

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS



“Impregnación al vacío de fructooligosacáridos de yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp & Endl.) en manzana”

Presentado por:

REINA ANDREA MEJÍA AGUILA

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

Lima - Perú

2015

Usted:

“Siempre sonría por todas las cosas que aprende y entrega día a día porque las hace con pasión y con esa curiosidad de querer descubrir más sobre la vida.”

Al que siempre ha estado conmigo y me ha permitido seguir aprendiendo de cada una de mis etapas de la vida:

“El sentido común”

“Itas: Más que amigas, hermanas”

“Galletas de vainilla y caramelitos de limón”

“...la noté feliz, con entusiasmo de estar ahí.”

AGRADECIMIENTOS

- Al Dr. David Campos, por su paciencia, exigencia, orientación y haberme dado la oportunidad de seguir aprendiendo más.
- A mi Dra. Ana Aguilar, por convertirse en mi guía y apoyo en cada una de las experiencias que me tocó vivir durante el desarrollo de este trabajo, por su exigencia y compromiso conmigo para seguir dando lo mejor y superarme a mí misma.
- A la familia del Instituto de Biotecnología Industrial (IBT), por permitirme aprender de su calidad humana y profesional y apoyarme en mi desenvolvimiento personal y de la presente investigación.
- A mis alumnitos de Ingeniería de Alimentos II, Principios de Control y Automatización, Ingeniería de la Producción, Termodinámica y Refrigeración y Congelación de Alimentos, por compartir conmigo la experiencia de ser profesora y en particular, a Yair Guzmán y Billy Gonzales por brindarme su amistad y apoyo.
- A mi familia, por ser mi motivación y mi fuente de apoyo incondicional.
- Al Vicerrectorado de Investigación, por el apoyo financiero otorgado para el desarrollo de la presente tesis.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1.	YACÓN	3
2.1.1.	Origen y producción nacional.....	3
2.1.2	Clasificación taxonómica.....	4
2.1.3	Características del yacón	4
2.1.4	Composición química	5
2.1.5	Formas de procesamiento	7
2.1.6	Beneficios de su consumo	9
2.2	MANZANA.....	11
2.2.1	Origen y producción nacional.....	11
2.2.2	Clasificación taxonómica.....	12
2.2.3	Características de la manzana	13
2.2.4	Composición química	14
2.2.5	Formas de procesamiento	16
2.2.6	Beneficios de su consumo	16
2.3	Fructooligosacáridos (FOS).....	17
2.3.1	Definición y estructura química.....	17
2.3.2	Metabolismo de los fructooligosacáridos	20
2.3.3	Prebióticos y efectos benéficos de los FOS	20
2.4	PROCESOS TECNOLÓGICOS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA	21
2.4.1	Clarificación	21
2.4.2	Impregnación al vacío.....	24
2.4.3	Deshidratación	28
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
3.1	LUGAR DE EJECUCIÓN	30
3.2	MATERIA PRIMA	30
3.3	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.....	30
3.3.1	Equipos	30
3.3.2	Materiales de laboratorio	31
3.3.3	Reactivos.....	32

3.4	MÉTODOS DE ANÁLISIS	33
3.4.1	Sólidos solubles (grados Brix).....	33
3.4.2	pH y acidez titulable	33
3.4.3	Sólidos totales	33
3.4.4	Ceniza	34
3.4.5	Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante	34
3.4.6	Color por el método CIELAB.....	35
3.4.7	Densidad	36
3.4.8	Azúcares reductores.....	36
3.4.9	Contenido de glucosa, fructosa, sacarosa y FOS	37
3.4.10	Perfil de FOS	38
3.4.11	Actividad de agua	38
3.4.12	Calcio, fósforo y potasio.....	39
3.4.13	Textura.....	39
3.5	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	39
3.5.1	Obtención de la harina de yacón.....	39
3.5.2	Obtención del extracto clarificado de yacón.....	40
3.5.3	Obtención de <i>snacks</i> de manzanas impregnados con extracto concentrado de yacón al vacío.....	43
3.6	DISEÑO EXPERIMENTAL	44
3.6.1	Influencia de la concentración de fosfato tricálcico en la clarificación del extracto de yacón y rendimiento en FOS.....	44
3.6.2	Influencia de la concentración del extracto concentrado de yacón y las temperaturas de impregnación en el contenido de FOS y el color de los <i>snacks</i> de manzana.....	44
3.6.3	Efecto del tiempo de almacenamiento en la estabilidad de los <i>snacks</i> impregnados	45
3.7	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	45
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
4.1	CARACTERIZACIÓN DE LA HARINA DE YACÓN Y DEL EXTRACTO BRUTO.....	46
4.2	CARACTERIZACIÓN DE LA MANZANA	48
4.3	INFLUENCIA DEL FOSFATO TRICÁLCICO EN LA CLARIFICACIÓN DEL EXTRACTO BRUTO.....	51
4.4	CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y FUNCIONAL DE LOS EXTRACTOS CONCENTRADOS	54

4.5	EVALUACIÓN DE LA IMPREGNACIÓN DE LOS SNACKS DE MANZANAS CON EXTRACTO CLARIFICADO DE YACÓN	57
4.6	CARACTERIZACIÓN DEL <i>SNACK</i> IMPREGNADO.....	62
4.7	EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DURANTE EL ALMACENAMIENTO EN EL CONTENIDO DE FOS Y OTRAS CARACTERÍSTICAS EN <i>SNACKS</i> DE MANZANAS IMPREGNADOS.....	65
V.	CONCLUSIONES.....	68
VI.	RECOMENDACIONES.....	69
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
VIII.	ANEXOS	84

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Composición química promedio de 10 entradas de yacón procedentes de Perú, Bolivia, Ecuador y Argentina (expresado en porcentaje de materia comestible de raíz fresca)	5
Cuadro 2: Contenido de sacáridos en raíces de yacón.....	6
Cuadro 3: Contenido de algunos componentes minoritarios en la raíz de yacón (mg/100 g de materia fresca).....	7
Cuadro 4: Evolución de las exportaciones del producto yacón según sus principales presentaciones en US\$ 2008-2013	9
Cuadro 5: Producción nacional total y precio en chacra de manzana	12
Cuadro 6: Composición proximal de la manzana delicia y manzana de agua	15
Cuadro 7: Contenido de compuestos fenólicos (mg/ 100g bh) en pulpa de manzana.....	15
Cuadro 8: Características de la harina de yacón.....	46
Cuadro 9: Características del extracto bruto.....	47
Cuadro 10: Densidad aparente, densidad real y porosidad de diferentes variedades de manzana	48
Cuadro 11: Características físicoquímicas y funcionales de la manzana Delicia.....	50
Cuadro 12: Evaluación del color y rendimiento de FOS de los extractos clarificados con diferentes concentraciones de fosfato tricálcico	53
Cuadro 13: Características físicoquímicas y funcionales de los extractos concentrados de yacón.....	55
Cuadro 14: Caracterización de los <i>snacks</i> impregnados con extracto de yacón	57
Cuadro 15: Caracterización del <i>snack</i> impregnado	63
Cuadro 16: Proporción de tipo de FOS en el <i>snack</i> impregnado.....	65
Cuadro 17: Características del <i>snack</i> impregnado durante el almacenamiento.....	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estructura química de los FOS.....	18
Figura 2: Mecanismo hidrodinámico en un poro (ideal).....	26
Figura 3: Secuencia de pasos en la transferencia de masa entre un alimento poroso inmerso en un líquido bajo condiciones de vacío. Situación de un poro ideal.....	28
Figura 4: Flujo de operaciones para la obtención de extracto clarificado de yacón a partir de raíz de yacón	42
Figura 5: Contenido de fructosa (A), glucosa (B), azúcares reductores (C) y FOS (D) expresado como porcentaje, de los extractos clarificados de yacón.....	52
Figura 6: Perfil de FOS en <i>snacks</i> impregnados a 20°Brix y 25°C (A), 28°Brix y 25°C (B), 36°Brix y 25°C (C), 20°Brix y 35°C (D), 28°Brix y 35°C (E) y 36°Brix y 35°C (F)	58
Figura 7: Curvas de secado de <i>snacks</i> impregnados con extractos concentrados de yacón a 25°C (A) y a 35°C (B).....	61

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1-A: Determinación del contenido de compuesto fenólicos.....	84
ANEXO 2-A: Determinación de la capacidad antioxidante por el método ABTS	85
ANEXO 3-A: Determinación de la capacidad antioxidante por el método de ORAC.....	87
ANEXO 4-A: Determinación de densidad aparente y densidad real de manzanas.....	90
ANEXO 5-A: Determinación de azúcares reductores (Miller, 1959)	92
ANEXO 6-A: Determinación de fructooligosacáridos por HPLC	94
ANEXO 1-B: Densidad aparente y real de variedades de manzana.....	95
ANEXO 2-B: Contenido de fructosa, glucosa, sacarosa, FOS y azúcares reductores de los extractos clarificados de yacón tratados a diferentes concentraciones de fosfato tricálcico.....	96
ANEXO 3-B: Influencia de la concentración de fosfato tricálcico en el rendimiento de FOS y variación del color en el extracto clarificado de yacón	97
ANEXO 4-B: Influencia de la temperatura y concentración del extracto clarificado en el contenido de FOS y variación de color de los <i>snacks</i> impregnados.....	98
ANEXO 5-B: Influencia del tiempo de almacenamiento en la humedad de los <i>snacks</i> impregnados.....	99
ANEXO 6-B: Influencia del tiempo de almacenamiento en la actividad de agua de los <i>snacks</i> impregnados.....	100
ANEXO 7-B: Influencia del tiempo de almacenamiento en la variación del color de los <i>snacks</i> impregnados.....	101
ANEXO 8-B: Influencia del tiempo de almacenamiento en la textura de los <i>snacks</i> impregnados.....	102
ANEXO 9-B: Influencia del tiempo de almacenamiento en el pH de los <i>snacks</i> impregnados.....	103
ANEXO 10-B: Influencia del tiempo de almacenamiento en la acidez titulable de los <i>snacks</i> impregnados.....	104
ANEXO 11-B: Influencia del tiempo de almacenamiento en el contenido de FOS de los <i>snacks</i> impregnados.....	105
ANEXO 1-C: Análisis estadístico – Influencia de la variedad en la porosidad de las manzanas	106
ANEXO 2-C: Análisis estadístico - Influencia de la concentración de fosfato tricálcico en el contenido de fructosa del extracto clarificado de yacón.....	106

ANEXO 3-C: Análisis estadístico – Influencia de la concentración de fosfato tricálcico en el contenido de glucosa del extracto clarificado de yacón	107
ANEXO 4-C: Análisis estadístico – Influencia de la concentración de fosfato tricálcico en el contenido de sacarosa del extracto clarificado de yacón	108
ANEXO 5-C: Análisis estadístico – Influencia de la concentración de fosfato tricálcico en el contenido de azúcares reductores del extracto clarificado de yacón	109
ANEXO 6-C: Análisis estadístico – Influencia de la concentración de fosfato tricálcico en el contenido de FOS del extracto clarificado de yacón	110
ANEXO 7-C: Análisis estadístico – Influencia de la concentración de fosfato tricálcico en el rendimiento de FOS y la variación del color en el extracto clarificado de yacón	111
ANEXO 8-C: Análisis estadístico – Influencia de la concentración de extracto de yacón y temperatura de impregnación en el contenido de FOS y la variación del color del <i>snack</i> impregnado	113
ANEXO 9-C: Análisis estadístico - Influencia del tiempo de almacenamiento en la humedad de los <i>snacks</i> impregnados	114
ANEXO 10-C: Análisis estadístico - Influencia del tiempo de almacenamiento en la actividad de agua de los <i>snacks</i> impregnados	115
ANEXO 11-C: Análisis estadístico - Influencia del tiempo de almacenamiento en la variación del color de los <i>snacks</i> impregnados	116
ANEXO 12-C: Análisis estadístico - Influencia del tiempo de almacenamiento en la textura de los <i>snacks</i> impregnados	117
ANEXO 13-C: Análisis estadístico - Influencia del tiempo de almacenamiento en el pH de los <i>snacks</i> impregnados	118
ANEXO 14-C: Análisis estadístico - Influencia del tiempo de almacenamiento en la acidez de los <i>snacks</i> impregnados	119
ANEXO 15-C: Análisis estadístico - Influencia del tiempo de almacenamiento en el contenido de FOS de los <i>snacks</i> impregnados.....	120

RESUMEN

El yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl.) es una raíz cultivada en el Perú con potencial de nutrientes prebióticos como lo son los fructooligosacáridos (FOS), importantes hoy en día como fuentes de azúcares no digeribles. Actualmente, los FOS son obtenidos comercialmente por síntesis enzimática a partir de sacarosa. El objetivo de este trabajo fue incorporar estos solutos de interés funcional proveniente de una raíz nativa como lo es el yacón en una matriz alimenticia como la manzana por medio de la impregnación al vacío. La presente investigación consistió de diversas etapas, en primer lugar, se definió la técnica para la obtención de un extracto clarificado de yacón con alto contenido de fructooligosacáridos y con menor variación de color (ΔE) evaluándose la influencia del fosfato tricálcico en diferentes concentraciones (2.5, 5, 10, 40, 70 y 100 ppm) como coadyuvante del proceso de clarificación. El extracto clarificado con 2.5 ppm obtuvo un rendimiento de 98.6% de FOS y la menor variación de color ($\Delta E = 3.03$). Posteriormente, se obtuvieron jarabes clarificados de yacón (20, 28 y 36 °Brix) que en conjunto con diferentes temperaturas (25 y 35 °C) se aplicó el proceso de impregnación sobre manzanas de variedad Delicia con una presión de vacío de 50 mbar, tiempo de impregnación de 10 minutos y tiempo de relajación de 10 minutos. El mejor tratamiento de impregnación con una concentración de jarabe 28° Brix y temperatura de impregnación de 35°C permitió obtener *snacks* de manzana con 30.5% de FOS y $\Delta E = 21.7$. En la parte final de este estudio, se evaluó la estabilidad de las características físico-químicas y funcionales de este *snack* por un período de 6 semanas encontrándose diferencias significativas en la textura (fuerza máxima de rotura), acidez titulable y el contenido de fructooligosacáridos.

