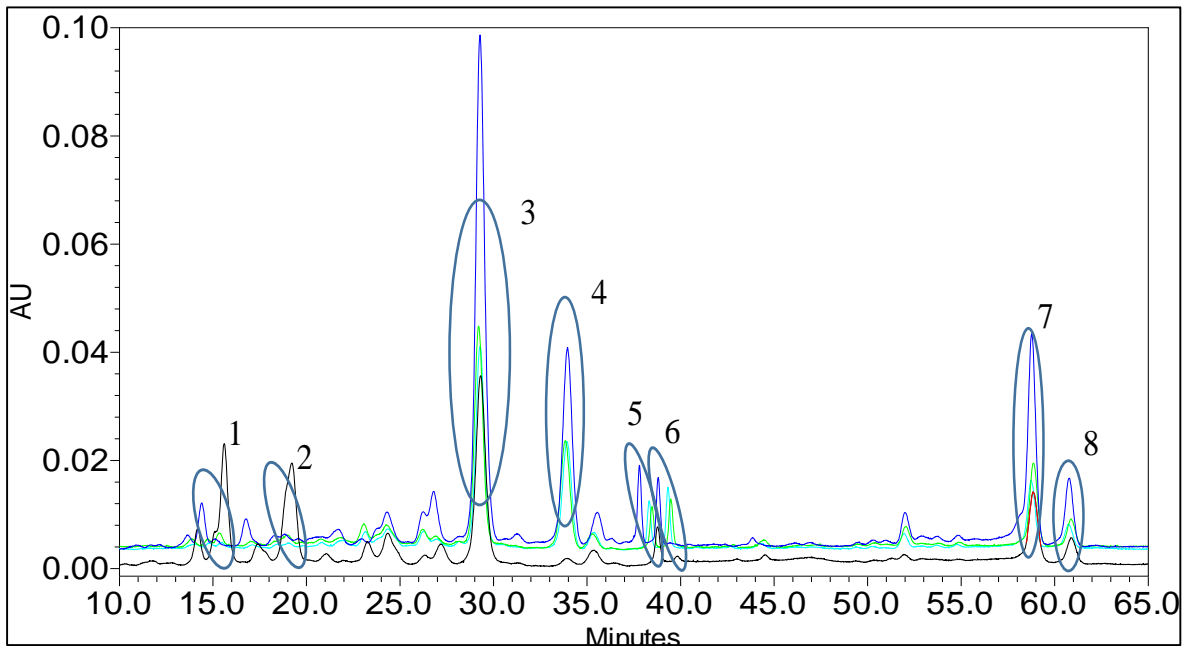


Figura 22: Cromatograma del almacenamiento en soleado. Día 0 (negro), 3 (azul), 9 (verde) y 15 (celeste).

Al tercer día del almacenamiento en sombra se incrementó el contenido de luteína, criptoxantina, el carotenoide no identificado y β -caroteno; y se sintetizó zeaxantina, pero en pequeña cantidad; consecutivamente la neoxantina y luteoxantina disminuyeron su contenido. Al día 9 la luteína llega a su pico más alto y los otros carotenoides continuaron incrementándose hasta el último día de evaluación; sin embargo la neoxantina y luteoxantina disminuyeron paulatinamente (Figura 23). La síntesis de β -caroteno obtuvo su mayor valor al día 15 lo cual coincide con el análisis cuantitativo de este carotenoide por espectrofotometría (Cuadro 5). Lo que nos podría indicar que bajo las condiciones ambientales de sombra las β -caroteno hidoxilasas presentan mayor actividad, lo cual es, debido a que es un carotenoide pro-vitamina A. Si bien es cierto que el contenido de carotenoides totales hay una ligera pérdida, ello se podría deber solo a la reducción de neoxantina y luteoxantina en los días de almacenamiento, como consecuencia de una posible adaptación al estrés ambiental. Carmona *et al.* (2012) observaron un incremento en la concentración de las xantofilas criptoxantina, anteraxantina y en menor medida la violaxantina, durante el almacenamiento de naranja a 12 °C, lo cual se correlaciona con el incremento transitorio en la primera semana de almacenamiento de la expresión de los genes de las enzimas de la vía: fitoeno sintasa, fitoeno desaturasa, ζ -caroteno desaturasa, β -licopeno ciclasa 1 y 2 y β -caroteno hidroxilasa.

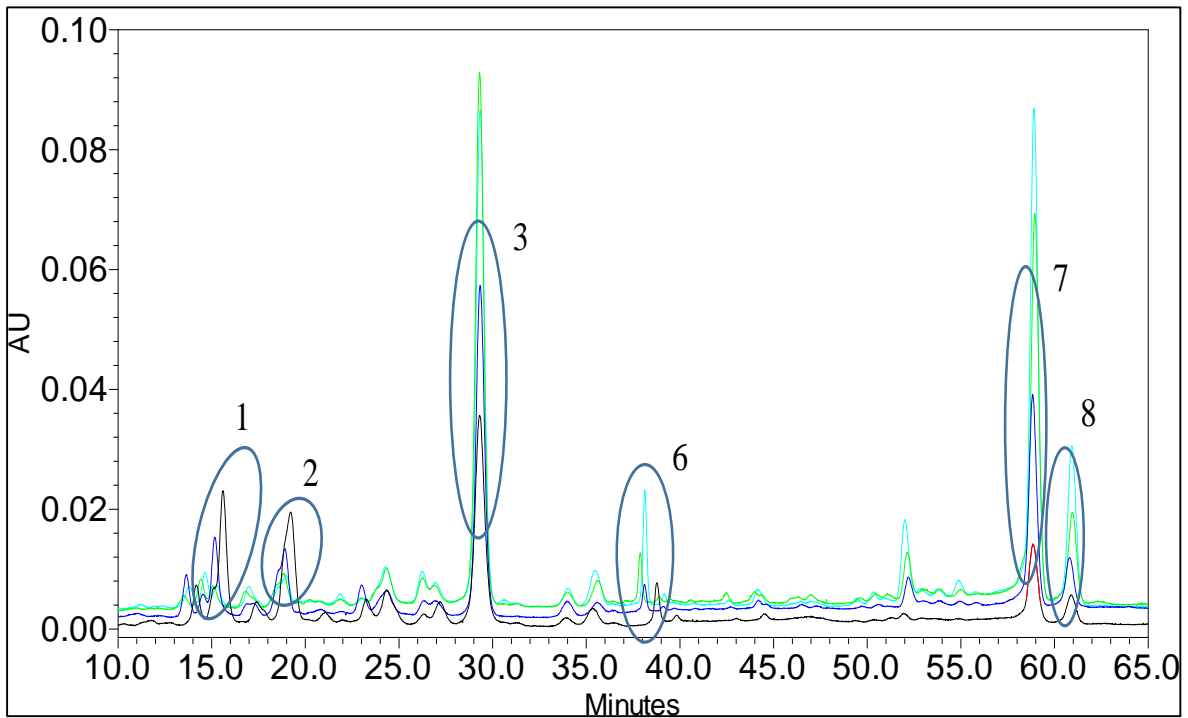


Figura 23: Cromatograma del almacenamiento en sombra. Día 0 (negro), 3 (azul), 9 (verde) y 15 (celeste).

Al tercer día e refrigeración se observó un incremento de luteína, criptoxantina, el carotenoide no identificado y β -caroteno, y la zeaxantina se sintetizó en pequeña cantidad; así también la neoxantina y luteoxantina sufrió una ligera caída, lo cual nos podría indicar que estos dos últimos carotenoides sufren menos daño a temperaturas de refrigeración a tres días de almacenamiento. Al día 9 del almacenamiento post-cosecha se observa un ligero incremento de la luteína, zeaxantina, criptoxantina y β -caroteno. Simultáneamente disminuye neoxantina, luteoxantina y el carotenoide no identificado. Al día 15 la luteína disminuye, la zeaxantina, neoxantina y luteoxantina casi y desaparecen; así también hay un ligero incremento de criptoxantina, el carotenoide no identificado y β -caroteno.

Griffiths *et al.* (2007) mencionan que la luteína podría ser el carotenoide más estable y menos probable que reduzca su contenido, mientras que los carotenoides derivados del β -caroteno reducen su contenido durante el almacenamiento a 10 ó 4 °C en tubérculos de papa, explicado por algunas posibilidades: el reemplazo de la luteína destruida por cualquier tipo de oxidantes potenciales, fue reemplazada a un ritmo mucho más rápido que los otros carotenoides, o la actividad de las enzimas que catabolizan los carotenoides derivados del β -caroteno, fue mayor que los que utilizan la luteína como sustrato, estas enzimas pueden

incluir a las dioxigenasas. Por lo tanto, los resultados de la presente investigación concuerdan con lo expuesto por los autores antes mencionados.

Carmona *et al.* (2012) señalan que la naranja navelina almacenada a 2 °C no mostró cambio significativo en el contenido de las xantofilas (criptoxantina, anteraxantina y violaxantina), lo cual podría ser por la reducción de la expresión de los genes implicados en la síntesis de las enzimas de la vía: fitoeno sintasa, fitoeno desaturasa, ζ -caroteno desaturasa, β -licopeno ciclasa 1 y 2 y β -caroteno hidroxilasa. Matsumoto *et al.* (2009) observaron una respuesta dependiente de la temperatura en la expresión génica de varias enzimas relacionadas con la biosíntesis de carotenoides en cáscara y jugo de mandarina. En el jugo de mandarina, la expresión génica de fitoeno sintasa, fitoeno desaturasa, β -hidroxilasa, zeaxantina epoxidasa, 9-cis-epoxicarotenoide dioxigenasa 2 y 9-cis-epoxicarotenoide dioxigenasa 3 se incrementó a 5 °C; sin embargo, el contenido de carotenoides disminuyó a esta temperatura, lo cual podría indicar la sensibilidad de la biosíntesis de carotenoides con la temperatura.