Palabras clave: *Smallanthus sonchifolius*, fructooligosacáridos, impregnación al vacío, *snacks* de manzana.

SUMMARY

Yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl.) is a Peruvian native food with a source of nutritional prebiotic potential that is known as fructooligosaccharides (FOS) which have not reached the relevance that other sources of non-digestible sugars have in the actuality. The job target was to incorporate these functional compounds that this native root provides in a food matrix, such as the apple, through the vacuum impregnation technology. Firstly, the methodology to obtain a clarified yacon extract with a high content of fructooligosaccharides and low color variation (ΔE) was defined. The influence of the tricalcic phosphate was essayed in different concentrations (2.5, 5, 10, 40, 70 and 100 ppm) as an adjuvant in the clarification process. The clarified extract with 2.5 ppm got 98.6% FOS efficiency and the lowest color variation ($\Delta E = 3.03$). Later, clarified yacon syrups (20, 28 and 36° Brix) were got and altogether with different temperatures (25 and 35°C), the vacuum impregnation process was applied on Delicia apples with a vacuum pressure of 50 mbar, impregnation time of 10 minutes and relaxation time of 10 minutes. The best treatment with a syrup concentration of 28°Brix and an impregnation temperature of 35°C turned out apple snacks with 30.5% FOS and $\Delta E = 21.7$. The last part of this study consisted on the evaluation of physicochemical and functional properties of this snack for a period of 6 weeks in which significant differences were found in the texture (maximum force disruption), titratable acidity and fructooligosaccharides content.

Key words: *Smallanthus sonchifolius*, fructooligosaccharides, vacuum impregnation, apple snacks.

I. INTRODUCCIÓN

La investigación referida a un producto nacional como lo es el yacón, ha permitido demostrar que es un alimento rico en fructooligosacáridos (FOS). Los FOS son un tipo de azúcar compuesto por fructosas unidas con un enlace glucosídico β (2 \rightarrow 1) a una sacarosa y que son capaces de resistir la hidrólisis por las enzimas del sistema digestivo humano. Son, además compuestos prebióticos para la flora bacteriana intestinal, lo que contribuye a una mejor función gastrointestinal y alivia los desórdenes alimenticios. Además, fortalece el sistema inmunológico, aumenta la absorción de calcio, reduce el nivel de colesterol y su consumo no aporta calorías ni causa alteración del nivel de glucosa en la sangre.

Sin embargo, el aprovechamiento de este compuesto funcional aplicado en alimentos industrializados se desconoce. Es por ello que evaluar la efectividad de su inclusión en matrices de alimentos como frutas o vegetales es objeto de investigación, ya que permitiría aumentar el valor funcional de estos alimentos que carecen de este componente.

Por otro lado, la impregnación al vacío es una tecnología novedosa que consiste en la extracción de aire ocluido en las matrices de alimentos porosos y la inclusión en los espacios libres por sustancias líquidas conteniendo compuestos bioactivos, antimicrobianos, o solutos con una función particular durante el tiempo de relajación. Este proceso permite mejorar las propiedades funcionales, nutricionales, sensoriales de los alimentos altamente porosos. No obstante, su aplicación es poco difundida en nuestro país.

Por lo antes mencionado, el presente trabajo expone la investigación científica que consiste en la obtención de un extracto clarificado – concentrado de FOS de yacón y su aplicación en rodajas de manzana a través de la impregnación al vacío; con este propósito se plantearon los siguientes objetivos:

- Evaluar la concentración de fosfato tricálcico empleado como agente clarificante, para la obtención de un extracto clarificado de FOS a partir de raíces de yacón y determinación del contenido de FOS, contenido de fructosa, glucosa y sacarosa.
- Determinar la influencia de la concentración del extracto clarificado de yacón y la temperatura de impregnación en el contenido de FOS y el color de los *snacks* de manzana.
- Evaluar la influencia de la impregnación al vacío en las características físico-químicas de los *snacks* de manzana impregnados.
- Estudiar la estabilidad de los FOS en los *snacks* de manzana impregnados y las propiedades físico-químicas durante el almacenamiento.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. YACÓN

2.1.1. ORIGEN Y PRODUCCIÓN NACIONAL

El origen del yacón y sus parentescos son las laderas húmedas de la región andina de Latinoamérica. En el Perú, se encuentran siete especies de *Smallanthus* de las cuales el yacón es la única especie domesticada (Brako y Zarucchi, 1993; citados por Grau *et al.*, 2001). Se presume que la domesticación del yacón empezó en la región Yunga (1000 a 2300 msnm) o la jungla de las montañas en el norte de Bolivia o sur del Perú (Grau *et al.*, 2001).

El yacón ha sido cultivado desde la época Pre-Inca en muchas áreas dispersas de los Andes, desde el Ecuador hasta el noroeste de Argentina. Hace 30 años, el cultivo de yacón se extendió a otros continentes: fue introducido en Nueva Zelanda en 1982 y en Japón en 1985. Actualmente, crece en Brasil, Corea, República Checa, Rusia, Taiwán y en Estados Unidos (FAO, 2012).

Los principales nichos de producción en el Perú se encuentran en: Amazonas (Utcubamba, Bongará y Chachapoyas); Ancash (Huaraz, Caraz y Yungay); Apurímac (Andahuaylas y Abancay); Arequipa (Arequipa); Ayacucho (Huamanga y Huanta); Cajamarca (Cajamarca, Contumazá, San Marcos, San Ignacio y Jaén); Cerro de Pasco (Oxapampa); Cusco (Urubamba, Cusco, Calca, Paucartambo y La Convención); Huánuco (Huánuco); Junín (Huancayo, Concepción, Jauja y Tarma); La Libertad (Otuzco, Santiago de Chuco y Sánchez Carrión); Lambayeque (Incahuasi); Lima (Pachacamac y Yauyos); Piura (Ayabaca y Huancabamba) y Puno (Sandía y Carabaya) (Seminario *et al.*, 2003).

Entre las décadas de los 70' a los 90', el área de siembra anual de yacón fue menor a 100 ha en todo el país. Es a partir del año 2000 que la siembra comercial de yacón comienza a

incrementarse en diferentes regiones del Perú (Seminario *et al.*, 2003). En agosto del 2003, la superficie sembrada de yacón en las principales zonas de producción, se estimó en no menos de 600 Ha. El rango de rendimiento reportado en varias localidades del Perú, fluctúa de 10 hasta 80 ton/Ha (PYMAGROS, 2005).

2.1.2 CLASIFICACIÓN TAXÓNOMICA

El yacón pertenece a la familia Asteraceae. Polanco (2011) indican su clasificación taxonómica de la siguiente manera:

- Reino : Plantae
- División : Magnoliophyta
- Clase : Magnoliopsida
- Orden : Asterales
- Familia : Asteraceae
- Subfamilia : Asteroideae
- Género : *Smallanthus*
- Especie : *Sonchifolius*
- Nombre científico : *Smallanthus sonchifolius* (Poepp & Endl) H. Robinson

2.1.3 CARACTERÍSTICAS DEL YACÓN

Polreich (2003) menciona que el yacón es una planta arbustiva perenne de 1.5 a 3 m de altura. Las raíces frescas de yacón pueden alcanzar una longitud de 25 cm por 10 cm de diámetro.

Manrique *et al.* (2005) indican que las raíces de yacón pueden variar en su forma pudiendo ser esféricas hasta parecidos a la forma de un limón o de una pera invertida. El tejido de la raíz es suave, debido a que está principalmente constituido por agua, representa el 90% de su peso fresco. Como consecuencia de ello, las raíces son muy frágiles por lo que pueden maltratarse durante su cosecha y transporte.

El peso de cada raíz es variable, incluso en la misma planta. El peso de las raíces puede variar de 50 a 1000 g, en promedio entre 200 a 500 g (Polreich, 2003). Bajo condiciones

normales una planta produce entre 2 a 3 kg de raíces, pero en condiciones de irrigación, control de plagas y fertilizantes, se puede superar los 5 kg (Manrique *et al.*, 2005).

2.1.4 COMPOSICIÓN QUÍMICA

El yacón es una de las raíces con mayor contenido de agua, entre el 83 y 90% del peso fresco de las raíces (Hermann *et al.*, 1999). El Cuadro 1 presenta la composición química promedio del yacón.

Cuadro 1: Composición química promedio de 10 entradas de yacón procedentes de Perú, Bolivia, Ecuador y Argentina (expresado en porcentaje de materia comestible de raíz fresca)

Componente	Promedio
Materia seca	11.50
Carbohidratos totales	10.6
Fructanos	6.20
Glucosa libre	0.34
Fructosa libre	0.85
Sacarosa libre	1.40
Proteína	0.37
Fibra	0.36
Lípidos	0.024
Calcio	0.009
Fósforo	0.024
Potasio	0.228

FUENTE: Hermann *et al.* (1999).

El contenido de sacáridos en las raíces de yacón se muestra en el Cuadro 2.

En términos generales, los carbohidratos representan alrededor del 90% del peso seco de las raíces recién cosechadas, de los cuales entre 50 y 70% son FOS. El resto de los carbohidratos lo conforman la sacarosa, fructosa y glucosa. Sin embargo, la composición

relativa de los diferentes azúcares varía significativamente debido a diversos factores como el cultivar, la época de siembra y cosecha, tiempo y temperatura en post - cosecha, entre otros. Acorde a esto, Hermann *et al.* (1999) mencionan que el incremento de despolimerización de los fructanos incrementa el dulzor y causa el aumento del índice de refracción. Asimismo, mayor tiempo de almacenamiento post - cosecha, provoca la hidrólisis de fructanos y sacarosa en glucosa y fructosa.

Cuadro 2: Contenido de sacáridos en raíces de yacón

Sacárido	Contenido (g/100g de materia seca)
Fructosa	35.01 ± 4.20
Glucosa	15.83 ± 2.86
Sacarosa	7.45 ± 1.90
GF2	6.01 ± 1.26
GF3	4.74 ± 0.82
GF4	3.36 ± 0.93
GF5	2.06 ± 0.52
GF6	1.58 ± 0.40
GF7	1.27 ± 0.40
GF8	0.96 ± 0.72
GF9	0.66 ± 0.23
Inulina	1.35 ± 0.04

FUENTE: Valentová *et al.* (2001), citados por Lachman *et al.* (2003).

En las raíces de yacón, los FOS poseen un grado de polimerización de 3 a 10. Sin embargo, dentro de la familia Asteraceae el grado de polimerización puede llegar a 35 (Ohyama *et al.*, 1990; citados por Polreich, 2003).

Las raíces acumulan, además, cantidades importantes de potasio, compuestos fenólicos, derivados del ácido cafeico, sustancias antioxidantes como ácido clorogénico y aminoácidos como el triptófano. El contenido de proteínas, lípidos, vitaminas y minerales es bastante bajo (Seminario *et al.*, 2003). Según Valentová *et al.* (2001), citados por Lachman *et al.* (2003) las raíces de yacón contienen polifenoles (2030 mg/kg) con

predominancia de ácido clorogénico (48.5 ± 12.9 mg/kg). La composición de minerales y componentes minoritarios se presenta el Cuadro 3.

Cuadro 3: Contenido de algunos componentes minoritarios en la raíz de yacón (mg/100 g de materia fresca)

Elemento/ Componente	Contenido (mg/100g bh)	Fuente
Calcio	23.00	(Grau y Rea, 1997)
Potasio	228.20	(Hermann <i>et al.</i> , 1998)
Hierro	0.30	(Grau y Rea, 1997)
Cobre	0.96	(Valentová <i>et al.</i> , 2001)
Manganeso	0.54	(Valentová <i>et al.</i> , 2001)
Zinc	0.67	(Valentová <i>et al.</i> , 2001)
Fósforo	21.00	(Grau y Rea, 1997)
Retinol	10.00	(Grau y Rea, 1997)
Caroteno	0.08	(Grau y Rea, 1997)
Ácido ascórbico	13.00	(Grau y Rea, 1997)
Tiamina	0.01	(Grau y Rea, 1997)
Riboflavina	0.11	(Grau y Rea, 1997)
Niacina	0.33	(Grau y Rea, 1997)

FUENTE: Lachmann *et al.* (2003).

El yacón fresco aporta 619-937 kJ/kg (Quemener *et al.*, 1994; citados por Lachman *et al.*, 2003).

2.1.5 FORMAS DE PROCESAMIENTO

Debido a que las raíces de yacón son muy perecederas y de rápido pardeamiento durante su manipulación y procesamiento, se han aplicado diversas tecnologías para obtener diferentes productos con mayor tiempo de vida.

Borges *et al.* (2005) mencionan que la aplicación de un proceso de secado permite obtener

hojuelas de yacón. Al respecto, Castro *et al.* (2012) mencionan que la forma de las muestras al ser deshidratadas influye, por lo que también pueden procesarse tiras deshidratadas de yacón que posee mayor retención de compuestos antioxidantes a diferencia de las hojuelas.

Por otro lado, Arango *et al.* (2008) obtuvieron inulina en forma de cristales a partir del yacón a través de la optimización de la extracción y cristalización a fin de aprovechar el contenido de este componente en la raíz y que sea promisorio para su utilización en la industria farmacéutica y alimentaria.