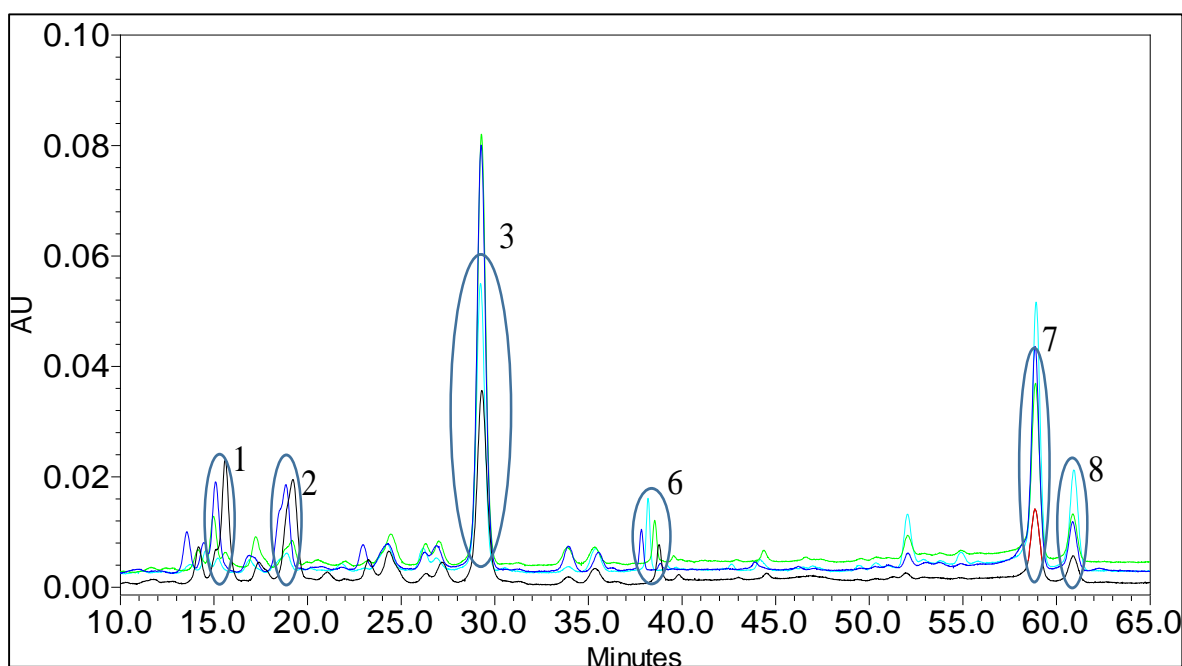


Figura 24: Cromatograma del almacenamiento en refrigeración. Día 0 (negro), 3 (azul), 9 (verde) y 15 (celeste).

El aumento en el contenido de carotenoides y β -caroteno de tubérculos de mashua almacenados en sombra, y la disminución en el soleado y refrigeración indican la

sensibilidad a la temperatura; así también esto a la posible alteración de la síntesis de enzimas de la ruta de biosíntesis de carotenoides.

Así también se ha observado resultados interesantes al comparar los días con los tipos de almacenamientos. Por ejemplo, al día 3 se observa que el almacenamiento en soleado presentó el mayor contenido de la mayoría de carotenoides a excepción de la neoxantina y luteoxantina, los cuales se mantuvieron mejor en refrigeración (Figura 25), esto nos podría decir que la neoxantina y luteoxantina son muy sensible a la luz solar y la temperatura al día 3 de almacenamiento post-cosecha, en comparación al resto de carotenoides que tolera el estrés abiótico hasta el día 3. Así también la zeaxantina, isómero de luteína y criptoxantina se sintetizan muy bien en el almacenamiento en soleado, en comparación a sombra y refrigeración, cuya síntesis fue muy reducida; lo cual podría deberse al efecto de la luz solar sobre el metabolismo de estos carotenoides. Los carotenoides de xantofila, como la luteína, la zeaxantina y la criptoxantina, pueden proporcionar beneficios potenciales para la salud contra enfermedades crónicas y degenerativas (Mein *et al.*, 2011). Por lo cual hace interesante el resultado del día 3 de soleado, debido a que sólo en este almacenamiento se observan estas xantofilas

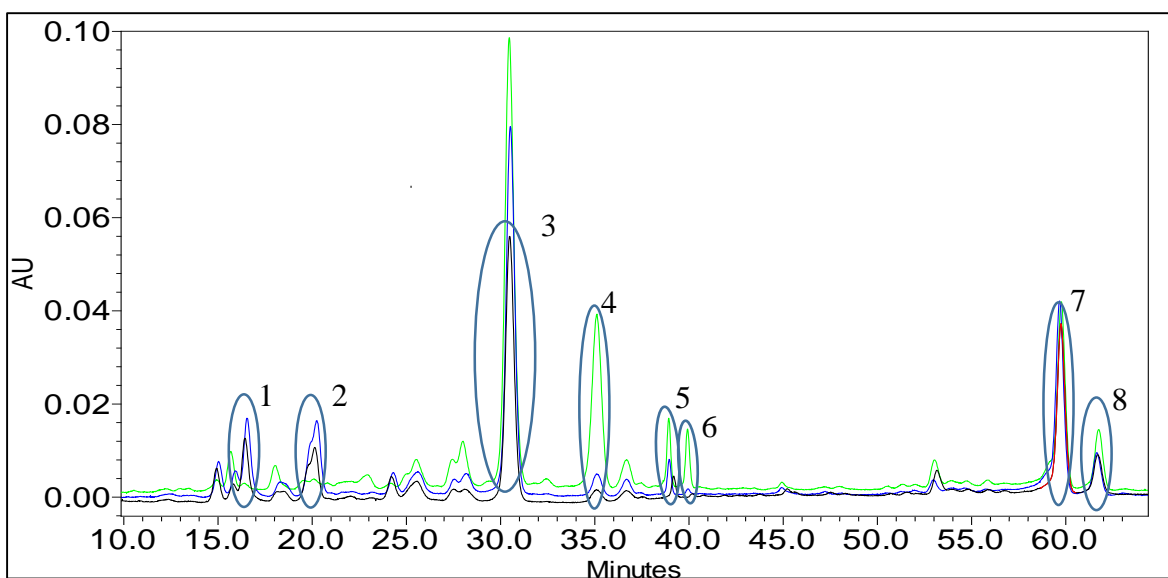


Figura 25: Cromatograma del almacenamiento al día 3. Sol (verde), refrigeración (azul) y sombra (negro).

Al día 9 de almacenamiento post-cosecha observamos (Figura 26) que en sombra hay mayor contenido de luteína, el carotenoide no identificado y β -caroteno. Lo importante es el pico del β -caroteno, debido a que al ser un carotenoide pro-vitamina A, hace de este almacenamiento interesante para estudios posteriores.

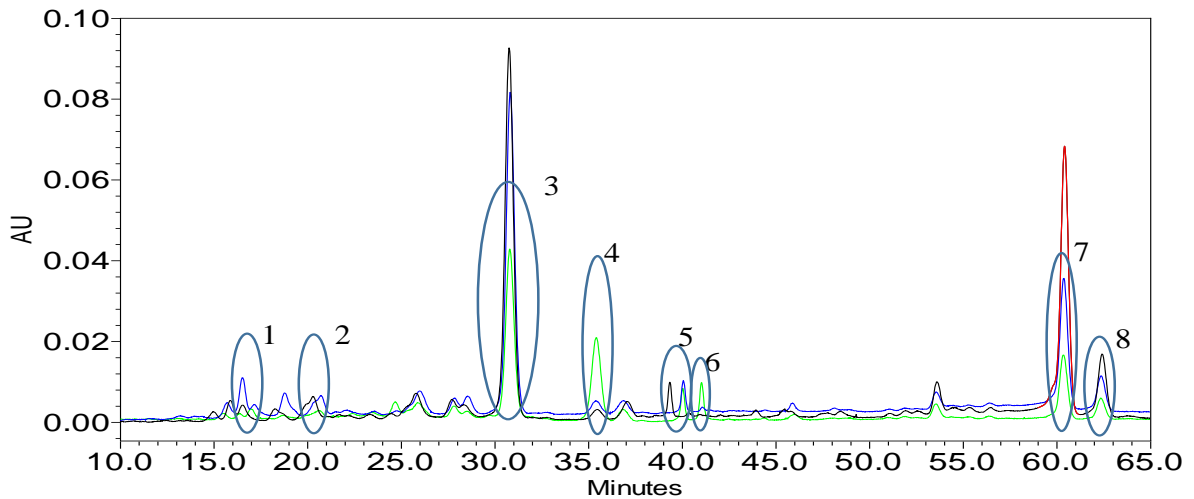


Figura 26: Cromatograma del almacenamiento al día 9. Sol (verde), refrigeración (azul) y sombra (negro).

V. CONCLUSIONES

- Los resultados muestran una influencia significativa del tipo de almacenamiento y del tiempo de almacenamiento en el contenido de glucosinolatos, actividad mirosinasa y carotenoides totales de la mashua.
- El almacenamiento en sombra incrementó el contenido de glucosinolatos totales y carotenoides totales durante los primeros 6 días; mientras que el contenido de β -caroteno se incrementó hasta el día 15.
- El almacenamiento en soleado incremento el contenido de glucosinolatos, carotenoides totales y β -caroteno hasta el día 3.
- El almacenamiento en refrigeración permitió la conservación de los niveles de glucosinolatos totales, carotenoides totales y β -caroteno
- La actividad mirosinasa fue mayor durante el almacenamiento en refrigeración. El soleado mostró la menor actividad mirosinasa.

VI. RECOMENDACIONES

- Evaluar la inactivación de la mirosinasa antes del almacenamiento post-cosecha para que esta no genere grandes cambios en el nivel de glucosinolatos.
- Realizar estudios enzimológicos y moleculares para elucidar los mecanismos de biosíntesis de glucosinolatos y carotenoides.
- Determinar el tipo de compuestos formados como consecuencia de la degradación de los glucosinolatos, principalmente durante el soleado.
- Realizar el estudio de los metabolitos desde la siembra de la mashua, para conocer los efectos de los estreses abióticos antes de la cosecha y si esto es relevante para el almacenamiento post-cosecha.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agerbirk, N; Olsen, C. 2012. Glucosinolate structures in evolution. *Phytochemistry* 77:16-45.
- Aguiló-Aguayo, I; Suarez, M; Plaza, L; Hossain, M; Brunton, N; Lyng, J; Rai, D. 2015. Optimization of pulsed electric field pre-treatments to enhance health-promoting glucosinolates in broccoli flowers and stalk. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 95(9):1868-1875.
- Aires, A; Carvalho, R; Rosa, E. 2012. Glucosinolate composition of brassica is affected by postharvest, food processing and myrosinase activity. *Journal of Food Processing and Preservation* 36(3):214-224.
- Alvarez-Jubete, L; Valverde, J; Kehoe, K; Reilly, K; Rai, D; Barry-Ryan, C. 2014. Development of a novel functional soup rich in bioactive sulforaphane using broccoli (*Brassica oleracea* L. ssp. *italica*) florets and byproducts. *Food and bioprocess technology* 7(5):1310-1321.
- André, C; Ghislain, M; Bertin, P; Oufir, M; Del Rosario Herrera, M; Hoffmann, L; Hausman, J; Larondelle, Y; Evers, D. 2007a. Andean potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.) as a source of antioxidant and mineral micronutrients. *Journal of agricultural and food chemistry* 55(2):366-378.
- André, C; Oufir, M; Guignard, C; Hoffmann, L; Hausman, J; Evers, D; Larondelle, Y. 2007b. Antioxidant profiling of native Andean potato tubers (*Solanum tuberosum* L.) reveals cultivars with high levels of β -carotene, α -tocopherol, chlorogenic acid, and petanin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(26):10839-49.

- Angelino, D; Jeffery, E. 2014. Glucosinolate hydrolysis and bioavailability of resulting isothiocyanates: focus on glucoraphanin. *Journal of Functional Foods* 7:67-76.
- AOAC (Association of official Analytical Chemists). 1995. Official methods of analysis. 15th Edition. Washington D.C. USA.
- Arbizu, C; Tapia, M. 1994. Andean tubers. *Neglected crops: 1492 from a different perspective* (pp. 149-163) (No. 26). Food & Agriculture Org.
- Arias, A. 2002. Biotecnología y metabolitos secundarios en *Lepidium peruvianum* Chacón “Maca”. Tesis para optar el título de Biólogo con mención en Genética. Lima, Perú, UNMSM.
- Arias, M. 2011. Análisis y comparación de los glucosinolatos presentes en diferentes accesiones de cubio (*Tropaeolum tuberosum*) para evaluar su uso potencial en el control del patógeno de la papa *Spongospora* subterránea. Tesis para optar el título de Magister. Bogotá, Colombia, Universidad Nacional de Colombia.
- Arora, R; Kumar, R; Mahajan, J; Vig, A; Singh, B; Singh, B; Arora, S. 2016. 3-Butenyl isothiocyanate: a hydrolytic product of glucosinolate as a potential cytotoxic agent against human cancer cell lines. *Journal of food science and technology* 53(9):3437-3445.
- Augustine, R; Bisht, N. 2017. Regulation of Glucosinolate Metabolism: From Model Plant *Arabidopsis thaliana* to Brassica Crops. *Glucosinolates* 163-199.
- Avato, P; Argentieri, M. 2015. Brassicaceae: a rich source of health improving phytochemicals. *Phytochemistry reviews* 14(6):1019-1033.
- Azcón-Bieto, J; Talón, M. 2001. *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. 2 ed. Barcelona, España, McGraw-Hill Interamericana de España S.A. 522 p.

- Baenas, N; Gómez-Jodar, I; Moreno, D; García-Viguera, C; Periago, P. 2017. Broccoli and radish sprouts are safe and rich in bioactive phytochemicals. *Postharvest Biology and Technology* 127:60-67.
- Banerjee, A; Variyar, P; Chatterjee, S; Sharma, A. 2014. Effect of post harvest radiation processing and storage on the volatile oil composition and glucosinolate profile of cabbage. *Food chemistry* 151:22-30.
- Barceló, J; Nicolás, G; Sabater, B; Sánchez, R. 2009. *Fisiología vegetal*. 5 ed. Madrid, España, Ediciones Pirámide. 566 p.
- Barrera, V; Espinosa, A; Tapia, B; Monteros, A; Valverde, F. 2004. Caracterización de las raíces y los tubérculos andinos en la Ecoregión Andina del Ecuador. *Raíces y Tubérculos Andinos: Alternativas para la conservación y uso sostenible en el Ecuador*. Quito, Ecuador, EC: INIAP/CIP/COSUDE. p. 3-30.
- Becker, T. 2015. The glucosinolate/myrosinase system: Variation in glucosinolates, hydrolysis products, transcript abundance, and quinone reductase bioactivity in *Brassica sp.* Crops. Doctoral dissertation. Urbana-Champaign, EE.UU, University of Illinois.
- Bell, L; Wagstaff, C. 2014. Glucosinolates, myrosinase hydrolysis products, and flavonols found in rocket (*Eruca sativa* and *Diplotaxis tenuifolia*). *Journal of agricultural and food chemistry* 62(20):4481-4492.
- Bhattacharya, A; Tang, L; Li, Y; Geng, F; Paonessa, J; Chen, S; Zhang, Y. 2009. Inhibition of bladder cancer development by allyl isothiocyanate. *Carcinogenesis* 31(2):281-286.
- Bhushan, B; Thomas, P. 1990. Effects of gamma irradiation and storage temperature on lipoxygenase activity and carotenoid disappearance in potato tubers (*Solanum tuberosum* L.). *Journal of agricultural and food chemistry* 38(7):1586-1590.

- Bones, A; Rossiter, J. 1996. The myrosinase-glucosinolate system, its organisation and biochemistry. *Physiologia Plantarum* 97(1):194-208.
- Brown, C. 2005. Antioxidants in potato. *American Journal of Potato Research* 82(2):163-172.
- Brown, C; Durst, R; Wrolstad, R; De Jong, W. 2008. Variability of phytonutrient content of potato in relation to growing location and cooking method. *Potato Research* 51(3-4):259.
- Brown, K; Hampton, M. 2011. Biological targets of isothiocyanates. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* 1810(9):888-894.
- Burmeister, W; Cottaz, S; Rollin, P; Vasella, A; Henrissat, B. 2000. High resolution X-ray crystallography shows that ascorbate is a cofactor for myrosinase and substitutes for the function of the catalytic base. *Journal of Biological Chemistry* 275(50):39385-39393.
- Burton, G. 1989. Antioxidant action of carotenoides. *The Journal of Nutrition* 109-111.
- Campbell, R; Ducreux, L; Morris, W; Morris, J; Suttle, J; Ramsay, G; Bryan, G; Hedley, P; Taylor, M. 2010. The metabolic and developmental roles of carotenoid cleavage dioxygenase4 from potato. *Plant Physiology* 154(2):656-664.
- Campos, D; Chirinos, R; Barreto, O; Noratto, G; Pedreschi, R. 2013. Optimized methodology for the simultaneous extraction of glucosinolates, phenolic compounds and antioxidant capacity from maca (*Lepidium meyenii*). *Industrial Crops and Products* 49:747-754.
- Campos, D; Noratto, G; Chirinos, R; Arbizu, C; Roca, W; Cisneros-Zevallos, L. 2006. Antioxidant capacity and secondary metabolites in four species of Andean tuber crops:

native potato (*Solanum* sp.), mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón), Oca (*Oxalis tuberosa* Molina) and ulluco (*Ullucus tuberosus* Caldas). Journal of the Science of Food and Agriculture 86(10):1481-1488.

Caprioli, I; Lafuente, M; Rodrigo, M; Mencarelli, F. 2009. Influence of postharvest treatments on quality, carotenoids, and abscisic acid content of stored “Spring Belle” peach (*Prunus persica*) fruit. Journal of agricultural and food chemistry 57(15):7056-7063.

Cárdenas, M. 1989. Manual de plantas económicas de Bolivia. 2 ed. La Paz, Bolivia, Amigos del libro.

Cárdenas-Valencia, I; Nieto, J; Gasco, M; Gonzales, C; Rubio, J; Portella, J; Gonzales, GF. 2008. *Tropaeolum tuberosum* (Mashua) reduces testicular function: effect of different treatment times. Journal Compilation. Andrologia 40:352–357

Carmona, L; Zacarías, L; Rodrigo, M. 2012. Stimulation of coloration and carotenoid biosynthesis during postharvest storage of ‘Navelina’ orange fruit at 12 °C. Postharvest Biology and Technology 74:108-117.

Cartea, M; Velasco, P. 2008. Glucosinolates in Brassica foods: bioavailability in food and significance for human health. Phytochemistry reviews 7(2):213-229.

Cazzonelli, C; Pogson, B. 2010. Source to sink: regulation of carotenoid biosynthesis in plants. Trends in plant science 15(5):266-274.

Chacón, O. 1960. Estructura y variabilidad de (*Tropaeolum tuberosum* R. & P.) (No. Thesis C431es). IICA, Turrialba, Costa Rica.

Chan, J. 2015. Eficacia antioxidante de los compuestos fenólicos de la mashua (*Tropaeolum tuberosum*) en la estabilidad del aceite de linaza (*Linum usitatissimum* L). Tesis Ing.

Lima, Perú, UNALM.

- Chirinos, R; Campos, D; Arbizu, C; Rogez, H; Rees, JF; Larondelle, Y; Noratto, G; Cisneros-Zevallos, L. 2007. Effect of genotype, maturity stage and post-harvest storage on phenolic compounds, carotenoid content and antioxidant capacity, of Andean mashua tubers (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav). Journal of the Science of Food and Agriculture 87:437-446.
- Chirinos, R; Campos, D; Costa, N; Arbizu, C; Pedreschi, R; Larondelle, Y. 2008a. Phenolic profiles of andean mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón) tubers: Identification by HPLC-DAD and evaluation of their antioxidant activity. Food Chemistry 106(3):1285-1298.
- Chirinos, R; Campos, D; Warnier, M; Pedreschi, R; Rees, J; Larondelle, Y. 2008b. Antioxidant properties of mashua (*Tropaeolum tuberosum*) phenolic extracts against oxidative damage using biological in vitro assays. Food chemistry 111(1):98-105.
- Chong, C; Berard, L. 1983. Changes in glucosinolates during refrigerated storage of cabbage. J. Amer. Soc. Hort. Sci 108:688-691.
- Cipollini, D; Sipe, M. 2001. Jasmonic acid treatment and mammalian herbivory differentially affect chemical defenses and growth of wild mustard (*Brassica kaber*). Chemoecology 11(3):137-143.
- Cisneros-Zevallos, L. 2003. The Use of Controlled Postharvest Abiotic Stresses as a Tool for Enhancing the Nutraceutical Content and Adding-Value of Fresh Fruits and Vegetables. Journal of Food Science 68(5):1560-1565.
- Clarke, D. 2010. Glucosinolates, structures and analysis in food. Analytical Methods 2(4): 310-325.

- Cramer, G; Urano, K; Delrot, S; Pezzotti, M; Shinozaki, K. 2011. Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. *BMC plant biology* 11(1):163.
- Cuttriss, A; Cazonelli, C; Wurtzel, E; Pogson, B. 2011. Carotenoids en: Rébeillé, F; Dource, R (editores), *Advances in Botanical Research*. Academic Press 58:1-36.
- Cuya, R. 2009. Efecto de secado en bandeja y atomización sobre la actividad antioxidante de la mashua (*Tropaeolum tuberosum* R & P). Tesis Mg. Sc. Lima, Perú, UNALM.
- Del Carmen Martínez-Ballesta, M; Moreno, D; Carvajal, M. 2013. The physiological importance of glucosinolates on plant response to abiotic stress in Brassica. *International journal of molecular sciences* 14(6):11607-11625.
- Domonkos, I; Kis, M; Gombos, Z; Ughy, B. 2013. Carotenoids, versatile components of oxygenic photosynthesis. *Progress in lipid research* 52(4): 539-561.
- Edreva, A. 2005. Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: a submolecular approach. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 106:119-133.
- Endara, M; Coley, P. 2011. The resource availability hypothesis revisited: a meta-analysis. *Functional Ecology* 25(2):389-398.
- Eskin, N; Hoehn, E. 2013. Chapter 2. Fruits and vegetables in *Biochemistry of foods*. 3 ed. Elsevier. p. 49-126.
- Espín, C. 2013. Aporte al rescate de la mashua aplicando técnicas de cocina de vanguardia Bachelor's thesis.
- Espín, S; Brito, B; Villacrés, E; Rubio, A; Nieto, C; Grijalva, J. 2001. Composición química, valor nutricional y usos potenciales de siete especies de raíces y tubérculos andinos. Ambato, Ecuador. En *Acta Científica Ecuatoriana* 7(1):49-63.