El yacón también puede ser procesado para obtener jarabe. El jarabe de yacón de 40 a 50% de FOS se obtiene al concentrar el jugo de las raíces de yacón. Este producto puede ser considerado como nutracéutico debido al alto contenido de componentes prebióticos (Genta *et al.*, 2009). Manrique *et al.* (2005) indican que el jarabe puede utilizarse como un endulzante para ensaladas de frutas, jugos, bebidas calientes y postres, entre otros. El jarabe de yacón tiene características similares a otros productos como la miel, la caña de azúcar, la miel de chancaca y miel de maple resaltando su bajo valor calórico a comparación de los productos mencionados.

Por otro lado, Muñoz *et al.* (2006) mencionan que en Brasil se usan las hojas de yacón para la preparación de un extracto antidiabético. El extracto acuoso ha demostrado un efecto hipoglicémico en ratas normales y diabéticas observándose que su administración por 30 días, incrementa la insulina en el plasma (Aybar *et al.*, 2001; citados por Muñoz *et al.*, 2006).

En el caso de jugo de yacón, por el efecto del rápido pardeamiento, se trata con carbón activado para obtener su clarificación, decoloración y deodorización (Hondo *et al.*, 2000; citados por Lachmann *et al.*, 2003).

El yacón también es utilizado para la producción de pasteles dulces, vegetales fermentados y etanol. Hondo *et al.* (2000), citados por Lachmann *et al.* (2003) sugieren la fermentación acética del jugo de yacón con *Acetobacter pasteurianus* para la producción de vinagre de yacón conteniendo FOS.

La evolución de las exportaciones de productos derivados del yacón durante los últimos 5 años en el Perú se presenta en el Cuadro 4.

Cuadro 4: Evolución de las exportaciones del producto yacón según sus principales presentaciones en US\$ 2008-2013

Productos	2008	2009	2010	2011	2012
Polvo	8,459.45	92,315.10	105,944.18	35,198.86	15,688.65
Capsulas	4,255.15	1,690.78	8,247.52	6,526.62	6,693.90
Hojuela	2,865.00	2,325.00	5,000.50	3,590.64	1,482.21
Miel	25,550.22	18,786.20	6,293.24	3,239.00	1,178.00
Filtrante	49.40	0.00	0.00	264.34	370.72
Natural	2,781.91	2,264.85	994.67	683.62	0.00
Infusión	0.00	320.20	218.56	44.76	0.00
Mermelada	0.00	220.44	0.00	0.00	0.00
Jugo	20.64	21.60	0.00	0.00	0.00
Raíz	0.00	0.00	14,152.60	0.20	0.00
Bebidas	0.00	1,003.90	0.00	6.00	0.00
Melaza	0.00	0.00	100.80	0.00	0.00
Extracto	1,591.26	153.20	9,500.00	0.00	0.00
Otras Presentaciones	282,134.63	232,368.49	469,755.79	1'045,383.70	1'351,100.21
Total	327,707.66	351,469.76	620,207.86	1'094,937.74	1'376,513.69

FUENTE: SUNAT, citado por FAO (2012).

El mayor ingreso de las exportaciones proviene del yacón en su forma de “otras presentaciones” como se observa en el Cuadro 4. Este ítem está referido al empleo del yacón como insumo de otros productos.

2.1.6 BENEFICIOS DE SU CONSUMO

El yacón ha sido empleado ancestralmente como una planta medicinal para aliviar problemas renales, tratar la hiperglicemia y para el rejuvenecimiento (Grau *et al.*, 1997;

Valentová *et al.*, 2001; citados por Jirovský *et al.*, 2003). El yacón es considerado como un alimento prebiótico por el contenido de FOS y compuestos fenólicos con capacidad antioxidante.

Bibas *et al.* (2010) evaluaron el uso potencial de las raíces de yacón (*Smallanthus sonchifolius* de plantas LIEY 97-1), bajo la forma de harina, obteniendo resultados que muestran los efectos prebióticos al estimular el crecimiento de la flora benéfica de bifidobacterias y lactobacilos e indirectamente causa un efecto inmunomodulatorio positivo al influir en la producción de citoquinas. Esto se explica porque las raíces de yacón contienen FOS que actúan como prebiótico al ser fermentados por la flora intestinal.

Campos *et al.* (2012) evaluaron el efecto prebiótico *in vivo* de los FOS del yacón; una dieta rica en estos componentes fue evaluada en cuyes promoviendo el crecimiento de bifidobacterias y lactobacilos y en consecuencia, el aumento de ácidos grasos de cadena corta, incremento de la densidad celular y formación de las criptas en el tejido del intestino ciego lo cual es indicativo de los beneficios de salud del colon.

La ingesta diaria de jarabe de yacón disminuye el peso corporal e índice de masa corporal lo cual ayudaría en el manejo del problema de obesidad. Adicionalmente, se reportan efectos benéficos en el control de la insulina y niveles de colesterol sérico LDL (Genta *et al.*, 2009).

Los efectos de los FOS incluyen también la mejora de la absorción intestinal del calcio, retención mineral ósea y propiedades estructurales en la diáfisis femoral de las ratas alimentadas *ad libitum* con dietas suplementadas con harina de yacón (Lobo *et al.*, 2007; citados por Campos *et al.*, 2012a).

Por otro lado, Aybar *et al.* (2001) demostraron el efecto hipoglicémico de los extractos acuosos de las hojas de yacón en ratas, ya que se producía un descenso significativo de los niveles de glucosa en el plasma. Después de 30 días de administración del extracto, las ratas diabéticas presentaron mejoras en el nivel de insulina y glucosa en el plasma, peso corporal y niveles de creatinina y urea del sistema renal.

Adicionalmente, se ha demostrado la efectividad del uso de los extractos de hoja de yacón,

obtenidos por diferentes métodos de extracción (acuosa a baja y alta temperatura e hidroetanólica), en la restauración de la actividad de las enzimas plasmáticas que fueron alteradas y en la ganancia de peso en ratas diabéticas (Baroni *et al.*, 2008).

El yacón suministrado como suplemento dietético fue bien tolerado y no produjo ninguna respuesta negativa, toxicidad o efecto antinutricional en los niveles de ingesta empleados. Sólo se observó hipertrofia en el intestino ciego de ratas alimentadas con altas dosis (Genta *et al.*, 2005).

2.2 MANZANA

2.2.1 ORIGEN Y PRODUCCIÓN NACIONAL

La manzana es el fruto del manzano, árbol de la familia de las Rosáceas. Se podría decir que el cultivo de la manzana es tan antiguo como la humanidad, siendo el manzano el árbol frutal más cultivado a nivel mundial (Aquino, 2009).

Con respecto a la producción de manzana, ODEPA (2011) menciona que China es el país que mostró la mayor superficie plantada con manzanos a nivel mundial, cubriendo el 41% de ella en el 2009. En segundo lugar, sigue Rusia (7.1%); India (5.7%), Irán (3.6%) y Polonia (3.5%). China encabeza además la producción mundial de manzanas, con 44.4% de ella, seguida por Estados Unidos (6.3%), Turquía (3.9%), Polonia (3.7%), Irán (3.4%) e Italia (3.2%).

Los diez mayores exportadores mundiales de manzanas concentraron aproximadamente el 80% de las exportaciones en el año 2010, con China liderando el grupo, con una participación de 14.2%, seguida de Chile (11.4%), Italia (10.9%), Estados Unidos (10%) y Polonia (9.2%), representando estos cinco países más de 50% de las exportaciones mundiales de manzanas (ODEPA, 2011).

El Cuadro 5 muestra la evolución de los últimos 12 años de la producción nacional (t) y el precio de chacra de la manzana de acuerdo a las estadísticas del Ministerio de Agricultura (MINAG, 2013).

Cuadro 5: Producción nacional total y precio en chacra de manzana

Años	PRODUCCIÓN (t) Total Nacional	PRECIO EN CHACRA (S/./ Kg) Total Nacional
2000	157.493	0.75
2001	138.338	0.65
2002	123.266	0.6
2003	134.357	0.63
2004	146.893	0.74
2005	139.332	0.66
2006	136.399	0.7
2007	136.744	0.67
2008	135.209	0.81
2009	137.208	0.84
2010	143.861	0.83
2011	149.561	0.62

FUENTE: MINAG (2013).

Respecto a la producción por departamentos, Lima es el mayor productor de manzana en el Perú, siendo las zonas de mayor producción: Cañete, Yauyos y Huarochiri (MINAG, 2013). Entre las variedades nacionales, se encuentran la manzana Delicia, Israel, Santa Rosa, Winter y para Agua, principalmente; y entre las variedades importadas, la manzana Fuji, Royal Gala, Roja y Verde son las más representativas (Agencia Agraria de Noticias, 2014).

2.2.2 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Según Ferree y Warrington (2003), la manzana pertenece a la siguiente clasificación taxonómica:

- Reino : Plantae
- División : Magnoliophyta

- Clase : Magnoliopsida
- Orden : Rosales
- Familia : Rosaceae
- Subfamilia : Maloideae
- Género : *Malus*
- Especie : *Domestica*
- Nombre científico : *Malus domestica*

2.2.3 CARACTERÍSTICAS DE LA MANZANA

Aquino (2009) señala las siguientes características del fruto:

- Con respecto a su forma, las manzanas generalmente son de forma ovoide, a veces alargada o redonda, que esconden numerosas semillas de color pardo en su interior. Su piel es casi siempre brillante y lisa.
- En cuanto a su tamaño y peso, las manzanas más comercializadas son aquellas cuyo calibre va desde 75 milímetros hasta 85 o más. Su peso oscila desde 170 gramos hasta 250 gramos.
- Los diferentes colores de la piel diferencia a esta fruta en cuatro grupos: verdes, rojas, amarillas y bicolors. Todas ellas con sabores, aromas y calidad de su carne diferentes.
- La pulpa puede ser dura o blanda, pero siempre refrescante y jugosa, y su sabor va desde el muy dulce al muy ácido.

De acuerdo a las tolerancias máximas de defecto, las manzanas están clasificadas en 3 categorías de acuerdo al STAN 299 del Codex Alimentarius (2010):

- Categoría Extra: De calidad superior y características de la variedad. Sólo deberá presentar defectos muy leves que no afecten el aspecto general del producto, su conservación, su calidad y su presentación en el envase.

- Categoría I: Se permiten los siguientes defectos: de forma y desarrollo, ligero defecto en la coloración y leve en la piel.
- Categoría II: Son las manzanas que no cumplen los atributos señalados en las dos categorías anteriores. Presentan defectos en la coloración, forma y en la piel pero las manzanas conservan sus características de calidad, conservación y presentación en el envase.

2.2.4 COMPOSICIÓN QUÍMICA

Aquino (2009) señala que desde el punto de vista nutritivo, la manzana es una de las frutas más completas y enriquecedoras en la dieta. Un 85% de su composición es agua, por lo que resulta muy refrescante e hidratante. Los azúcares, la mayor parte fructosa y en menor proporción, glucosa y sacarosa, de rápida asimilación en el organismo, son los nutrientes más abundantes después del agua.

El Cuadro 6 muestra la composición proximal de la manzana delicia y manzana de agua, de acuerdo a la Sociedad Nacional de Industrias (SNI, 2005a; SNI, 2005b). Con respecto a la manzana de agua, el SNI (2005b) menciona que tiene alto contenido de acidez, y que además generalmente, es de menor tamaño comparada con las otras variedades de manzana.

Con respecto a la manzana de agua, el SNI (2005b) menciona que tiene alto contenido de acidez, y que además generalmente, es de menor tamaño comparada con las otras variedades de manzana.

Boyer y Hai (2004) indican que la manzana es una fuente rica en compuestos fitoquímicos cuyo consumo es beneficioso para la salud ya que se relaciona con la disminución del riesgo a padecer enfermedades como cáncer, asma, problemas cardiovasculares y diabetes.

Wu *et al.* (2007) mencionan que la concentración de los componentes fenólicos, que es fuertemente dependiente de la variedad de manzana y su madurez, se asocia también con la calidad nutricional y sensorial de la fruta. Asimismo, los azúcares y ácidos orgánicos son importantes para la calidad y el potencial de uso de las manzanas en otros productos.

Cuadro 6: Composición proximal de la manzana delicia y manzana de agua

Composición nutricional por 100 g	Manzana Delicia	Manzana de agua
Agua (g)	84.00	85.56
Energía (kcal)	59.00	52.00
Carbohidratos (g)	15.00	13.81
Proteínas (g)	0.19	0.26
Fibras (g)	2.70	-
Potasio (mg)	115	107
Lípidos (mg)	0.40	0.17
Calcio (mg)	7	6
Fósforo (mg)	7	11
Magnesio (mg)	5	5
Azufre (mg)	5	-
Hierro (mg)	0.18	0.12

FUENTE: SNI (2005a) y SNI (2005b).

Las principales clases de polifenoles en las manzanas son flavonoides, flavanoles y flavonoles, antocianinas e dihidrochalconas así como otros componentes fenólicos como el ácido clorogénico (Cuadro 7).

Cuadro 7: Contenido de compuestos fenólicos (mg/ 100g bh) en pulpa de manzana

Componente	Contenido
Ácido clorogénico	9.02
Epicatequina	8.65
Glucósidos floretina	5.59
Glucósidos quercitina	13.2

FUENTE: Lee *et al.* (2003).

2.2.5 FORMAS DE PROCESAMIENTO

En cuanto a las formas de procesamiento, la manzana puede aprovecharse para obtener pulpas concentradas que deriven en otros productos como pulpas congeladas, pulpas enlatadas, puré, vinagre, jugos, néctares, mermeladas y compotas (Gómez, 2010).

También puede procesarse la manzana mediante secado con aire para obtener un producto saludable que conserve la mayoría de sus características nutricionales empleándose como complemento de ensaladas de frutas o para su consumo directo como *snack*. Otros productos derivados son: los osmodeshidratados, manzanas en conserva, vinagre de manzana y papillas para bebé a base de ésta (Gómez, 2010).