- Fahey, J; Zalcmann, A; Talalay, P. 2001. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry* 56(1):5-51.
- Farnsworth, E. 2004. Hormones and shifting ecology throughout plant development. *Ecology* 85:5-15.
- Fenwick, G; Heaney, R; Mullin, W. J; VanEtten, C. 1983. Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 18(2):123-201.
- Font, Q. 1982. *Diccionario de botánica*. Barcelona. Editorial Labor.
- Fraser, P; Bramley, P. 2004. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Progress in lipid research* 43(3):228-265.
- García, D. 2016. Caracterización de algunos metabolitos primarios y secundarios en dos variedades comerciales de lúcumo (*Pouteria lucuma*). Tesis Ing. Lima, Perú, UNALM.
- Gautier, H; Diakou-Verdin, V; Bénard, C; Reich, M; Buret, M; Bourgaud, F; Poëssel, J; Caris-Veyrat, C; Génard, M. 2008. How does tomato quality (sugar, acid, and nutritional quality) vary with ripening stage, temperature, and irradiance? *Journal of agricultural and food chemistry* 56(4):1241-1250.
- Gershenzon, J; Halkier, B. 2006. Biology and Biochemistry of Glucosinolates. *Annual Reviews* 67(1):16-37.
- Ghawi, S; Methven, L; Rastall, R; Niranjana, K. 2012. Thermal and high hydrostatic pressure inactivation of myrosinase from green cabbage: a kinetic study. *Food Chemistry* 131(4):1240-1247.

- Giami, S; Alu, D. 1994. Changes in composition and certain functional properties of ripening plantain (*Musa spp.*, AAB group) pulp. *Food chemistry* 50(2):137-140.
- Gibbs, P; Marshall, D; Brunton, D. 1978. Studies on the cytology of *Oxalis tuberosa* and *Tropaeolum tuberosum*. *Notes Roy. Bot. Gard. Edinburgh*, 37(1): 215-220.
- Gigolashvili, T; Yatusевич, R; Rollwitz, I; Humphry, M; Gershenzon, J; Flüggе, U. 2009. The plastidic bile acid transporter 5 is required for the biosynthesis of methionine-derived glucosinolates in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell* 21(6):1813-1829.
- Gill, S; Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 48:909-930.
- Gonzales, P; Kofer, W; Huaranca, T; Vivanco, F; Arbizu, C; Cosio, E. 2009. Crop protection by volatile organic compounds from mashua: what we can learn from ancient agricultural techniques. Paper presented at the Tropical roots and tubers in a changing climate. A critical opportunity for the world conference. Lima, Perú, International potato centre (CIP), International Society for Tropical Root crops (ISTRC) and UNALM. 57 p.
- Gonzalez-Aguilar, G; Villa-Rodriguez, J; Ayala-Zavala, J; Yahia, E. 2010. Improvement of the antioxidant status of tropical fruits as a secondary response to some postharvest treatments. *Trends in Food Science & Technology* 21(10):475-482.
- Grau, A; Ortega, R; Nieto C; Hermann, M. 2003. Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pav.). Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 25. Lima, Peru, International Potato Center. Rome, Italy, International Plant Genetic Resources Institute.
- Griffiths, D; Dale, M; Morris, W; Ramsay, G. 2007. Effects of season and postharvest storage on the carotenoid content of *Solanum phureja* potato tubers. *Journal of*

agricultural and food chemistry 55(2):379-385.

- Hannoufa, A; Hossain, Z. 2012. Regulation of carotenoid accumulation in plants. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 1(3): 198-202.
- Hansen, BG; Kliebenstein, D; Halkier, B. 2007. Identification of flavin-monoxygenase as the S-oxygenating enzyme in aliphatic glucosinolate biosynthesis in Arabidopsis. *The Plant Journal* 50:902-1019.
- Hansen, C; Wittstock, U; Olsen, C; Hick, A; Pickett, J; Halkier, B. 2001. Cytochrome P450 CYP79F1 from Arabidopsis catalyzes the conversion of dihomomethionine and trihomomethionine to the corresponding aldoximes in the biosynthesis of aliphatic glucosinolates. *Journal of Biological Chemistry* 276(14):11078-11085.
- Hemmerlin, A; Harwood, J; Bach, T. 2012. A raison d'être for two distinct pathways in the early steps of plant isoprenoid biosynthesis? *Progress in lipid research* 51(2):95-148.
- Hirschberg, J. 2001. Carotenoid biosynthesis in flowering plants. *Current opinion in plant biology* 4(3):210-218.
- Hodges, D; Munro, K; Forney, C; McRae, K. 2006. Glucosinolate and free sugar content in cauliflower (*Brassica oleracea* var. botrytis cv. Freemont) during controlled-atmosphere storage. *Postharvest biology and technology* 40(2):123-132.
- Huaccho, C. (2016). Capacidad antioxidante, compuestos fenólicos, carotenoides y antocianinas de 84 cultivares de mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón). Tesis Mg. Sc. Lima, Perú, UNALM.
- Hwang, E; Jang, M; Kim, G. 2012. Effects of storage condition on the bioactive compound contents of Korean cabbage. *Food Science and Biotechnology* 21(6):1655-1661.

- Ip, B; Hu, K; Liu, C; Smith, D; Obin, M; Ausman, L; Wang, X. 2013. Lycopene metabolite, apo-100-lycopenoic acid, inhibits diethylnitrosamine-initiated, high fat diet-promoted hepatic inflammation and tumorigenesis in mice. *Cancer Prev Res* 6: 1304-1316.
- Janave, M; Thomas, P. 1979. Influence of post-harvest storage temperature and gamma irradiation on potato carotenoids. *Potato Research* 22(4):365-369.
- Johns, T; Kitts, W; Newsome, F; Neil; G. 1982. Anti-reproductive and other medicinal effects of *Tropaeolum tuberosum*. *Journal of Ethnopharmacology* 5:149-161.
- Johns, T; Towers, G. 1981. Isothiocyanates and thioureas in enzyme hydrolysates of *Tropaeolum tuberosum*. *Phytochemistry* 20(12):2687-2689.
- Jost, R; Altschmied, L; Bloem, E; Bogs, J; Gershenzon, J; Hähnel, U; Mendel, R. 2005. Expression profiling of metabolic genes in response to methyl jasmonate reveals regulation of genes of primary and secondary sulfur-related pathways in *Arabidopsis thaliana*. *Photosynthesis Research* 86(3):491-508.
- Juárez, M; Olano, A; Morais, F. 2005. Alimentos funcionales. Madrid, España. Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología (FECYT)
- Kader, A. 2011. Tecnología postcosecha de cultivos hortofrutícolas. UCANR Publications.
- Kamffer, Z; Bindon, K; Oberholster, A. 2010. Optimization of a method for the extraction and quantification of carotenoids and chlorophylls during ripening in grape berries (*Vitis vinifera* cv. Merlot). *Journal of agricultural and food chemistry* 58(11):6578-6586.
- Kao, T; Loh, C; Stephen Inbaraj, B; Chen, B. 2012. Determination of carotenoids in *Taraxacum formosanum* by HPLC–DAD–APCI-MS and preparation by column

chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 66: 144-153.

Kapusta-Duch, J; Kusznierevicz, B; Leszczyńska, T; Borczak, B. 2016. Effect of cooking on the contents of glucosinolates and their degradation products in selected Brassica vegetables. *Journal of Functional Foods* 23:412-422.

Kimura, M; Kobori, C; Rodriguez-Amaya, D; Nestel, P. 2007. Screening and HPLC methods for carotenoids in sweetpotato, cassava and maize for plant breeding trials. *Food Chemistry* 100:1734-1746.

King, S; Gershoff, S. 1987. Nutritional evaluation of three underexploited Andean tubers: *Oxalis tuberosum* (Oxalidaceae), *Ullucus tuberosus* (Basellaceae), and *Tropaeolum tuberosum* (Tropaeolaceae). *Econ Bot* 41(4):503-511.

Kissen, R; Rossiter, J; Bones, A. 2009. The “mustard oil bomb”: not so easy to assemble?! Localization, expression and distribution of the components of the myrosinase enzyme system. *Phytochemistry Reviews* 8(1):69-86.

Kissen, R; Rossiter, J; Bones, A. 2009. The “mustard oil bomb”: not so easy to assemble?! Localization, expression and distribution of the components of the myrosinase enzyme system. *Phytochemistry Reviews* 8(1):69-86.

Kleinwächter, M; Schnug, E; Selmar, D. 2008. The Glucosinolate– Myrosinase System in Nasturtium (*Tropaeolum majus* L.): Variability of Biochemical Parameters and Screening for Clones Feasible for Pharmaceutical Utilization. *Journal of agricultural and food chemistry* 56(23):11165-11170.

Kotíková, Z; Šulc, M; Lachman, J; Pivec, V; Orsák, M; Hamouz, K. 2016. Carotenoid profile and retention in yellow-, purple-and red-fleshed potatoes after thermal processing. *Food chemistry* 197:992-1001.

- Lam, T; Gallicchio, L; Lindsley, K; Shiels, M; Hammond, E; Tao, X; Guallar, E. 2009. Cruciferous vegetable consumption and lung cancer risk: a systematic review. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers* 18(1):184-195.
- Laurberg, P; Andersen, S; Knudsen, N; Ovesen, L; Nohr, S; Pedersen, I. 2002. Thiocyanate in food and iodine in milk: From domestic animal feeding to improved understanding of cretinism. *Thyroid* 12:897-902.
- Lawson, A; Long, M; Coffey, R; Qian, Y; Weerapana, E; El Oualid, F; Hedstrom, L. 2015. Naturally occurring isothiocyanates exert anticancer effects by inhibiting deubiquitinating enzymes. *Cancer research* 75(23):5130-5142.
- Lee, C. 1986. Changes in carotenoid content of carrots during growth and post-harvest storage. *Food chemistry* 20(4):285-293.
- Lee, D; Jeon, D; Park, S; Arasu, M; Al-Dhabi, N; Kim, S; Kim, S. 2015. Effect of cold storage on the contents of glucosinolates in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*). *South Indian Journal of Biological Sciences* 1(1):38-42.
- Lee, J; Lim, S; Kim, J; Lee, E. 2017. The mechanism of deterioration of the glucosinolate-myrosinase system in radish roots during cold storage after harvest. *Food Chemistry* 233:60-68.
- Li, X; Kushad, M. 2004. Correlation of glucosinolate content to myrosinase activity in horseradish (*Armoracia rusticana*). *Journal of agricultural and food chemistry* 52(23):6950-6955.
- Lim, S; Lee, E; Kim, J. 2015. Decreased sulforaphene concentration and reduced myrosinase activity of radish (*Raphanussativus* L.) root during cold storage. *Postharvest Biology and Technology* 100:219-225.