Uno de los grandes problemas tecnológicos en el procesamiento de la manzana es el pardeamiento causado por la enzima polifenoloxidasas; sin embargo, se ha determinado que el uso sinérgico de aditivos como ácido ascórbico, L-cisteína y ácido cinámico en el jugo, son efectivos contra el pardeamiento por inhibición de la enzima (Özoğlu y Bayındırlı, 2002). La susceptibilidad de las manzanas al pardeamiento depende también de la concentración de diferentes componentes fenólicos (flavanoles y derivados hidroxicinámicos) (Amiot *et al.*, 1992).

2.2.6 BENEFICIOS DE SU CONSUMO

Las manzanas son una fuente de vitaminas, minerales y fibra dietaria. Evidencia científica ha demostrado las propiedades benéficas del consumo de manzana en la salud. El incremento del consumo de manzanas se relaciona con la disminución de enfermedades cardiovasculares, diabetes y algunos tipos de cáncer (Keenan *et al.*, 2011).

Al respecto, Lotito y Frei (2004) indican que las manzanas contienen flavonoides que ayudan en la prevención de enfermedades crónicas por mecanismos antioxidantes. Así, Graziani *et al.* (2005) mencionan que los extractos polifenólicos de manzana previenen el daño del tejido epitelial gástrico humano y de la mucosa gástrica de las ratas.

Asimismo, Eberhardt *et al.* (2000) mencionan que las manzanas frescas proveen grandes niveles de antioxidantes y actividad anticarcinogénica *in vitro* indicando que el efecto

sinérgico de los compuestos fitoquímicos (flavonoides y ácidos fenólicos) de 100 g de fruta provee una actividad antioxidante equivalente a la de 1500 mg de vitamina C. Por otro lado, Maffei *et al.* (2007) a través de un estudio acerca de la evaluación del consumo de manzanas en la protección del daño oxidativo causado por peróxido de hidrógeno en los linfocitos humanos encontraron que el consumo de manzanas enteras sin pelar protege las células y el tejido del estrés oxidación y el daño al ADN. Por otro lado, un estudio *in vivo* con humanos reveló que el consumo de jugo de manzana inhibe la oxidación de la lipoproteína de baja densidad en 9 a 34%. Los extractos de manzana inhiben la proliferación de células cancerígenas en el hígado y colon. Ello se atribuye al contenido de compuestos fenólicos que son absorbidos, metabolizados y excretados por humanos (Lavelli y Vantaggi, 2009).

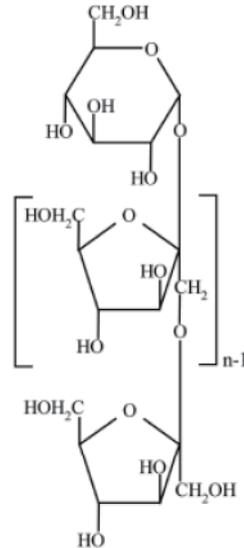
Según Aquino (2009), el contenido moderado en potasio de las manzanas las convierte en una fruta diurética, recomendada en el tratamiento dietético de diversas enfermedades cardiovasculares como la hipertensión arterial u otras enfermedades asociadas a retención de líquidos. La pectina, presente en la pulpa y cáscara, tiene la particularidad de retener agua, y se le atribuyen efectos benéficos en caso de diarrea ya que hace más lento el tránsito intestinal. Además, la manzana es, después del membrillo, una de las frutas más ricas en taninos, sustancias con propiedades astringentes y antiinflamatorios. Algunas de las acciones de los taninos son secar y desinflamar la mucosa intestinal (capa que tapiza el interior del conducto digestivo), por lo que resultan eficaces en el tratamiento de la diarrea (Aquino, 2009).

2.3 FRUCTOOLIGOSACÁRIDOS (FOS)

2.3.1 DEFINICIÓN Y ESTRUCTURA QUÍMICA

Sangeetha *et al.* (2005) y Genta *et al.* (2009) mencionan que los FOS son encontrados en cantidades significativas como componentes naturales en frutas, vegetales y miel de abeja pero nunca en concentraciones tan altas como en las raíces de yacón. Éstos son producidos por acción de la fructosiltransferasa de muchas plantas y microorganismos. Los FOS poseen una estructura que consiste en una cadena de fructosa unida por enlace glicosídico β (2 \rightarrow 1) a la unidad de fructosa de la sacarosa como se puede observar en la Figura 1.

Los seres humanos no poseen la enzima capaz de hidrolizar este enlace glucosídico por lo que los fructanos son oligosacáridos no digeribles o fibra dietaria que puede ser utilizada por la microflora para su fermentación (Valentová y Ulrichová, 2003). Por esta razón, su valor calórico es bajo (Genta *et al.*, 2009).



$n = \text{número de unidades de fructosa}$

Figura 1: Estructura química de los FOS

FUENTE: Murphy (2001).

EIC (2000) menciona que los FOS representan sólo una fracción de los azúcares que conforman la inulina, conocidos como fructanos. La inulina, la oligofructosa y los FOS comparten la misma estructura química pero difieren entre ellos debido a la longitud de su cadena o grado de polimerización (DP) (EIC, 2000):

a) *Inulina*: Es un fructano constituido principalmente de una cadena lineal de fructosas unidas por enlace con o sin glucosa terminal y una menor proporción de fructosas unidad por enlaces ramificados β 2 \rightarrow 6. El grado de polimerización es entre 3 y 60. Éste varía dependiendo de la materia prima de donde provienen, condiciones de crecimiento, tiempo de cosecha y condiciones de almacenamiento.

Se encuentra presente en variedad de fuentes alimenticias como achicoria (con alto contenido de inulina), cebolla, ajo, plátano, espárrago y puerro (Van Loo *et al.*, 1998; citados por Roberfroid, 2002).

b) *Oligofructosa*: Es un fructano de cadena lineal de fructosas unidas mediante enlace β 2 \rightarrow 1, con o sin glucosa terminal y menor proporción de fructosas unidas mediante enlaces ramificados β 2 \rightarrow 6. Su grado de polimerización varía entre 3 y 20.

Sabater (2008) indica que ésta es producida por la hidrólisis enzimática de la inulina y consiste en una mezcla de cadenas fructosil, con glucosa y fructosa terminales.

c) *FOS de cadena corta*: Es un fructano de cadena lineal de fructosas unidas mediante enlace β 2 \rightarrow 1, con glucosa terminal (mezcla de azúcares GF₂, GF₃ y GF₄). Su grado de polimerización varía de 3 a 5.

En cuanto a las propiedades físicoquímicas de los FOS, éstos son compuestos solubles en agua y su dulzor oscila de 0.3- 0.6 veces al de la sacarosa, dependiendo de la estructura química y el grado de polimerización de los oligosacáridos (Crittenden y Playne, 1996; Yun, 1996; citados por Sabater, 2008). El dulzor disminuye con la longitud de la cadena de oligosacáridos. Por otro lado, los FOS son altamente higroscópicos y su capacidad de retención de agua es mayor que la de la sacarosa e igual a la del sorbitol (Bornet, 1994); es difícil mantener el producto liofilizado estable bajo condiciones atmosféricas durante periodos prolongados.

La viscosidad de una solución de FOS es relativamente mayor que una de sacarosa a la misma concentración debido al mayor peso molecular de estos compuestos lo que hace que aumente su viscosidad mejorando el cuerpo y el *mouthfeel* (Mussatto y Mancilha, 2007).

La estabilidad térmica también es mayor que la de la sacarosa. Los FOS son altamente estables en un rango de pH de 4.0 - 7.0 y temperaturas de refrigeración. Estas propiedades hacen que los oligosacáridos pueden usarse para alterar la temperatura de congelación de los alimentos, y controlar la intensidad de caramelización en las comidas preparadas debido a reacciones de Maillard (Mussatto y Mancilha, 2007).

Los FOS pueden sustituir a la sacarosa en muchas de sus propiedades. Se ha estimado que el valor calórico de los FOS es de 1.5 - 2.0 kcal/g que es aproximadamente el 40-50% del

valor calórico de los carbohidratos digeribles como la sacarosa (Mussatto y Mancilha, 2007).

2.3.2 METABOLISMO DE LOS FRUCTOOLIGOSACÁRIDOS

La presencia de fructanos en las plantas se debe a un proceso enzimático, tanto de síntesis como de degradación. La síntesis de los FOS consiste en dos pasos, principalmente. En primer lugar, se produce la síntesis de 1-kestosa, a través de la enzima sacarosa: sacarosa fructosil transferasa (SST), la cual cataliza la reacción a partir de dos moléculas de sacarosa para formar una glucosa (G) y un trisacárido (GFF). En segundo lugar, se sintetizan los FOS con más de dos unidades de fructosa mediante la enzima fructano:fructano fructosil transferasa (FFT). El resultado de esta reacción es la síntesis de un fructooligosacáridos de mayor peso molecular (Vega, 2009).

Cuando la planta adulta forma nuevos brotes, los FOS son empleados como carbohidratos de reserva, por lo que la enzima fructo exohidrolasa (FEH), libera selectivamente la molécula de fructosa que se encuentra en la posición terminal y se usarán como fuente de energía para el crecimiento de los nuevos brotes (Fukai *et al.*, 1993).

2.3.3 PREBIÓTICOS Y EFECTOS BENÉFICOS DE LOS FOS

Kolida *et al.* (2002) definen a los prebióticos como componentes alimentarios no digeribles que son consumidos por la microbiota del intestino grueso del ser humano. Otra definición dada por Gibson y Roberfroid (1995), citados Bosscher *et al.* (2006) señalan que los prebióticos son componentes alimentarios no digeribles que afectan benéficamente al hospedero por la estimulación selectiva del crecimiento y actividad de bacterias en el colon que pueden mejorar la salud del hospedero.

Para que un alimento sea clasificado como prebiótico debe cumplir los siguientes criterios (Kolida *et al.*, 2002):

- a) No ser hidrolizado ni absorbido en la parte superior del tracto gastrointestinal.
- b) Ser fermentado selectivamente por uno o limitado número de bacterias potencialmente beneficiosas en el colon (*Bifidobacterium* y *Lactobacillus*).

c) Debe ser capaz de alterar la microflora para mejorar saludablemente su composición, es decir, reduciendo las bacterias del colon.

Los FOS pueden ser usados como prebiótico lo cual se ha demostrado por estudios *in vivo* e *in vitro*. Estos compuestos no producen efectos adversos en el balance de la microflora de colon, más bien generan una manipulación benéfica de esta microflora ya que contrarresta los efectos adversos causados por factores como la edad, enfermedades y una dieta deficiente (EIC, 2000).

Tanto la inulina, oligofruktosa y los FOS han demostrado ser prebióticos efectivos ya que promueven la estimulación selectiva del crecimiento de colonias de bacterias en el colon. Sin embargo, se ha encontrado que los FOS son el sustrato preferido para el crecimiento de las bifidobacterias (Gibson y Roberfroid, 1995; citados por Pedreschi *et al.*, 2003). Adicionalmente, los productos finales de la fermentación son los ácidos grasos de cadena corta que se obtienen rápidamente debido a que los FOS poseen un menor grado de polimerización (Sun *et al.*, 2006; citados por Campos *et al.*, 2012a).

Estudios en animales indican que los FOS tienen un efecto modulador en el tejido dañado producido por microorganismos patógenos como *Clostridium difficile*, ya que suprime indirectamente el crecimiento de tal organismo, afectando la producción de la toxina y protegiendo el tejido epitelial del intestino (Hopkins y Macfarlane, 2002).

En resumen, los efectos benéficos del consumo de los FOS, inulina y oligofruktosa son: acortamiento del tiempo de tránsito gastrointestinal, incremento del peso de la materia fecal, reducción del contenido de colesterol y triglicéridos del plasma, reducción de la absorción de glucosa y regulación del contenido de minerales (EIC, 2000).

2.4 PROCESOS TECNOLÓGICOS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

2.4.1 CLARIFICACIÓN

Reece (2003) define la clarificación en la industria azucarera como un proceso de precipitación y remoción de componentes orgánicos e inorgánicos, a excepción del azúcar

asegurando la preservación máxima de la sacarosa y azúcares reductores posibles en el jugo clarificado.

En la clarificación del jugo de caña, se han aplicado distintos métodos (Reece, 2003):

- a) *Defecación*: Consiste en la adición de lechada de cal al jugo, con la finalidad de elevar el pH del jugo de aproximadamente 5.2 a 7.5 – 7.8. La lechada reacciona con los fosfatos inorgánicos presentes en el jugo para formar un *floc* de fosfato cálcico que arrastra impurezas insolubles del jugo. Doherty y Rackemann (2009) mencionan que las reacciones que se producen por el proceso de defecación son la desnaturalización de proteínas, gomas y ceras, inversión de la sacarosa debido al efecto combinado del pH y temperatura, degradación de azúcares reductores a ácidos orgánicos debido al elevado pH y temperatura, precipitación de sales orgánicas e inorgánicas, hidrólisis de almidón por la amilasa natural en el jugo.
- b) *Magnesia*: Consiste en el empleo de óxido de magnesio como agente clarificante. La clarificación con óxido de magnesio no es tan buena a comparación de la que emplea lechada de cal. La reacción del magnesio es más lenta que la del calcio e incrementa la temperatura y el pH, por lo que el proceso de clarificación requiere de más tiempo.
- c) *Sulfitación*: Es un proceso auxiliar que acompaña la defecación. Este proceso es llevado a cabo con lechada y dióxido de azufre como agentes clarificantes.

Se prefiere la adición de dióxido de azufre antes que la lechada porque mejora la coagulación en el caso del procesamiento de jugos de caña de estado inmaduro. Este proceso a diferencia de la defecación, mejora la estabilidad del jugo que es menos viscoso, de rápida ebullición, con menos color y mejor eliminación de ceras y fosfatos lo que permite obtener mejor calidad de azúcar. La desventaja es el alto contenido de ceniza en el azúcar producido y el costo del proceso.