- Lim, T. 2016. *Tropaeolum tuberosum*. In Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants. Springer International Publishing. p. 94-102.
- Liu, L; Zabarás, D; Bennett, L; Aguas, P; Woonton, B. 2009. Effects of UV-C, red light and sun light on the carotenoid content and physical qualities of tomatoes during post-harvest storage. *Food Chemistry* 115(2):495-500.
- Manrique, I; Arbizu, C; Vivanco, F; Gonzales, R; Ramírez, C; Chávez, O; Tay, D; Ellis, D. 2013. *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. Colección de germoplasma de mashua conservada en el Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú, Centro Internacional de la Papa. 122 p.
- Martín, J; Higuera, B. 2016. Glucosinolate composition of Colombian accessions of mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón), structural elucidation of the predominant glucosinolate and assessment of its antifungal activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 96(14):4702-4712.
- Matsumoto, H; Ikoma, Y; Kato, M; Nakajima, N; Hasegawa, Y. 2009. Effect of postharvest temperature and ethylene on carotenoid accumulation in the flavedo and juice sacs of Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) fruit. *Journal of agricultural and food chemistry* 57(11):4724-4732.
- Matusheski, N; Juvik, J; Jeffery, E. 2004. Heating decreases epithiospecifier protein activity and increases sulforaphane formation in broccoli. *Phytochemistry* 65(9):1273-1281.
- McGuire, A. M. 2004. Mustard green manure crops replace fumigant and improve infiltration in potato cropping system. *Crop Management* 2(1):331-333.
- Mein, J; Dolnikowski, G; Ernst, H; Russell, R; Wang, X. 2011. Enzymatic formation of apo-carotenoids from the xanthophyll carotenoids lutein, zeaxanthin and β -cryptoxanthin by ferret carotene-9', 10'-monooxygenase. *Archives of biochemistry and biophysics*

506(1):109-121.

Meléndez-Martínez, A; Britton, G; Vicario, I; Heredia, F. 2007. Relationship between the colour and the chemical structure of carotenoid pigments. *Food Chemistry* 101:1145-1150.

Mendivil, C; Sierra, I; Pérez, C; Hernandez, B. 2002. Antioxidantes y enfermedad vascular. *Clínica e Investigación en arteriosclerosis* 14:26-40.

Mercadante, A. 2007. Carotenoids in Foods: Sources and Stability during Processing and Storage. *Food colorants: Chemical and functional properties* 213 p.

Mewis, I; Appel, H; Hom, A; Raina, R; Schultz, J. 2005. Major signaling pathways modulate Arabidopsis glucosinolate accumulation and response to both phloem-feeding and chewing insects. *Plant Physiology* 138(2):1149-1162.

MINAGRI (Ministerio de Agricultura y Riego). 2018. Sistema de Información Regional para la toma de decisiones (en línea). Consultado 13 de jun. 2018. Disponible en <http://webinei.inei.gob.pe:8080/SIRTOD/inicio.html#app=8d5c&d4a2-selectedIndex=0&d9ef-selectedIndex=1>

Mithen, R. 2001. Glucosinolates and their degradation products. *Advances in botanical research* 35:213-262.

Mithen, RF; Dekker, M; Verkerk, R; Rabot, S; Johnson, IT. 2000. The nutritional significance, biosynthesis and bioavailability of glucosinolates in human foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 967-984.

Moise, A; Al-Babili, S; Wurtzel, E. 2013. Mechanistic aspects of carotenoid biosynthesis. *Chemical reviews* 114(1):164-193.

- Moscol, R. 2013. Influencia de la cocción en el contenido de compuestos fenólicos, antocianinas, flavanoles y glucosinolatos y en la capacidad antioxidante de la mashua morada (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón). Tesis Ing. Lima, Perú, UNALM.
- Muñoz, S; Olza, J; Gómez, C. 2010. Tratado de Nutrición: Composición y calidad nutritiva de los alimentos. 2 ed. Madrid, España. Medica Panamericana. Tomo II. p. 397-428.
- Nadeau, F; Gaudreau, A; Angers, P; Arul, J. 2011. Changes in the level of glucosinolates in broccoli florets (*Brassica oleracea* var. *italic*) during storage following postharvest treatment with UV-C. In IV International Conference Postharvest Unlimited 2011(945):145-148.
- Nisar, N; Li, L; Lu, S; Khin, N; Pogson, B. 2015. Carotenoid metabolism in plants. *Molecular plant* 8(1):68-82.
- Noviendri, D; Hasrini, R; Octavianti, F. 2011. Carotenoids: Sources, medicinal properties and their application in food and nutraceutical industry. *Journal of Medicinal Plants Research* 5(33):7119-7131.
- Ortega, O; Kliebenstein, D; Arbizu, C; Ortega, R; Quiros, C. 2006. Glucosinolate survey of cultivated and feral mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) in the Cuzco Region of Peru. *Economic botany* 60(3):254-264.
- Pedreschi, R; Lurie, S. 2015. Advances and current challenges in understanding postharvest abiotic stresses in perishables. *Postharvest Biology and Technology* 107:77-89.
- Pérez, M. 2005. Evaluación de las características funcionales de diez cultivares de mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) en 6 estados de crecimiento y diferentes periodos de soleado. Tesis Ing. Lima, Perú, UNALM.

- Perkins-Veazie, P; Collins, J. 2006. Carotenoid changes of intact watermelons after storage. *Journal of agricultural and food chemistry* 54(16):5868-5874.
- Pfündel, E; Bilger, W. 1994. Regulation and possible function of the violaxanthin cycle. *Photosynthesis Research* 42(2):89-109.
- Piotrowski, M; Schemenewitz, A; Lopukhinat, A; Mueller, A; Janowirs, T; Weiler, E; Oecking, C. 2004. Desulfoglucosinolate sulfotransferasas from *Arabidopsis thaliana* catalyze the final step in the biosynthesis of the glucosinolate core structure. *The Journal of Biological Chemistry* 279(49):50717-50725.
- Planella, I. 1987. Tecnología en el manejo postcosecha de frutas y hortalizas. Bogotá: IICA.
- Pokorny, J; Yanishlieva, N; Gordón, M. 2005 *Antioxidantes de los alimentos: Aplicaciones prácticas*. Zaragoza, España. Acribia. 364 p.
- PNIA (Programa Nacional de Innovación Agraria). 2017. Mejoran producción de mashua negra y papa nativa en Junín con proyecto de innovación agraria (en línea). Consultado 13 de jun. 2018. Disponible en http://www.pnia.gob.pe/Noticia/noticia_detalle/NzA=
- Ramallo, R; Wathelet, J; Le Boulengé, E; Torres, E; Marlier, M; Ledent, J; Larondelle, Y. 2004. Glucosinolates in isano (*Tropaeolum tuberosum*) tubers: qualitative and quantitative content and changes after maturity. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84(7):701-706.
- Ramírez, M; Roosevelt, D. 2017. Evaluación del efecto de la presión y temperaturas en la extracción con CO₂-supercrítico, de glucosinolatos de mashua chispeada (*Tropaeolum tuberosum*).

- Ramón, F. 2017. Efecto del estrés abiótico post-cosecha en las características físico-químicas y síntesis de metabolitos primarios de mashua morada (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón). Tesis Ing. Lima, Perú, UNALM.
- Ramos, A; Sánchez E; Urdanivia, R. 2015. Pronostico estacional periodo: mayo-junio-julio 2015. Ministerio del Ambiente Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú. Dirección regional de Junín 1(3).
- Rangkadilok, N; Tomkins, B; Nicolas, M; Premier, R; Bennett, R; Eagling, D; Taylor, P. 2002. The effect of post-harvest and packaging treatments on glucoraphanin concentration in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *J. Agric. Food Chem* 50:7386-7391.
- Reyes, M; Gómez-Sánchez, I; Espinoza, C; Bravo, F; Ganoza, L. 2009. Tablas peruanas de composición de alimentos. Lima, Perú, Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
- Robles, E. 1981. Origen y evolución de la oca, ullucu y mashua. Lima, Perú, UNALM.
- Rodrigues, A; Rosa, E. 1999. Effect of post-harvest treatments on the level of glucosinolates in broccoli. *J. Sci. Food Agric* 79:1028-1032.
- Rodriguez-Amaya, D. 1997. Changes in carotenoides during processing and storage of foods. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 49:38-47.
- Rodríguez-Concepción, M. 2010. Supply of precursors for carotenoid biosynthesis in plants. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 504(1):118-122.
- Römer, S; Lübeck, J; Kauder, F; Steiger, S; Adomat, C; Sandmann, G. 2002. Genetic engineering of a zeaxanthin-rich potato by antisense inactivation and co-suppression of carotenoid epoxidation. *Metabolic engineering* 4(4):263-272.

- Royston, K; Tollefsbol, T. 2015. The epigenetic impact of cruciferous vegetables on cancer prevention. *Current pharmacology reports* 1(1):46-51.
- Rungapamestry, V; Duncan, A; Fuller, Z; Ratcliffe, B. 2006. Changes in Glucosinolate Concentrations, Myrosinase Activity, and Production of Metabolites of Glucosinolates in Cabbage. *J. Agric. Food Chem* 54:7628-7634.
- Rungapamestry, V; Duncan, A; Fuller, Z; Ratcliffe, B. 2008. Influence of blanching and freezing broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) prior to storage and cooking on glucosinolate concentrations and myrosinase activity. *European Food Research and Technology* 227(1):37.
- Rybarczyk-Plonska, A; Hagen, S; Borge, G; Bengtsson, G; Hansen, M; Wold, A. 2016. Glucosinolates in broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) as affected by postharvest temperature and radiation treatments. *Postharvest Biology and Technology* 116:16-25.
- Salisbury, F; Ross, C. 2000. *Fisiología de las plantas*. Madrid, España. Thomson Editores. 988 p.
- Santocono, M; Zurria, M; Berrettini, M; Fedeli, D; Falcioni, G. 2007. Lutein, zeaxanthin and astaxanthin protect against DNA damage in SK-N-SH human neuroblastoma cells induced by reactive nitrogen species. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 88(1):1-10.
- Schreiner, M; Huyskens-Keil, S. 2006. Phytochemicals in fruit and vegetables: health promotion and postharvest elicitors. *Critical reviews in plant sciences* 25(3):267-278.
- Schreiner, M; Krumbein, A; Mewis, I; Ulrichs, C; Huyskens-Keil, S. 2009. Short-term and moderate UV-B radiation effects on secondary plant metabolism in different organs of nasturtium (*Tropaeolum majus* L.). *Innovative food science & emerging technologies*

10(1):93-96.

Schwartz, S; Tan, B; Gage, D; Zeevaart, J; McCarty, D. 1997. Specific oxidative cleavage of carotenoids by VP14 of maize. *Science* 276(5320):1872-1874.

Seo, M; Koshiba, T. 2002. Complex regulation of ABA biosynthesis in plants. *Trends in plant science* 7(1):41-48.

Shen, Y; Hu, Y; Huang, K; Yin, S; Chen, B; Yao, S. 2009. Solid-phase extraction of carotenoids. *Journal of Chromatography A* 1216(30):5763-5768.

Shikita, M; Fahey, J; Golden, T; Holtzclaw, W; Talalay, P. 1999. An unusual case of 'uncompetitive activation' by ascorbic acid: purification and kinetic properties of a myrosinase from *Raphanus sativus* seedlings. *Biochemical Journal* 341(3):725-732.

Sønderby, I; Geu-Flores, F; Halkier, B. 2010. Biosynthesis of glucosinolates-gene discovery and beyond. *Trends in Plant Science* 15(5): 283-290.

Song, L; Thornalley, P. 2007. Effect of storage, processing and cooking on glucosinolate content of Brassica vegetables. *Food and Chemical Toxicology* 45(2):216-224.

Soria, S; Vega, R; Damsteegt, V; McDaniel, L; Kitto, S; Evans, T. 1998. Occurrence and partial characterization of a new mechanically transmissible virus in mashua from the Ecuadorian Highlands. *Plant disease* 82(1):69-73.

Sperling, C; King, S. 1990. Andean tuber crops: worldwide potential. In *Advances in new crops. Proceedings of the first national symposium new crops: research, development, economics, Indianapolis, Indiana, USA, 23-26 October 1988.* p. 428-435.

- Taipalensuu, J; Falk, A; Rask, L. 1996. A wound-and methyl jasmonate-inducible transcript coding for a myrosinase-associated protein with similarities to an early nodulin. *Plant physiology* 110(2):483-491.
- Taíz, L; Zeiger, E. 2006. *Plant Physiology*. 4ed. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates Inc Publishers. 764.
- Tapia, C; Castillo, R; Mazón, N. 1996. Catálogo de Recursos Genéticos de Raíces y Tubérculos andinos en Ecuador. Quito, Ecuador, INIAP (Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias).
- Tavarini, S; Degl'Innocenti, E; Remorini, D; Massai, R; Guidi, L. 2008. Antioxidant capacity, ascorbic acid, total phenols and carotenoids changes during harvest and after storage of Hayward kiwifruit. *Food Chemistry* 107(1):282-288.
- Temoche, C. 2003. Evaluación de algunas características funcionales de 30 clones de mashua (*Tropaeolum tuberosum*, Ruiz y Pavón). Tesis Ing. Lima, Perú, UNALM.
- Toivonen, P; Forney, C. 2004. Broccoli. In *The commercial storage of fruits, vegetables and florist and nursery stock*. USDA, ARS agriculture Handbook 66.
- Torres, O; Perea-Dallos, M; Fandino, T. 1992. Micropropagation of Cubio (*Tropaeolum tuberosum* R & P). In *High-Tech and Micropropagation III*. Springer Berlin Heidelberg. 160-171 p.
- Traka, M; Melchini, A; Mithen, R. 2014. Sulforaphane and prostate cancer interception. *Drug discovery today* 19(9):1488-1492.
- Trivelli, C; Smith, S. 1997. Cultivos andinos y el mercado: El caso del ulluco en la sierra sur del Perú. Lima, Perú, Centro Internacional de la Papa (CIP).

- Valverde, J; Reilly, K; Villacreces, S; Gaffney, M; Grant, J; Brunton, N. 2015. Variation in bioactive content in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) grown under conventional and organic production systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 95(6):1163-1171.
- Van Eylen, D; Oey, I; Hendrickx, M; Van Loey, A. 2007. Kinetics of the stability of broccoli (*Brassica oleracea* Cv. *Italica*) myrosinase and isothiocyanates in broccoli juice during pressure/temperature treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(6):2163-2170.
- Variyar, P; Banerjee, A; Akkarakaran, J; Suprasanna, P. 2014. Role of glucosinolates in plant stress tolerance. *Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance*. California, USA, Academic Press: San Diego. p. 271-291.
- Verkerk, R; Dekker, M. 2004. Glucosinolates and myrosinase activity in red cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *Capitata* f. *rubra* DC.) after various microwave treatments. *Journal of agricultural and food chemistry* 52(24):7318-7323.
- Verkerk, R; Dekker, M; Jongen, W. 2001. Post-harvest increase of indolyl glucosinolates in response to chopping and storage of *Brassica* vegetables. *J. Sci. Food Agric* 81(9):953-958.
- Villagómez, V; Rodríguez, G. 2000. *Kawa llacta micuy. Oca, ñu, olloco, llakuma*. Lima, Perú, UNALM.
- Wang, Y; Xu, W; Yan, X. 2011. Glucosinolate content and related gene expression in response to enhanced UV-B radiation in *Arabidopsis*. *African Journal of Biotechnology* 10(34):6481-6491.

- Wills, R; McGlasson, B; Graham, D; Joyce, D; Rushing, J. 1999. Postharvest: An introduction to the physiology and handling of fruit, vegetables and ornamentals. *Journal of vegetable crop production* 4(2):83-84.
- Wittstock, U; Halkier, B. 2002. Glucosinolates research in the *Arabidopsis era*. *Trends in Plant Science* 7(6):263-270.
- Yabar, E; Pedreschi, R; Chirinos, R; Campos, D. 2011. Glucosinolate content and myrosinase activity evolution in three maca (*Lepidium meyenii* Walp.) ecotypes during preharvest, harvest and postharvest drying. *Food Chemistry* 127:1576-1583.
- Yan, X; Chen, S. 2007. Regulation of plant glucosinolate metabolism. *Planta* 226(6):1343-1352.
- Yang, J; Zhu, Z; Wang, Z; Zhu, B. 2010. Effects of storage temperature on the contents of carotenoids and glucosinolates in Pakchoi (*Brassica rapa L. ssp. chinensis* var. *communis*). *Journal of food biochemistry* 34(6):1186-1204.
- Zhang, L; Cao, J; Hao, L; Kang, C. 2017. Quality Evaluation of *Lepidium meyenii* (Maca) Based on HPLC and LC-MS Analysis of its Glucosinolates from Roots. *Food Analytical Methods* 1-9.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: HUMEDAD Y MATERIA SECA EN MASHUA LIOFILIZADA

MUESTRA	HUMEDAD (%)	MATERIA SECA (%)
Control	2.31	97.69
Refrigeración 3d	8.68	91.32
Refrigeración 6d	3.72	96.28
Refrigeración 9d	2.67	97.23
Refrigeración 12d	5.19	94.81
Refrigeración 15d	3.12	96.88
Sombra 3d	5.34	94.66
Sombra 6d	3.57	96.43
Sombra 9d	1.74	98.26
Sombra 12d	7.29	92.71
Sombra 15d	2.37	97.63
Soleado 3d	2.39	97.61
Soleado 6d	3.32	96.68
Soleado 9d	2.85	97.15
Soleado 12d	2.29	97.71
Soleado 15	2.99	97.01

ANEXO 2: ANÁLISIS ESTADÍSTICO: CONTENIDO DE GLUCOSINOLATOS TOTALES E INDIVIDUALES

Glucosinolatos totales

ANVA - Suma de Cuadrados Tipo III

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	RAZÓN-F	VALOR-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Almacenamiento	11091.3	2	5545.66	738.69	0.0000
B:Día	3971.31	5	794.263	105.80	0.0000
INTERACCIONES					
AB	7674.0	10	767.4	102.22	0.0000
RESIDUOS	135.133	18	7.50741		
TOTAL (CORREGIDO)	22871.8	35			

Pruebas de Múltiple Rangos para Glucosinolatos totales por Almacenamiento

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

ALMACENAMIENTO	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
Soleado	12	28.6842	0.79096	X
Refrigeración	12	62.1817	0.79096	X
Sombra	12	68.775	0.79096	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Glucosinolatos totales por Día

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

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

Pruebas de Múltiple Rangos para Glucosinolatos totales por Interacción

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

INTERACCIÓN	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
Sol15	2	4.505	1.93745	X
Sol12	2	5.9	1.93745	X
Sol9	2	7.655	1.93745	X
Sol6	2	23.81	1.93745	X
Refri15	2	49.565	1.93745	X

«Continuación»

Refri0	2	54.185	1.93745	XX
Sombra0	2	54.185	1.93745	XX
Sol0	2	54.185	1.93745	XX
Refri3	2	57.565	1.93745	XX
Refri9	2	57.62	1.93745	XX
Sombra15	2	58.825	1.93745	XX
Sombra12	2	64.03	1.93745	XX
Sombra9	2	74.855	1.93745	XX
Refri6	2	75.775	1.93745	X
Sol3	2	76.05	1.93745	X
Refri12	2	78.38	1.93745	X
Sombra3	2	78.63	1.93745	X
Sombra6	2	82.125	1.93745	X

Glucoalisina

ANVA - Suma de Cuadrados Tipo III

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	RAZÓN-F	VALOR-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Almacenamiento	1.32215	2	0.661075	79.54	0.0000
B:Día	0.415067	5	0.0830133	9.99	0.0001
INTERACCIONES					
AB	1.35048	10	0.135048	16.25	0.0000
RESIDUOS	0.1496	18	0.00831111		
TOTAL (CORREGIDO)	3.2373	35			

Pruebas de Múltiple Rangos para Glucoalisina por Almacenamiento

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

ALMACENAMIENTO	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
Soleado	12	0.6975	0.0263172	X
Sombra	12	1.095	0.0263172	X
Refrigeración	12	1.1125	0.0263172	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Glucoalisina por Día

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

DÍA	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
9	6	0.84	0.0372181	X
12	6	0.886667	0.0372181	XX
15	6	0.893333	0.0372181	XX

«Continuación»

0	6	1.005	0.0372181	XXX
6	6	1.02833	0.0372181	XX
3	6	1.15667	0.0372181	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Glucoalísina por Interacción