- d) *Carbonación*: Consiste en la adición de dióxido de carbono y lechada al jugo. Esta reacción precipita carbonato de calcio en el jugo que atrapa materia colorante, gomas y otros componentes no azucarados. Este proceso es llevado a cabo a temperaturas

menores a 55°C ya que altas temperaturas provocan la destrucción de los azúcares reductores.

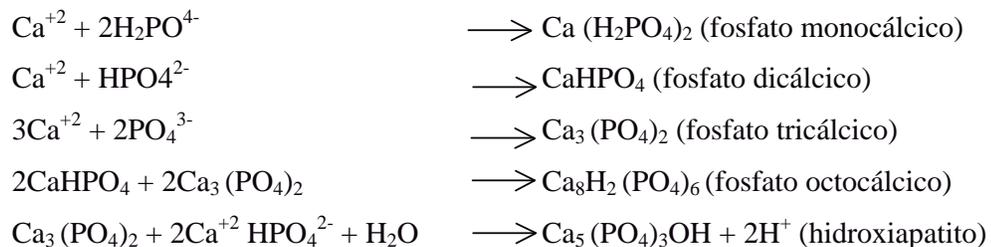
e) *Fosfatación*: Se adiciona ácido fosfórico al jugo para ayudar en la clarificación. El ácido precipita parte de los coloides y compuestos coloreados en el jugo.

Todos los métodos mencionados tienen el objetivo de producir el rápido asentamiento de partículas suspendidas en los clarificadores, elevar el pH para disminuir el porcentaje de sedimentos presentes y producir un líquido claro (Reece, 2003).

2.4.1.1 REACCIONES EN EL PROCESO DE CLARIFICACIÓN

Rein (2002), citado por Reece (2003) señala la importancia del pH en la clarificación indicando que un pH de 7 es necesario para neutralizar la carga de las partículas suspendidas y facilitar la coagulación y precipitación.

El control de pH influye en el desarrollo de ciertas reacciones como la precipitación del fosfato cálcico al añadirse lechada. Doherty y Rackemann (2009) indican que las principales reacciones que ocurren para producir fosfatos de calcio son:



El efecto de la temperatura si bien es cierto impide la actividad microbiana, acelera la tasa de reacciones químicas en el jugo (Reece, 2003).

La temperatura, pH, cantidad de lechada, coagulantes y otros aditivos añadidos determinan las características físicas finales del proceso (Reece, 2003).

2.4.2 IMPREGNACIÓN AL VACÍO

La impregnación al vacío, como su nombre lo indica, es una operación que permite la incorporación de algún ingrediente en alimentos de estructura porosa, para mejorar sus propiedades sensoriales y/o funcionales (Fito *et al.*, 2001). Es por ello que es considerado un proceso tecnológico muy útil al permitir incorporar compuestos activos para incrementar la funcionalidad de alimentos porosos como frutas y vegetales frescos (Fito *et al.*, 2001; Betalleluz *et al.*, 2010).

El principio de este proceso se basa en la aplicación de una presión manométrica a vacío (50 mbar) por 10 minutos dejando las muestras de alimentos sumergidas en una solución constituida con los componentes o solutos a incorporar en ellas. Pasado el tiempo, se restaura la presión atmosférica y se dejan las muestras sumergidas en reposo por 10 minutos, a este período se le denomina tiempo de relajación (Betoret *et al.*, 2003).

Chiralt *et al.* (2001) indican que la efectividad de la impregnación al vacío en las matrices de alimentos es significativamente afectada por factores como la estructura del alimento (porosidad, tamaño de poro, forma y características del fluido que ocupa los poros), propiedades de flujo del fluido externo y variables de proceso (temperatura y extensión del tiempo del período de impregnación a presión de vacío).

En cuanto a los parámetros de proceso, el tiempo requerido para el período de vacío en el proceso de impregnación al vacío debe ser el necesario para alcanzar el equilibrio mecánico dentro del producto (presión externa e interna igual), con la consecuente liberación de parte del gas interno y del líquido. En cuanto a la temperatura, ésta afecta la tasa del período de difusión y por tanto la efectividad del proceso de impregnación. Las propiedades viscoelásticas de la matriz de alimento sólido cambian considerablemente con la temperatura siendo el ablandamiento de la estructura más evidente con el incremento de la temperatura (Chiralt *et al.*, 2001).

Los cambios de presión originan cambios en las matrices de alimentos de estructura blanda causando deformación del mismo y disminución de la efectividad del proceso de impregnación (Chiralt *et al.*, 2001).

La propiedad física más afectada en los alimentos impregnados al vacío, es la densidad del producto. El aire de los poros al ser reemplazada por el líquido externo, provoca el incremento de la densidad afectando otras propiedades como la conductividad térmica que es altamente afectada cuando los alimentos son altamente porosos (Fito *et al.*, 2001).

En cuanto a su aplicación, se pueden emplear las técnicas de impregnación al vacío para el salado de alimentos porosos para incrementar la velocidad de salado con una mejor distribución de la sal en productos como carne, pescado y queso manchego. Sin embargo, es necesario tener un control del nivel de impregnación y asegurar el salado homogéneo (Chiralt *et al.*, 2001).

Además, Betoret *et al.* (2003) indican en su estudio que la combinación de la impregnación al vacío y secado con aire permite desarrollar productos deshidratados con efecto probiótico. Su estudio permitió obtener satisfactoriamente manzanas deshidratadas con contenidos microbiológicos alrededor de 10^7 UFC/g de *Lactobacillus casei*. Este nivel corresponde al promedio del valor usualmente obtenido en productos lácteos probióticos.

Por otro lado, Gras *et al.* (2003) mencionan que la fortificación de los vegetales con minerales como el calcio puede ser lograda mediante la impregnación al vacío. En su estudio, se emplea muestras de zanahoria, berenjena y champiñones a las que se les impregna una solución isotónica de sucrosa y lactato de calcio. Cabe mencionar que la presencia de calcio puede modificar las propiedades mecánicas de algunos alimentos.

El desarrollo de productos funcionales con compuestos activos incorporados mediante la impregnación al vacío, permiten poder satisfacer los requerimientos diarios de, por ejemplo, vitaminas, minerales y bioactivos en la dieta de los consumidores y promoción de una vida saludable (Joshi *et al.*, 2010).

2.4.2.1 MECANISMO HIDRODINÁMICO

Fito (1994) indica que el mecanismo de transferencia de masa que ocurre en un sistema al vacío, se denomina mecanismo hidrodinámico. El fenómeno de transferencia de masa se produce por las fuerzas conductivas debido a la gradiente de presiones (capilaridad y/o impuesta). El mismo autor representa esquemáticamente en la Figura 2 la situación ideal en

la cual un poro es representado por un cilindro de un diámetro constante D y una longitud z . El interior del poro se asume que es ocupado por el gas a una presión p_i , mientras que el líquido externo existe a una presión p_e . Esta última presión es igual a la presión del sistema p_2 más la presión capilar p_c , que puede ser calculada a través de la ecuación Young – Laplace. Considerando que la penetración del líquido en el poro es un efecto de la gradiente de presión, por lo tanto esta ecuación se expresa de la siguiente manera:

$$-\Delta p + \frac{32\mu z^2}{D^2} x_v \frac{dx_v}{dt} = 0$$

Donde μ es la viscosidad del líquido, y la profundidad de la penetración del líquido dentro del poro ha sido expresado como la función de la fracción de volumen del poro ocupado por el líquido (x_v). El incremento en la presión o la fuerza conductora progresivamente disminuirá como consecuencia del aumento de la presión p_i cuando el gas es comprimido.

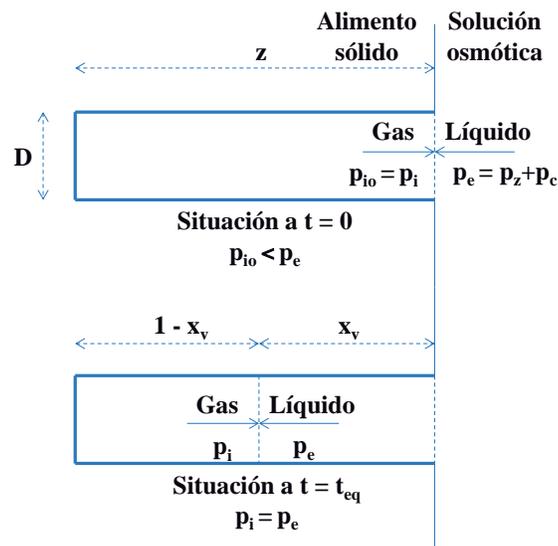


Figura 2: Mecanismo hidrodinámico en un poro (ideal)

FUENTE: Adaptado de Fito (1994).

2.4.2.1.1 Secuencia de etapas en la transferencia de masa entre un alimento poroso y un líquido bajo condiciones de vacío

Para un mejor entendimiento de cómo y cuándo el fenómeno de transferencia de masa es producido por el mecanismo hidrodinámico así como su importancia, Fito (1994) explica los pasos típicos que toman lugar en un proceso en el cual un sólido poroso está inmerso en un líquido bajo condiciones de vacío. Estos pasos se mencionan a continuación:

- Paso 1: El sólido está inmerso en un líquido a presión atmosférica. La primera etapa descrita podría representarse en la Figura 3. A y B, con la penetración del líquido debido al efecto de la capilaridad.
- Paso 2: La presión de trabajo se aplica al sistema ($p < p_{at}$). Se produce la expansión del gas ocluido en los poros. En muchos casos, éste puede ser tomado por el líquido del alimento (Figura 3. C).
- Paso 3: El sistema es mantenido a la presión de trabajo por un tiempo t . Una vez que la presión del gas es igual a la presión del sistema, el mecanismo hidrodinámico puede ser producido. Es importante notar que una disminución de la presión de trabajo incrementa el valor x_v (Figura 3. D).
- Paso 4: El sistema se restablece a su presión atmosférica nuevamente y el mecanismo hidrodinámico actúa nuevamente, este tiempo es un efecto de la gradiente de presiones impuestas cuando cambia la presión externa (Figura 3. E). El efecto es ahora mucho más importante. Esto significa que la cantidad de líquido fue transportada al interior del alimento.

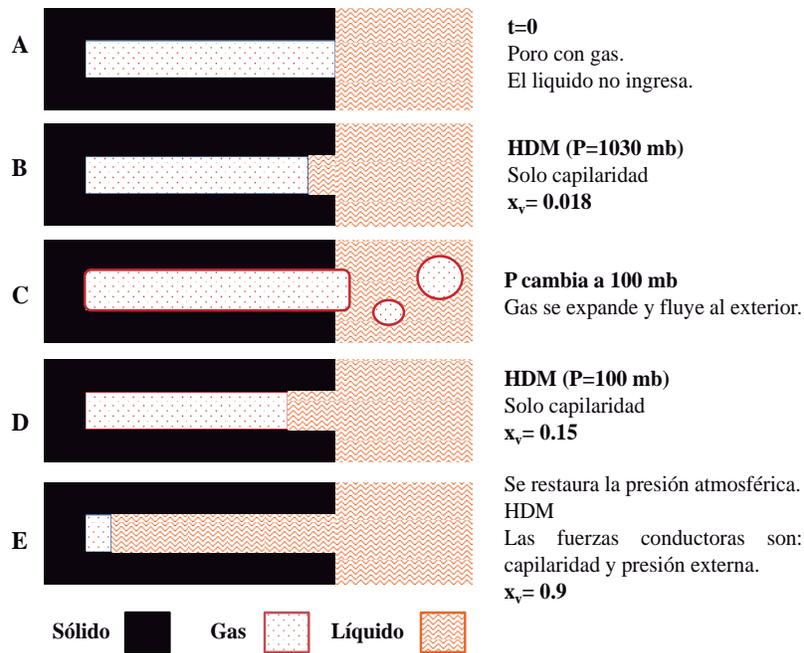


Figura 3: Secuencia de pasos en la transferencia de masa entre un alimento poroso inmerso en un líquido bajo condiciones de vacío. Situación de un poro ideal

FUENTE: Adaptado de Fito (1994).

2.4.3 DESHIDRATACIÓN

Vega - Mercado *et al.* (2001) señalan que el principio de conservación de los alimentos deshidratados se basa en la remoción parcial del contenido de agua de los tejidos del alimento.

FAO (2006) y Romero (2010) indican que la eliminación parcial del agua evita el desarrollo de los microorganismos y las reacciones químicas por la falta de agua libre. Al reducir el contenido de agua se alarga la vida útil del alimento y además el peso y el volumen disminuyen, con lo que se ahorra en costos de transporte.

Chacón (2006) menciona que el proceso de deshidratación requiere de tres parámetros fundamentales:

- a) Adición de energía, la cual calienta el producto y convierte el agua a vapor.

- b) La capacidad del aire de absorber el vapor de agua producido por el producto. Esta capacidad depende del porcentaje de humedad y temperatura del aire.
- c) La velocidad del aire sobre la superficie del producto debe ser alta, principalmente al inicio del proceso de deshidratado, con el objetivo de sacar la humedad rápidamente.

La deshidratación puede ser natural o artificial. En el primer caso, se emplea la fuente de energía solar para provocar la deshidratación de los alimentos. En el segundo caso, se aplican procesos de ósmosis, atomización, deshidratación con recirculación de aire caliente, al vacío y por congelación a fin de cumplir el objetivo de reducir la cantidad de agua (Chacón, 2006; Romero, 2010).

El secado de alimentos modifica sus propiedades físicas y químicas, por ejemplo la pérdida de color mientras se aplique una mayor temperatura y mayor tiempo de deshidratado, los pigmentos se alteran más (Chacón, 2006). También es vital conocer la velocidad a la que va a tener lugar el proceso, ya que la eliminación de humedad excesivamente rápida en las capas externas puede provocar un endurecimiento de la superficie, impidiendo que se produzca la correcta deshidratación del producto (Romero, 2010).

Por medio de la deshidratación se pueden obtener *snacks* de frutas, que son alimentos estables, con baja actividad de agua y de sabor y textura muy agradables. Los *snacks* de fruta se perciben como alimentos sanos y refrescantes, al igual que las frutas naturales (Sepúlveda *et al.*, 2011). Para la conservación de las frutas deshidratadas, la humedad final recomendable es de 5 a 15% (Chacón, 2006).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LUGAR DE EJECUCIÓN

La investigación se realizó en el laboratorio de Biotecnología Industrial del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima- Perú.

3.2 MATERIA PRIMA

Se utilizó raíces de yacón, con tres días de cosecha, adquiridas en el Mercado Mayorista N°2 de Frutas de Lima, ubicado en el distrito de La Victoria. Éstas fueron transportadas al laboratorio, y procesadas el mismo día de su recepción para la obtención de la harina.

Para la elaboración de los *snacks* de manzana, se empleó manzanas de variedad Israel, de Caña y Delicia, con un estado de madurez comercial para consumo, las cuales procedían del mercado mayorista de frutas de Lima. Éstas fueron conservadas en condiciones de refrigeración hasta el momento de su procesamiento.

3.3 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

3.3.1 EQUIPOS

- Agitador magnético (VELP científica. Modelo F20330164)
- Agitador vortex (VELP científica. Modelo F202A0175)
- Balanza analítica (OHAUS. Modelo AR2140)
- Balanza de precisión (OHAUS. Modelo Scout)
- Baño maría con agitación (GFL. Modelo 1083)
- Bomba de vacío (Vacuumbrand. Modelo ME2C)
- Cabina de secado con flujo de aire recirculado (Labor Muszeripari Muveck. Modelo LP302)

- Centrífuga (Hettich. Modelo Rotofix 32)
- Centrífuga (Hettich. Modelo Mikro 20)
- Centrífuga refrigerada (Hettich. Modelo Mikro 220R)
- Cocina eléctrica (Ingesa)
- Colorímetro (Konica Minolta. Modelo CR- 400/410)
- Congelador (Electrolux. Modelo GLFC1326FW1)
- Cromatógrafo de fase líquida de Alta Performancia (HPLC) (Waters Associates. Modelo 2695) con detector de Índice de Refracción (Waters Associates. Modelo 2414)
- Estufa al vacío (Shellab. Modelo VWR 1400 E-2)
- Higrómetro de punto de rocío (Aqualab. Modelo Serie 3 TE)
- Lector multi-modales de microplacas (Biotek. Modelo Synergy 2)
- Licuadora (Oster)
- Mufla (Griffin & George)
- Potenciómetro digital (Thermo Orión. Modelo 410)
- Refractómetro de mano (VWR)
- Refrigerador (LG. Modelo GR-482BEF)
- Rotavapor (Heidolph. Modelo Heizbad HB. DIGIT)
- Selladora (Machintek. Modelo KF- 300 H)
- Texturómetro (Brookfield. Modelo QTS)

3.3.2 MATERIALES DE LABORATORIO

- Columna Shodex Asahipak NH2P Series (4.6 mm ID x 250 mm)
- Material de vidrio en general: bagueña, bureta, erlenmeyers, fioles, matraces kitasato, pipetas, placas Petri, probetas, termómetro, tubos de ensayo y vasos de precipitado, entre otros.
- Micropipetas de 5-50 μL , 100-1000 μL , 500-5000 μL (Brand)
- Papel filtro Whatman N°1 y N°4
- Tamiz con malla N°20
- Ollas, cuchillos, cucharas, bolsas de polipropileno de alta densidad, etc.

3.3.3 REACTIVOS

- Acetato de sodio (p.a. Merck)
- Acetonitrilo (grado HPLC. Fisher)
- Ácido acético glacial (p.a. J.T. Barker)
- Ácido ascórbico (grado técnico)
- Ácido cítrico (grado técnico)
- Ácido fosfórico (p.a. J.T Barker)
- Alcohol etílico (p.a. J.T Barker)
- Bisulfito de sodio (p.a. Merck)
- Carbón activado en polvo (grado técnico)
- Cal hidratada en polvo (grado técnico)
- Fenol (p.a. Mallinckrodt)
- Fenoltaleína (p.a. Mallinckrodt)
- Folin- Ciocalteau (p.a. Merck)
- Fosfato de potasio monobásico (p.a. Fermont)
- Fosfato de potasio dibásico (p.a. Fermont)
- Fosfato tricálcico (grado técnico)
- Hidróxido de sodio en perla (p.a. J.T Barker)
- Inulinasa (Sigma)
- Metanol (p.a. J.T Barker)
- Persulfato de potasio (p.a. Sigma)
- Phtalato de potasio (p.a. Riedel de Haen)
- Sacarosa, Glucosa y Fructosa (p.a. Sigma)
- Tartrato de sodio y potasio (p.a. Fermont)
- 2,2'Azino bis (2-amidinopropano) dihidrocloruro (AAPH) (p.a. Sigma)
- 2,2' Azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6- sulfonate) (ABTS) (p.a. Sigma)
- 3,5 Dinitrosalisílico (DNS) (p.a. Mallinckrodt)
- 3',6' Dihidroxiestero (2-benofuran-3,9'- xanten)-1-ona (Fluoresceína) (p.a Sigma)
- 6-Hidroxi-2,5,7,8 tetrametil-croman-2-ácido carboxílico (Trolox) (p.a. Sigma)

3.4 MÉTODOS DE ANÁLISIS

3.4.1 DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES (GRADOS BRIX)

Basándose en la propiedad de los líquidos de refractar la luz en proporción a su contenido de sólidos solubles, se determinó el contenido de sólidos solubles para la manzana y para el extracto bruto y el extracto concentrado de yacón usando un refractómetro de mano, previamente calibrado, por el método 932.12 y 932.14-C (AOAC, 1995), respectivamente.

3.4.2 DETERMINACIÓN DE pH Y ACIDEZ TITULABLE

Dos gramos de *snack* se mezclaron con 20 ml de agua destilada libre de CO₂, mediante un licuado. El producto fue filtrado y analizado. En el caso de la manzana, se procedió a un homogenizado.

El pH de la manzana y los *snacks* de manzana fueron determinados por el método 981.12 de la AOAC (1995) utilizando un potenciómetro, el cual fue previamente calibrado con soluciones buffer de pH 4, 7 y 10. Las lecturas se realizaron a 25°C. La medición fue realizada directamente sobre los extractos de las muestras.

El contenido de acidez de la manzana y los *snacks* de manzana, expresado en ácido málico, se determinó por titulación con NaOH 0.01 N por el método 942.15 de la AOAC (1995). El punto final de este ensayo resultó al cambio de coloración de la muestra a un rosa claro, usando como indicador fenolftaleína.

3.4.3 DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES

Se determinó gravimétricamente la pérdida de peso de la manzana, *snack* de manzana, harina y extracto concentrado de yacón por secado en estufa a presión de vacío hasta obtener peso constante. En el caso de la manzana se empleó el método 920.151, para el *snack* de manzana y harina, y extracto concentrado de yacón se procedió según el método 925.45-A y 925.45-D de la AOAC (1995), respectivamente.

3.4.4 DETERMINACIÓN DE CENIZA

La manzana y los extractos concentrados de yacón se incineraron a 550°C para eliminar todo el material orgánico siguiendo el método 940.26 de la AOAC (1995).

3.4.5 DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

- Preparación de muestra

Para determinar el contenido de compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante del *snack* y la manzana se obtuvieron extractos metanólicos siguiendo la metodología propuesta por Andre *et al.*, (2007), con algunas modificaciones. Se pesó 2 g de *snack* impregnado ó 5 g de manzana. Cada uno se mezcló en tubos falcon con 25 ml de solvente (metanol) al 80% (para el *snack* impregnado) ó 100% (para la manzana). Se dejó reposar en refrigeración por 24 horas. Transcurrido este tiempo, se centrifugó a 4000 RPM por 15 min. El sobrenadante se separó mediante filtración, se colocó en botellas ámbar y se saturó con nitrógeno gaseoso conservándose hasta el momento del análisis.

En el caso del extracto concentrado de yacón, no fue necesario un acondicionamiento de la muestra. Los extractos metanólicos y extracto concentrado de yacón se mantuvieron almacenados a -20°C hasta su evaluación.

3.4.5.1 DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS

Se empleó el método de Folin - Ciocalteu recomendado por Singleton y Rossi (1965). El método consiste en una reacción de reducción del complejo fosfomolibdato -fosfotungstato a un complejo coloreado azul por los compuesto fenólicos.

En este método, la absorbancia se mide a una longitud de onda de 755 nm y el resultado se expresa como ácido gálico equivalente (mg AGE/ml o g bs). El procedimiento empleado para la determinación de compuestos fenólicos se presenta en el Anexo 1- A.

- **Determinación de la capacidad antioxidante**

La determinación de la capacidad antioxidante se realizó en las manzanas, extracto concentrado de yacón y *snack* de manzana mediante los métodos ABTS y ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*). En ambas determinaciones, el resultado se expresó en micromol de Trolox equivalente ($\mu\text{mol TE/ml}$ o g bs). Los procedimientos detallados se presentan en los Anexos 2- A y 3- A.

3.4.5.2 MÉTODO DEL ABTS

Este ensayo recomendado por Arnao *et al.* (2001), se fundamenta en la cuantificación de la decoloración del radical ABTS^+ , debido a la interacción con especies donantes de hidrógeno o de electrones. El radical ABTS^+ es un cromóforo que absorbe a una longitud de onda de 734 nm.

3.4.5.3 MÉTODO DEL ORAC

Se ensayó de acuerdo a la metodología propuesta por Ou *et al.* (2001). Se basa en la medición de la fluorescencia de una molécula a la que se le somete a la acción de un generador de radicales libres. A medida que la molécula fluorescente es atacada y dañada por los radicales va perdiendo su fluorescencia. La labor de los antioxidantes es la de proteger la molécula, y cuanto más capacidad antioxidante tiene un compuesto o alimento más se preserva la capacidad de emitir luz de la molécula en cuestión.

3.4.6 DETERMINACIÓN DEL COLOR POR EL MÉTODO CIELAB

El color de las muestras, se determinó por el método CIELAB utilizando un colorímetro de refracción (MINOLTA). En este procedimiento las muestras líquidas fueron colocadas en una cubeta transparente y acoplada a una carcasa de color negro. El patrón o blanco de comparación para los extractos concentrados y los extractos clarificados de yacón fue el agua destilada.

Para las lecturas del color de las muestras sólidas, se colocó el colorímetro en posición vertical sobre la superficie de la muestra. El blanco de comparación del *snack* de manzana

fue el *snack* sin tratamiento de impregnación y secado a las mismas condiciones. El resultado se expresó como variación del color (ΔE).

3.4.7 DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD

3.4.7.1 DETERMINACIÓN DE DENSIDAD REAL, APARENTE Y POROSIDAD (ϵ)

Se evaluó la densidad real y aparente de la manzana, a través del método del picnómetro siguiendo la metodología desarrollada por Salvatori *et al.* (1998) con algunas modificaciones (Anexo 4-A).

Para determinar la porosidad de diferentes variedades de manzana, ésta se obtiene de la relación dada por Salvatori *et al.* (1998):

$$\epsilon = 1 - \frac{\rho_a}{\rho_r}$$

Donde:

ρ_r = Densidad real (g/ml)

ρ_a = Densidad aparente (g/ml)

3.4.7.2 DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA DE LÍQUIDOS

Según el método 945.06 de la AOAC (1995), se determinó la densidad relativa de los extractos clarificados y concentrados de yacón por el método del picnómetro.

3.4.8 DETERMINACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES

Se usó el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico, recomendado por Miller (1959), el resultado fue calculado como porcentaje de azúcares reductores expresados como fructosa.

El principio de acción de este método se basa en la reacción redox donde ocurre la oxidación de los grupos aldehídos de los azúcares a grupo carboxilo y la reducción del 3,5 dinitrosalicílico (DNS), a ácido 3, amino-5, nitrosalicílico bajo condiciones alcalinas. El procedimiento de este análisis se encuentra en el Anexo 5-A.

3.4.9 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE GLUCOSA, FRUCTOSA, SACAROSA Y FOS

Para la determinación del contenido de fructooligosacáridos, se empleó la metodología de Jaime *et al.* (2001). Se tomó 2 g de harina de yacón, 2 g de *snack* de manzana ó 5 g de manzana fresca y se homogenizó con 100 ml de solución de etanol al 70% por cada muestra. Para el caso de los *snacks* impregnados y la manzana fresca, se licuaron las muestras con el solvente para así optimizar la eficiencia de extracción en la determinación del contenido de FOS. El homogenizado se llevó a ebullición durante 10 minutos y luego se centrifugó a 4000 RPM por 15 minutos para recolectar el sobrenadante y nuevamente se realizó la extracción a la torta. Este proceso se repitió una vez más y todos los sobrenadantes de las extracciones se mezclaron. El sobrenadante recolectado se filtró con la ayuda de papel Whatman N°1, posteriormente se concentró a vacío a 45°C hasta alcanzar un volumen de 25 ml aproximadamente.

Los extractos concentrados fueron sometidos a una hidrólisis enzimática; en el caso de las muestras líquidas (extractos y concentrados clarificados) se realizó la hidrólisis directamente sin acondicionar la muestra. El procedimiento de hidrólisis se encuentra descrito en el Anexo 5-A. La hidrólisis se llevó a cabo con diluciones apropiadas de las muestras.