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

INTERACCIÓN	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
Sol12	2	0.32	0.0644636	X
Sol9	2	0.38	0.0644636	X
Sol6	2	0.53	0.0644636	XX
Sol15	2	0.76	0.0644636	XX
Sombra15	2	0.86	0.0644636	XXX
Refri9	2	0.955	0.0644636	XX
Sombra12	2	0.98	0.0644636	XX
Refri0	2	1.005	0.0644636	XXX
Sol0	2	1.005	0.0644636	XXX
Sombra0	2	1.005	0.0644636	XXX
Refri15	2	1.06	0.0644636	XXX
Refri3	2	1.105	0.0644636	XXX
Sombra3	2	1.175	0.0644636	XX
Sombra9	2	1.185	0.0644636	XX
Refri6	2	1.19	0.0644636	XX
Sol3	2	1.19	0.0644636	XX
Refri12	2	1.36	0.0644636	X
Sombra6	2	1.365	0.0644636	X

Glucosinalbina

ANVA - Suma de Cuadrados Tipo III

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	RAZÓN-F	VALOR-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Almacenamiento	0.0369056	2	0.0184528	24.51	0.0000
B:Día	0.0248139	5	0.00496278	6.59	0.0012
INTERACCIONES					
AB	0.0197611	10	0.00197611	2.63	0.0360
RESIDUOS	0.01355	18	0.000752778		
TOTAL (CORREGIDO)	0.0950306	35			

Pruebas de Múltiple Rangos para Glucosinalbina por Almacenamiento

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

ALMACENAMIENTO	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
Soleado	12	0.0791667	0.00792032	X
Refrigeración	12	0.138333	0.00792032	X
Sombra	12	0.153333	0.00792032	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Glucosinalbina por Día

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

DÍA	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
15	6	0.08	0.011201	X
12	6	0.113333	0.011201	XX
0	6	0.12	0.011201	XXX
9	6	0.12	0.011201	XXX
6	6	0.143333	0.011201	XX
3	6	0.165	0.011201	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Glucosinalbina por Interacción

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

INTERACCIÓN	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
Sol15	2	0	0.0194007	X
Sol9	2	0.05	0.0194007	XX
Sol12	2	0.055	0.0194007	XX
Sol6	2	0.09	0.0194007	XXX
Refri15	2	0.11	0.0194007	XXX
Refri0	2	0.12	0.0194007	XX
Sombra0	2	0.12	0.0194007	XX
Sol0	2	0.12	0.0194007	XX
Sombra15	2	0.13	0.0194007	XX
Refri3	2	0.14	0.0194007	XX
Refri12	2	0.14	0.0194007	XX
Sombra12	2	0.145	0.0194007	XX
Sombra9	2	0.15	0.0194007	XX
Refri9	2	0.16	0.0194007	XX
Sol3	2	0.16	0.0194007	XX
Refri6	2	0.16	0.0194007	XX
Sombra6	2	0.18	0.0194007	X
Sombra3	2	0.195	0.0194007	X

Glucobrasicina

ANVA - Suma de Cuadrados Tipo III

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	RAZÓN-F	VALOR-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Almacenamiento	0.0361056	2	0.0180528	209.65	0.0000
B:Día	0.0130139	5	0.00260278	30.23	0.0000
INTERACCIONES					
AB	0.0224944	10	0.00224944	26.12	0.0000
RESIDUOS	0.00155	18	0.0000861111		
TOTAL (CORREGIDO)	0.0731639	35			

Pruebas de Múltiple Rangos para Glucobrasicina por Almacenamiento

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

ALMACENAMIENTO	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
Soleado	12	0.0483333	0.00267879	X
Refrigeración	12	0.113333	0.00267879	X
Sombra	12	0.1175	0.00267879	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Glucobrasicina por Día

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

DÍA	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
15	6	0.0683333	0.00378838	X
9	6	0.08	0.00378838	XX
12	6	0.0816667	0.00378838	XX
0	6	0.095	0.00378838	XX
6	6	0.108333	0.00378838	XX
3	6	0.125	0.00378838	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Glucobrasicina por Interacción

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

INTERACCIÓN	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
Sol15	2	0	0.00656167	X
Sol12	2	0	0.00656167	X
Sol9	2	0	0.00656167	X
Sol6	2	0.07	0.00656167	X
Sombra0	2	0.095	0.00656167	XX

«Continuación»

Refri15	2	0.095	0.00656167	XX
Sol0	2	0.095	0.00656167	XX
Refri0	2	0.095	0.00656167	XX
Sombra15	2	0.11	0.00656167	X
Refri9	2	0.11	0.00656167	X
Sombra12	2	0.115	0.00656167	X
Refri3	2	0.12	0.00656167	X
Sombra6	2	0.125	0.00656167	X
Sol3	2	0.125	0.00656167	X
Sombra9	2	0.13	0.00656167	X
Refri12	2	0.13	0.00656167	X
Sombra3	2	0.13	0.00656167	X
Refri6	2	0.13	0.00656167	X

Glucotropaeolina

ANVA - Suma de Cuadrados Tipo III

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	RAZÓN-F	VALOR-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Almacenamiento	0.0982722	2	0.0491361	4422.25	0.0000
B:Día	0.0352556	5	0.00705111	634.60	0.0000
INTERACCIONES					
AB	0.0488944	10	0.00488944	440.05	0.0000
RESIDUOS	0.0002	18	0.0000111111		
TOTAL (CORREGIDO)	0.182622	35			

Pruebas de Múltiple Rangos para Glucotropaeolina por Almacenamiento

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

ALMACENAMIENTO	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
Soleado	12	0.0583333	0.00096225	X
Refrigeración	12	0.169167	0.00096225	X
Sombra	12	0.169167	0.00096225	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Glucotropaeolina por Día

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

DÍA	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
15	6	0.103333	0.00136083	X
9	6	0.108333	0.00136083	XX
6	6	0.113333	0.00136083	XX

«Continuación»

12	6	0.116667	0.00136083	X
0	6	0.17	0.00136083	X
3	6	0.181667	0.00136083	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Glucotropaeolina por Interacción

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

INTERACCIÓN	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
Sol12	2	0	0.00235702	X
Sol6	2	0	0.00235702	X
Sol9	2	0	0.00235702	X
Sol15	2	0	0.00235702	X
Refri15	2	0.15	0.00235702	X
Refri9	2	0.155	0.00235702	XX
Sombra15	2	0.16	0.00235702	XXX
Sombra6	2	0.165	0.00235702	XXX
Sombra0	2	0.17	0.00235702	XXX
Sombra12	2	0.17	0.00235702	XXX
Sol0	2	0.17	0.00235702	XXX
Sombra9	2	0.17	0.00235702	XXX
Refri0	2	0.17	0.00235702	XXX
Refri6	2	0.175	0.00235702	XXX
Sombra3	2	0.18	0.00235702	XX
Sol3	2	0.18	0.00235702	XX
Refri12	2	0.18	0.00235702	XX
Refri3	2	0.185	0.00235702	X

Glucobrietina

ANVA - Suma de Cuadrados Tipo III

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	RAZÓN-F	VALOR-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Almacenamiento	10712.1	2	5356.06	735.93	0.0000
B:Día	3846.8	5	769.36	105.71	0.0000
INTERACCIONES					
AB	7417.7	10	741.77	101.92	0.0000
RESIDUOS	131.003	18	7.27793		
TOTAL (CORREGIDO)	22107.6	35			

Pruebas de Múltiple Rangos para Glucoabrietina por Almacenamiento

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

ALMACENAMIENTO	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
Soleado	12	27.8008	0.778778	X
Refrigeración	12	60.6458	0.778778	X
Sombra	12	67.2433	0.778778	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Glucoabrietina por Día

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

DÍA	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
15	6	36.4933	1.10136	X
9	6	45.56	1.10136	X
12	6	48.2383	1.10136	XX
0	6	52.795	1.10136	X
6	6	59.1767	1.10136	X
3	6	69.1167	1.10136	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Glucoabrietina por Interacción

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

INTERACCIÓN	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
Sol15	2	3.745	1.90761	X
Sol12	2	5.525	1.90761	X
Sol9	2	7.225	1.90761	X
Sol6	2	23.125	1.90761	X
Refri15	2	48.16	1.90761	X
Refri0	2	52.795	1.90761	XX
Sombra0	2	52.795	1.90761	XX
Sol0	2	52.795	1.90761	XX
Refri3	2	56.005	1.90761	XX
Refri9	2	56.24	1.90761	XX
Sombra15	2	57.575	1.90761	XX
Sombra12	2	62.63	1.90761	XX
Sombra9	2	73.215	1.90761	XX
Refri6	2	74.115	1.90761	X
Sol3	2	74.39	1.90761	X
Refri12	2	76.56	1.90761	X
Sombra3	2	76.955	1.90761	X
Sombra6	2	80.29	1.90761	X

ANEXO 3: ANÁLISIS ESTADÍSTICO: ACTIVIDAD MIROSINASA

ANVA - Suma de Cuadrados Tipo III

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	RAZÓN-F	VALOR-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Almacenamiento	18.1907	2	9.09537	112.18	0.0000
B:Día	25.7326	5	5.14653	63.47	0.0000
INTERACCIONES					
AB	28.2226	10	2.82226	34.81	0.0000
RESIDUOS	2.91893	36	0.0810815		
TOTAL (CORREGIDO)	75.0649	53			

Pruebas de Múltiple Rangos para Actividad Mirosinasa por Almacenamiento

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

ALMACENAMIENTO	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
Soleado	18	3.17222	0.0671158	X
Sombra	18	3.48611	0.0671158	X
Refrigeración	18	4.53	0.0671158	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Actividad Mirosinasa por Día

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

DÍA	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
15	9	2.78333	0.094916	X
0	9	3.14	0.094916	XX
3	9	3.31667	0.094916	X
9	9	4.08444	0.094916	X
12	9	4.36667	0.094916	XX
6	9	4.68556	0.094916	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Actividad Mirosinasa por Interacción

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

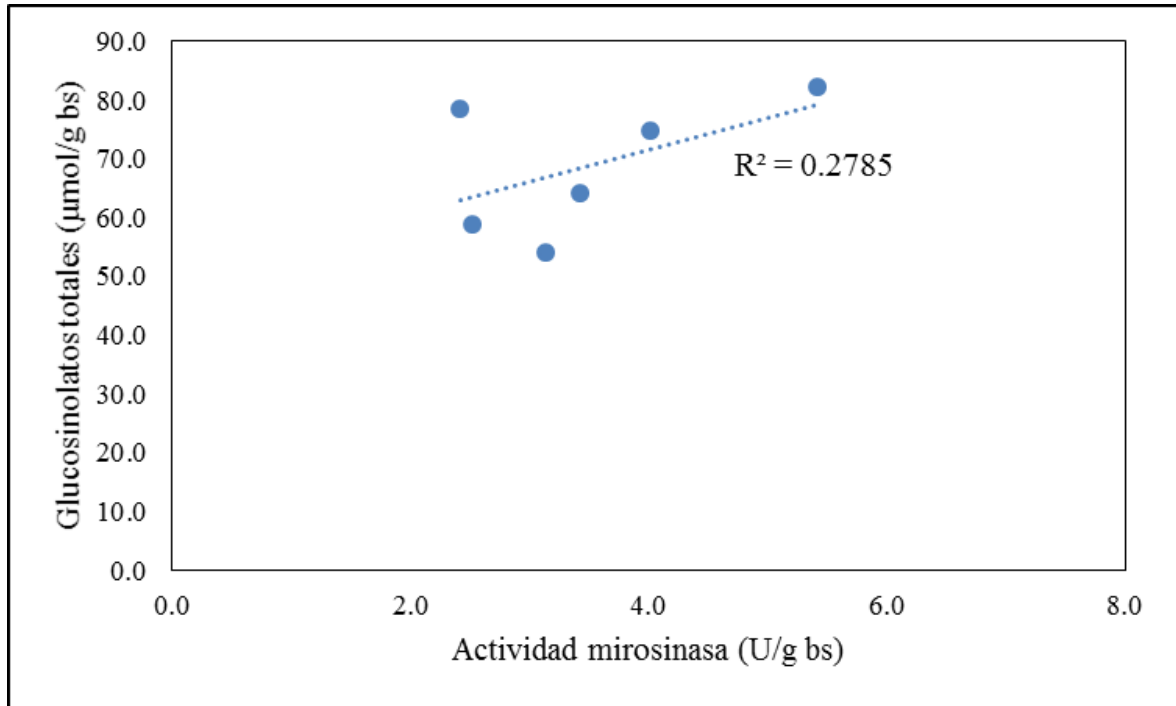
INTERACCIÓN	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
Soleado15	2	1.87667	0.164399	X
Sombra3	2	2.41667	0.164399	XX
Sombra15	2	2.51667	0.164399	XX

«Continuación»

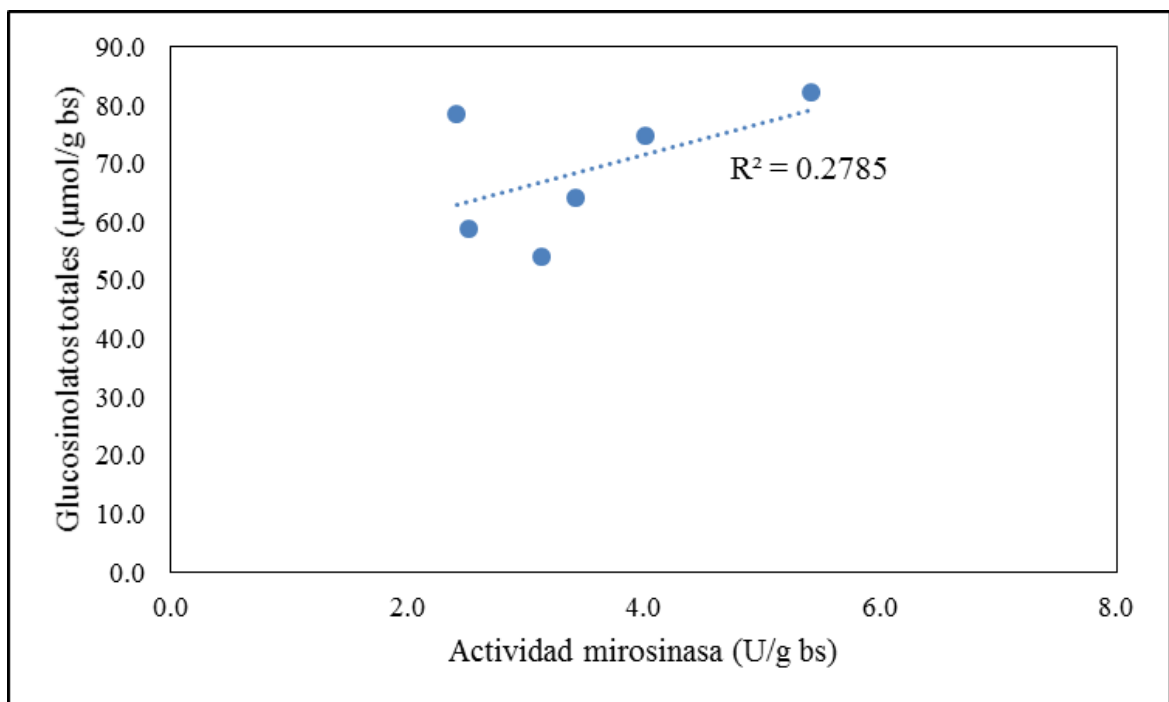
Soleado12	2	2.89333	0.164399	XX
Refrigeración0	2	3.14	0.164399	XXX
Soleado0	2	3.14	0.164399	XXX
Sombra0	2	3.14	0.164399	XXX
Soleado9	2	3.15667	0.164399	XXXX
Sombra12	2	3.42	0.164399	XXX
Refrigeración3	2	3.51333	0.164399	XXX
Soleado6	2	3.94667	0.164399	XXX
Refrigeración15	2	3.95667	0.164399	XXX
Sombra9	2	4.01333	0.164399	XX
Soleado3	2	4.02	0.164399	XX
Refrigeración6	2	4.7	0.164399	XX
Refrigeración9	2	5.08333	0.164399	X
Sombra6	2	5.41	0.164399	X
Refrigeración12	2	6.78667	0.164399	X

ANEXO 4: CORRELACIÓN ENTRE ACTIVIDAD MIROSINASA Y GLUCOSINOLATOS TOTALES

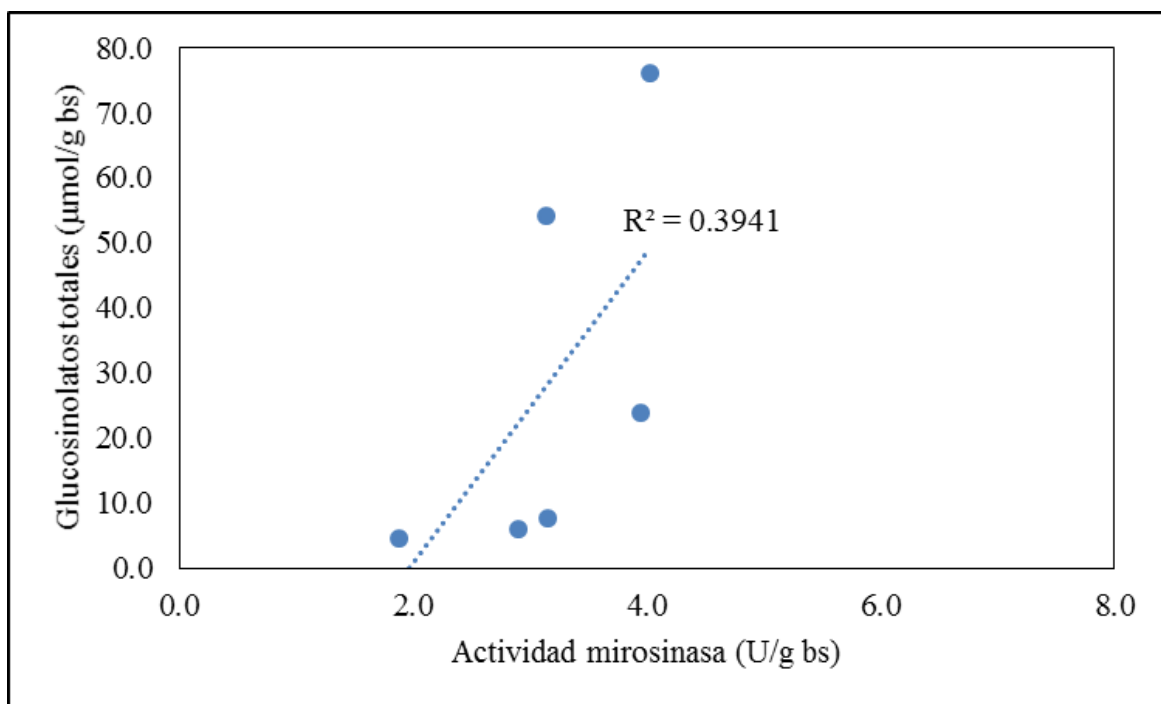
Correlación: Actividad mirosinasa/glucosinolatos totales (refrigeración)



Correlación: Actividad mirosinasa/glucosinolatos totales (sombra)



Correlación: Actividad mirosinasa/glucosinolatos totales (soleado)



ANEXO 5: ANÁLISIS ESTADÍSTICO: CONTENIDO DE CAROTENOIDES TOTALES

ANVA - Suma de Cuadrados Tipo III

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	RAZÓN-F	VALOR-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Almacenamiento	29.8793	2	14.9397	67.92	0.0000
B:Día	6.53499	5	1.307	5.94	0.0004
INTERACCIONES					
AB	27.7407	10	2.77407	12.61	0.0000
RESIDUOS	7.919	36	0.219972		
TOTAL (CORREGIDO)	72.074	53			

Pruebas de Múltiple Rangos para Carotenoides por Almacenamiento

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

ALMACENAMIENTO	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
Soleado	18	4.29778	0.110547	X
Refrigeración	18	5.17556	0.110547	X
Sombra	18	6.11944	0.110547	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Carotenoides por Día

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

DÍA	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
9	9	4.57556	0.156337	X
12	9	5.06778	0.156337	XX
0	9	5.14333	0.156337	XX
15	9	5.20556	0.156337	XX
3	9	5.57667	0.156337	X
6	9	5.61667	0.156337	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Carotenoides por Interacción

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

INTERACCIÓN	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
Soleado9	2	3.53333	0.270784	X
Soleado12	2	3.59333	0.270784	XX

«Continuación»

Soleado15	2	3.60333	0.270784	XX
Soleado6	2	3.83333	0.270784	XXX
Refrigeración9	2	4.36333	0.270784	XXXX
Refrigeración15	2	5.02333	0.270784	XXXX
Sombra3	2	5.07	0.270784	XXX
Soleado0	2	5.14333	0.270784	XXX
Sombra0	2	5.14333	0.270784	XXX
Refrigeración0	2	5.14333	0.270784	XXX
Refrigeración12	2	5.39333	0.270784	XX
Refrigeración6	2	5.55	0.270784	XX
Refrigeración3	2	5.58	0.270784	XXX
Sombra9	2	5.83	0.270784	XX
Soleado3	2	6.08	0.270784	XXX
Sombra12	2	6.21667	0.270784	XXX
Sombra15	2	6.99	0.270784	XX
Sombra6	2	7.46667	0.270784	X