Tanto la muestra sin hidrolizar como hidrolizada, se filtraron en filtros jeringa de membrana de PVDF (0.22 µm de poro y 13 mm de diámetro) antes de ser inyectadas al equipo de Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC), módulo de separación Waters Associates (Modelo 2695), detector de índice de refracción Waters Associates (Modelo 2414) y columna Shodex Asahipak NH2P Series (4.6 mm ID x 250 mm). El solvente de elución fue acetonitrilo: agua (80:20) a un flujo de 0.5 ml/min y 42°C, durante 20 minutos.

El cálculo del contenido de FOS se realizó mediante el empleo de curvas de calibración de fructosa, glucosa y sacarosa a diferentes concentraciones (0.25%, 0.5% y 1%). La concentración de fructanos totales fue calculada según las siguientes ecuaciones reportadas por Hoebregs (1997):

$$G = G_t - \frac{S}{1.9} - G_f$$

$$F = F_t - \frac{S}{1.9} - F_f$$

Siendo:

G_t : Glucosa después de hidrólisis (g/100 ml)

F_t : Fructosa después de hidrólisis (g/100 ml)

G_f : Glucosa de la muestra no hidrolizada (g/100 ml)

F_f : Fructosa de la muestra no hidrolizada (g/100 ml)

G: Glucosa (g/100 ml)

F: Fructosa (g/100 ml)

S: Sacarosa (g/100 ml)

El contenido total de oligofruktanos es la suma de G y F, corregida por la ganancia de agua durante la hidrólisis.

$$\text{FOS}_{\text{total}} (\%) = k \times (G + F)$$

Donde:

$$k = 0.925$$

3.4.10 DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE FOS

La muestra fue preparada de la misma manera que en la determinación del contenido de FOS hasta la operación de concentración. De aquí, se filtraron para ser llevadas al equipo de Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC) de las mismas características del anterior análisis descrito empleando como solvente de elución acetonitrilo: agua (70:30) a un flujo de 0.3 ml/min y 35°C, durante 36 minutos. A través de las áreas de cada DP de FOS identificado, se determinó la proporción de cada DP de FOS en el *snack* impregnado y caracterizado.

3.4.11 DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD DE AGUA

Se determinó la actividad de agua del *snack* basándose en la metodología de los sensores de punto de rocío que empleó un higrómetro (Aqualab, Decagon Devices) y solución de cloruro de litio como patrón de calibración del equipo. El higrómetro de condensación o

punto de rocío determina la temperatura de condensación del aire en equilibrio con la muestra y haciendo uso del diagrama de Mollier se halla la humedad relativa y por lo tanto, la actividad de agua (Decagon Devices, 2007).

3.4.12 DETERMINACIÓN DE MINERALES CALCIO, FÓSFORO Y POTASIO

Mediante espectrofotometría de absorción atómica (Chapman y Pratt, 1973), se determinó el contenido de calcio, fósforo y potasio en la manzana, los extractos concentrados de yacón y el *snack* impregnado usando estándares de tales elementos. Se empleó el espectrofotómetro de absorción atómica Thermo Scientific Genesys 200.

3.4.13 DETERMINACIÓN DE TEXTURA

De acuerdo a la metodología propuesta por Egea *et al.* (2012), se empleó el texturómetro Brookfield (Modelo QTS) adaptado con un *spindle* tipo pistón de penetración de 0.25 pulgadas de diámetro. La velocidad de la prueba de penetración fue a 1.0 mm/s. Se determinó el punto de máxima ruptura (expresado en Newton) del *snack* de manzana impregnado durante su tiempo de almacenamiento.

3.5 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

El presente trabajo consiste en tres etapas: (a) obtención de harina a partir de la raíz de yacón, (b) la obtención del extracto concentrado a partir de la harina de yacón y (c) la impregnación de manzana con el extracto concentrado de yacón; dichos procedimientos se describen a continuación:

3.5.1 OBTENCIÓN DE LA HARINA DE YACÓN

A continuación, se describe la secuencia de las operaciones realizadas para la obtención de harina de yacón, recomendada por Arce (2012):

a. Selección

Esta operación se realizó para separar aquellas raíces que presentaran signos de deterioro físico y/o microbiológico.

b. Lavado

Se lavaron las raíces de yacón con chorro de agua fría quitando los residuos de tierra y polvo adherido.

c. Cocción

Las raíces de yacón, de aproximadamente 20 centímetros, se hirvieron por 15 minutos para inactivar enzimas causantes de la degradación de los FOS (fructosilhidrolasas) y las polifenoloxidasas responsables del oscurecimiento.

d. Enfriado

Se realizó a temperatura ambiente para facilitar su manipulación en la próxima operación.

e. Cortado

Las raíces de yacón fueron cortadas en rodajas de 0.5 cm de espesor.

f. Secado

Las rodajas fueron colocadas en un secador con corriente de aire de 1.5 m/s a 70°C hasta que alcanzaron una humedad aproximada de 7%.

g. Molienda y tamizado

Con la finalidad de reducir el tamaño de las hojuelas secas, se realizó una molienda y posterior tamizado usando un tamiz N°20 *mesh*.

h. Almacenamiento

La harina obtenida fue empacada en bolsas de polietileno de alta densidad de 88.88 g/m².

3.5.2 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO CLARIFICADO DE YACÓN

En la Figura 4 se presenta la secuencia de operaciones seguidas para la obtención del extracto clarificado de yacón, a partir de la harina de yacón según lo definido por Arce (2012) con algunas modificaciones; dicha secuencia es descrita a continuación:

a. Extracción

Se adicionó agua destilada a la harina de yacón en una proporción harina: agua destilada de 1:20 p:v. Luego, se calentó hasta una temperatura de 80°C y se mantuvo a esta temperatura, durante 10 minutos, con la finalidad de extraer la mayor cantidad de FOS.

b. Filtración

Se realizó una filtración empleando papel Whatman N°1 al vacío obteniéndose así una torta y el primer sobrenadante.

c. Reextracción de torta

A la torta se le añadió un 30% del volumen de agua añadida inicialmente y nuevamente se calentó a 80°C por 10 minutos. Se filtró con papel Whatman N°1 y la torta remanente fue descartada. Se mezcló el segundo sobrenadante obtenido con el primero, siendo esta mezcla la que recibió el nombre de extracto bruto.

d. Clarificación

El proceso de clarificación del extracto bruto de yacón se adoptó del estudio realizado por Zhou *et al.* (2012), con algunas modificaciones. Se realizaron ensayos con el fin de determinar la concentración adecuada de fosfato tricálcico, tal como se indica en el diseño experimental (acápite 3.6.1). El pH fue regulado con lechada de cal al 50% (p/v) hasta un valor de 11 con el fin de provocar la formación de sales en la forma de flóculos y atrapar compuesto insolubles. El extracto bruto se calentó a 40°C por 5 minutos. Se centrifugó a 4000 RPM durante 10 minutos, para separar el sobrenadante del precipitado y del floculo formado. Se empleó ácido fosfórico 1M para regular el pH del sobrenadante anterior a 7, neutralizando y formando más sales que aumenta el efecto “red” de los aglomerados. El extracto neutralizado se calentó a 90°C por 2 minutos. Se separó el precipitado del líquido sobrenadante a 4000 RPM por 10 minutos.

e. Primera decoloración

Se realizó una decoloración con carbón activado al 1% y a 55°C por 30 minutos con agitación constante.

f. Centrifugación

Se separó lo insoluble a 4000 RPM por 10 minutos y se recogió el sobrenadante.

g. Concentración

Se concentró a vacío el extracto obtenido hasta 10° Brix a 45°C y se reguló el pH a 6.5 empleando ácido fosfórico 1M para acondicionar este extracto para la siguiente decoloración.

h. Segunda decoloración

Se decoloró el extracto obtenido de la etapa anterior, nuevamente con carbón activado al 1% (p/v) respecto al extracto de yacón. Esta operación se realizó a 55°C por 30 minutos con intervalos de agitación.

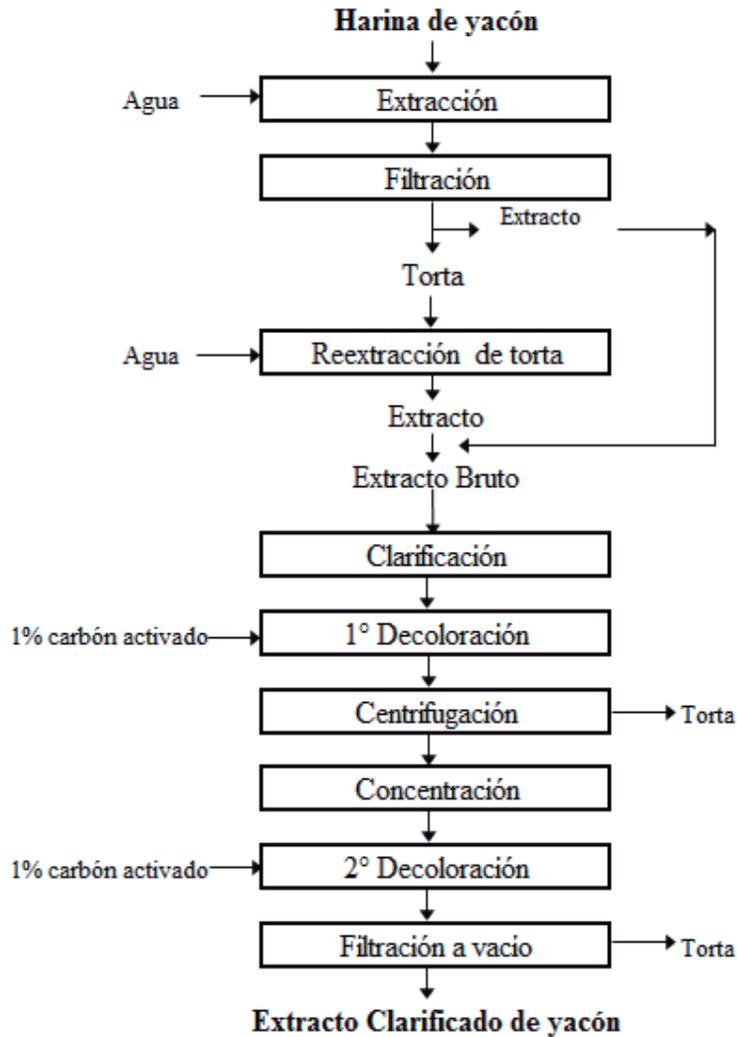


Figura 4: Flujo de operaciones para la obtención de extracto clarificado de yacón a partir de raíz de yacón

i. Filtración a vacío

Se filtró el decolorado para eliminar los restos de carbón activado empleando papel Whatman N°1.

Finalmente, los extractos clarificados y concentrados de yacón fueron conservados a -20°C hasta su uso.

3.5.3 OBTENCIÓN DE SNACKS DE MANZANAS IMPREGNADOS CON EXTRACTO CONCENTRADO DE YACÓN AL VACÍO

A continuación, se describen las operaciones para la obtención de los *snacks* de manzana impregnados al vacío con extracto concentrado de yacón.

a. Selección

Se separaron aquellas manzanas que presentaron signos de deterioro físico y/o microbiológico. Seguidamente, se escogieron las manzanas con tamaño uniforme de diámetro de 6 ± 0.5 cm.

b. Lavado

Se lavaron las manzanas con la finalidad de retirar polvo, tierra, entre otros.

c. Rodajado y descorazonado

Se cortaron las manzanas en rodajas de 2 mm de espesor y con un diámetro de 60 ± 5 mm, a las cuales se les hizo un corte concéntrico de 20 mm en la zona central de la fruta semejante a la forma de presentación de los *snacks* de manzana comerciales.

d. Inmersión en antioxidante

Las rodajas se sumergieron en una solución antioxidante de ácido cítrico y ácido ascórbico (1.0% y 0.3%, respectivamente) por 10 minutos, posteriormente fueron escurridos.

e. Impregnación al vacío

Las rodajas de manzana se sumergieron en el extracto concentrado de yacón en una relación de 1 rodaja por 20 ml de jarabe y se llevaron a una estufa de vacío, donde se redujo la presión a 50 mbar de presión manométrica, a diferentes temperaturas de impregnación durante 10 minutos.

f. Relajación

El proceso de relajación consistió en restaurar la presión atmosférica, dejando las rodajas a estas condiciones durante 10 minutos, de acuerdo a lo sugerido por Betalleluz *et al.*, (2010).

g. Secado

Las rodajas de manzana impregnadas con el concentrado de yacón fueron escurridas; y se secaron a 60°C en cabina de secado con flujo de aire forzado a 1.5 m/s. En el caso del *snack* control, se realizó el procedimiento descrito exceptuando los ítems e. y f.

h. Envasado

Las muestras de cada tratamiento se envasaron en bolsas de polietileno de alta densidad 88.88 g/m².

3.6 DISEÑO EXPERIMENTAL

3.6.1 INFLUENCIA DE LA CONCENTRACIÓN DE FOSFATO TRICÁLCICO EN LA CLARIFICACIÓN DEL EXTRACTO DE YACÓN Y RENDIMIENTO EN FOS

En esta parte del trabajo se evaluó la influencia de 6 concentraciones de fosfato tricálcico (2.5, 5, 10, 40, 70 y 100 ppm) en la clarificación del extracto de yacón. Para ello, la elección del mejor tratamiento se basó en determinar aquella concentración de fosfato tricálcico que permita obtener un alto rendimiento en FOS con respecto al del extracto bruto y su menor grado de variación de color (ΔE) comparándolo con el agua destilada. En esta etapa, también se consideró un tratamiento testigo sin fosfato tricálcico. Todos los ensayos fueron realizados por triplicado.

3.6.2 INFLUENCIA DE LA CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO CONCENTRADO DE YACÓN Y LAS TEMPERATURAS DE IMPREGNACIÓN EN EL CONTENIDO DE FOS Y EL COLOR DE LOS SNACKS DE MANZANA

Se analizó el efecto de la combinación de dos variables: concentración del jarabe clarificado de yacón (20, 28 y 36° Brix) y temperaturas de impregnación al vacío (25 y 35°C). Para la obtención de los extractos concentrados, se trabajó con el extracto clarificado de aproximadamente 10°Brix (acápite 3.5.2) y se concentró en un concentrador rotatorio al vacío hasta obtener concentrados de 20, 28 y 36° Brix. La determinación del mejor tratamiento se obtuvo de aquel que presentó la mayor retención de FOS en el *snack* de manzana y el menor ΔE con respecto al *snack* control.

3.6.3 EFECTO DEL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO EN LA ESTABILIDAD DE LOS SNACKS IMPREGNADOS

Los *snacks* impregnados por medio del mejor tratamiento (acápite 3.5.3) se evaluaron semanalmente durante un período de 6 semanas de almacenamiento a 20°C; los análisis realizados fueron los siguientes: contenido de FOS, color, textura, humedad, actividad de agua, acidez titulable y pH.

3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó con el *software* Statgraphics Plus 5.1. En la primera etapa, se analizó la influencia de concentraciones de fosfato tricálcico en la eficiencia de la clarificación del extracto de yacón evaluándose por el mayor rendimiento en FOS con respecto al extracto bruto y la menor variación de color (ΔE), utilizándose un Diseño Completamente al Azar (DCA) ($p < 0.05$) para todas las muestras. En las muestras que presentaron diferencia significativa se procedió a un análisis de medias a través de una prueba de Duncan.

En la etapa de impregnación, se determinó la temperatura de impregnación y la concentración de extracto clarificado de yacón adecuada que permita retener la mayor cantidad de FOS en los *snacks* de manzana así como una menor variación de color (ΔE) con respecto a su control. Esta evaluación se realizó mediante un DCA ($p < 0.05$) si es que existen diferencias significativas en las muestras. Se aplicó un análisis de medias a través de una prueba de Duncan.

En la parte final de esta investigación se evaluó, a través del DCA ($p < 0.05$) y prueba de medias, la existencia de diferencias significativas de la textura, el color, estabilidad de los FOS y características fisicoquímicas (humedad, actividad de agua, acidez titulable y pH) del *snack* impregnado a lo largo de 6 semanas de almacenamiento a 20°C.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CARACTERIZACIÓN DE LA HARINA DE YACÓN Y EXTRACTO BRUTO

La raíz de yacón fue procesada (según lo mostrado en el acápite 3.5.1) bajo la forma de hojuelas deshidratadas que finalmente fueron molidas para la obtención de la harina de yacón, materia prima que sirvió para el estudio de la presente investigación. En el Cuadro 8 se presenta las características de la harina de yacón procesada.

Cuadro 8: Características de la harina de yacón

Análisis	Contenido*
Humedad (%)	2.9 ± 0.20
Cenizas (% bs)	6.8 ± 1.23
Azúcares reductores (% bs)	30.3 ± 0.68
Fructosa (% bs)	18.96 ± 0.11
Glucosa (% bs)	7.65 ± 0.03
Sacarosa (% bs)	8.83 ± 0.19
FOS (% bs)	38.8 ± 1.10
Contenido de minerales (mg/100 g bs)	
- Potasio	850 ± 0.00
- Calcio	110 ± 0.00
- Fósforo	210 ± 0.00

*promedio de tres repeticiones ± DS

Polanco (2011) refiere que la particularidad de esta raíz radica en su alto contenido de carbohidratos del tipo fructanos en lugar de almidón. La harina procesada contiene 38.8% de FOS, 30.3% de azúcares reductores y 8.83% de sacarosa mostrando una relación FOS: Azúcares Reductores de 1.28:1. Los otros componentes son: grasa, proteína, fibra, otros

carbohidratos y minerales presentes en cantidades mínimas (Muñoz *et al.*, 2006) que no fueron cuantificados en este trabajo. La harina presentó una coloración marrón oscura y alta higroscopicidad.

La harina obtenida fue utilizada para la obtención del extracto bruto siguiendo la metodología descrita en el acápite 3.5.2. Las características del extracto obtenido se muestran en el Cuadro 9.

Cuadro 9: Características del extracto bruto

Análisis	Contenido*
Azúcares reductores (g/100 ml)	1.64 ± 0.01
Fructosa (g/100 ml)	0.76 ± 0.16
Glucosa (g/100 ml)	0.39 ± 0.12
Sacarosa (g/100 ml)	0.44 ± 0.12
FOS (g/100 ml)	1.21 ± 0.17
°Brix	3.60 ± 0.00
Color (ΔE)	21.98 ± 0.19

*promedio de tres repeticiones ± DS

Dentro de las características del extracto de yacón se debe resaltar la relación de FOS: azúcares reductores de 0.74:1 que comparado con la misma relación en la harina, indicaría que en el proceso de extracción aumenta el contenido de azúcares reductores debido a una posible hidrólisis o que las condiciones de extracción no fueron las óptimas impidiendo la extracción de todos los FOS. Por lo tanto, es recomendable optimizar el método de extracción que permita obtener una mejor cantidad, calidad y pureza de FOS.

La variación del color del extracto bruto de yacón comparado con el agua destilada, posee un valor de $\Delta E=21.98$. De acuerdo a las condiciones de extracción trabajadas (80°C por 10 minutos), el contenido de sólidos solubles y la variación del color del extracto son similares al reportado por Arce (2012), en 3.8 °Brix y 21.41, respectivamente.

Con respecto a las características organolépticas del extracto bruto, se obtuvo una coloración marrón oscura semejante a una infusión de té, olor y aroma característicos a

yacón. Al respecto, se puede indicar que uno de los mayores inconvenientes tecnológicos en el procesamiento del yacón, es su facilidad de pardeamiento debido a la presencia de enzimas polifenoloxidasas.

4.2 CARACTERIZACIÓN DE LA MANZANA

Para la selección de la variedad de manzana a estudiar, se realizó una evaluación previa en función de la porosidad. La porosidad de un alimento es una característica importante en el proceso de impregnación al vacío pues las fracciones de gas en el poro serán ocupadas por el líquido a través del mecanismo hidrodinámico (Fito, 1994). Así Mújica - Paz *et al.* (2003), mencionan que la manzana no sólo presenta altos niveles de porosidad efectiva a comparación de otras frutas (mamey, plátano, durazno y mango) sino también una respuesta lineal a la impregnación al vacío lo que significa que la matriz sólida sufre deformaciones menores por los cambios de presión. Tres variedades de manzana de producción nacional que se encuentran en los mercados locales fueron evaluadas, con el fin de seleccionar aquella de mayor porosidad. De acuerdo al Cuadro 10, la manzana variedad Delicia con una porosidad de 24.72% fue seleccionada y se encuentra cerca del rango 21.6-23.8 % reportado por Salvatori *et al.* (1998) para varios tipos de manzana. Los resultados muestran que entre las variedades de manzana existen diferencias significativas en cuanto al valor de porosidad (Anexo 1-C).

Cuadro 10: Densidad aparente, densidad real y porosidad de diferentes variedades de manzana

Variedad de manzana	Densidad aparente* (g/ml)	Densidad real* (g/ml)	Porosidad* (%)
Caña	0.8757 ± 0.0030	1.0423 ± 0.0057	15.98 ± 0.65 ^b
Delicia	0.7945 ± 0.0014	1.0554 ± 0.0067	24.72 ± 0.35 ^a
Israel	0.8036 ± 0.0086	0.8584 ± 0.0089	6.38 ± 0.03 ^c

*promedio de tres repeticiones ± DS. Los valores medios que presentan letras diferentes dentro de la misma columna muestran diferencias significativas cuando se someten a la prueba de Duncan ($p < 0.05$)

La evaluación y selección de este criterio se debió a que la característica de porosidad permite la mejor impregnación del compuesto funcional (FOS) del extracto concentrado de yacón, como lo mencionan Chiralt *et al.* (2001) y Corrêa *et al.* (2009) debido a que esta propiedad influye en la efectividad de la impregnación. Fito *et al.* (2001) y Martínez – Monzó *et al.* (1998) indican que la impregnación al vacío permite introducir cantidades controladas de componentes fisiológicamente activos de una solución externa de composición deseada en la estructura porosa de frutas y vegetales. Adicionalmente, la determinación de la porosidad es imprescindible ya que se relaciona con la fracción de volumen de solución impregnado y el coeficiente de deformación volumétrica (Fito *et al.*, 2001; Corrêa *et al.*, 2009). En el inicio del proceso de impregnación, el vacío ocasiona la liberación de aire ocluido de la matriz alimenticia incrementando el área de transferencia de masa disponible (Silva *et al.*, 2008; Corrêa *et al.*, 2009; Betoret *et al.*, 2012).

Con respecto a los análisis para la caracterización de la manzana de variedad Delicia, los resultados se muestran en el Cuadro 11.

Henríquez *et al.* (2010) hicieron un estudio de caracterización de diferentes variedades de manzana chilena. Los resultados obtenidos en el Cuadro 11 son semejantes a los presentados por los autores en cuando a pH, acidez titulable, contenido de compuestos fenólicos, materia seca y sólidos solubles para la variedad *Granny Smith*.

La variedad Delicia posee un promedio de materia seca de 16.2%; este valor es similar al de 15.5% de materia seca encontrado en otros cultivares de manzana por Nour *et al.* (2010). Asimismo, estos autores mencionan que el contenido de sólidos solubles es un buen indicador del contenido de azúcar y presumiblemente de su dulzura.

Nour *et al.* (2010) indican que las manzanas son consideradas como una fuente de minerales. Ellos reportan que el mayor mineral contenido en la manzana es el potasio, luego el fósforo y seguidamente el calcio. Tal tendencia es acorde con los resultados obtenidos en el Cuadro 11 para la variedad estudiada.

Cuadro 11: Características físicoquímicas y funcionales de la manzana Delicia

Análisis	Contenido*
Humedad (%)	84.8 ± 0.27
Sólidos solubles (°Brix)	12.6 ± 0.20
Fructosa (g/100 g bs)	24.6 ± 1.89
Glucosa (g/100 g bs)	18.0 ± 1.32
Sacarosa (g/100 g bs)	8.3 ± 1.28
FOS (g/100 g bs)	1.1 ± 0.30
pH	4.1 ± 0.03
Acidez titulable (g ácido málico/100 g bs)	3.1 ± 0.2
Compuestos fenólicos totales (mg AGE/g bs)	27.7 ± 1.87
Capacidad antioxidante (μmol TE/g bs)	
- Método ABTS	77.6 ± 4.38
- Método ORAC	212.7 ± 8.26
Cenizas (g/100 g bs)	2.4 ± 0.11
Contenido de minerales:	
- Potasio (mg/100 bs)	290 ± 0.00
- Calcio (mg/100 bs)	40 ± 0.00
- Fósforo (mg/100 bs)	70 ± 0.00

*promedio de tres repeticiones ± DS

En cuanto a la capacidad antioxidante, la manzana presenta compuestos antioxidantes como epicatequina, catequina, cianidina, ácido gálico y ácido clorogénico (Boyer y Hai, 2004). La capacidad antioxidante cuantificada por el método ABTS y ORAC es 77.6 y 212.7 μmol TE/g bs, respectivamente. La diferencia de resultados entre estos métodos se debe al fundamento o mecanismo de reacción de cada método. En primer lugar, el método ABTS se basa en la reducción del radical cromóforo ABTS por compuestos antioxidantes que tienen un menor potencial redox. Sin embargo, el tiempo de reacción es variable ya que, de acuerdo al tipo de antioxidantes presentes, completarán su reacción con el radical en tiempos diferentes. Por otro lado, el método ORAC mide la capacidad antioxidante de una sustancia de la muestra como el grado de protección que le da a una molécula para que

no pierda su fluorescencia al ser sometida a la acción de los radicales libres (Pérez – Jiménez y Saura- Calixto, 2007).

Entre las diferentes variedades de manzana evaluadas, estos autores refieren un contenido de compuestos fenólicos que varía de 100 a 250 mg AGE/100 g bh y específicamente la variedad Fuji posee 225 mg AGE/100 g bh; sin embargo, para la variedad Delicia se obtuvo 421 mg AGE/100 g bh.

4.3 INFLUENCIA DEL FOSFATO TRICÁLCICO EN LA CLARIFICACIÓN DEL EXTRACTO BRUTO

Se determinó la influencia de diferentes concentraciones de fosfato tricálcico en el contenido de azúcares simples (fructosa, glucosa), azúcares reductores y FOS presentes en los extractos clarificados. Los resultados se presentan en la Figura 5 (A, B, C y D). El análisis de varianza (Anexos 2-C, 3-C, 4-C, 5-C y 6-C) muestra que existen diferencias significativas en el contenido de fructosa, glucosa, sacarosa, azúcares reductores y FOS entre los extractos clarificados obtenidos empleando diferentes concentraciones de fosfato tricálcico.

El proceso de clarificación llevado a cabo según la metodología descrita en el acápite 3.5.2, contempla la elevación del pH del extracto a 11 con lechada de cal y una posterior neutralización con ácido fosfórico complementándose con procesos de calentamiento a 40°C y 90°C con diferentes tiempos que provocan la formación de aglomerados, siendo así que las condiciones de pH y temperatura de estas operaciones pueden influir, así como el fosfato tricálcico, en la concentración de azúcares y FOS, este último de interés funcional. Sin embargo, L'Homme *et al.* (2003) remarcan que la ebullición no tiene efecto en la estructura química de los FOS, salvo si éstos sólo son afectados por temperaturas superiores a 120°C, límite sobre el cual los carbohidratos empiezan a transformarse en azúcares más simples.

En el Cuadro 12 se muestran los resultados del rendimiento en FOS y variación del color con respecto al extracto bruto. En cuanto al análisis del color, el patrón de comparación fue el agua. Todos los extractos clarificados tuvieron rendimientos superiores al 90%, por otro

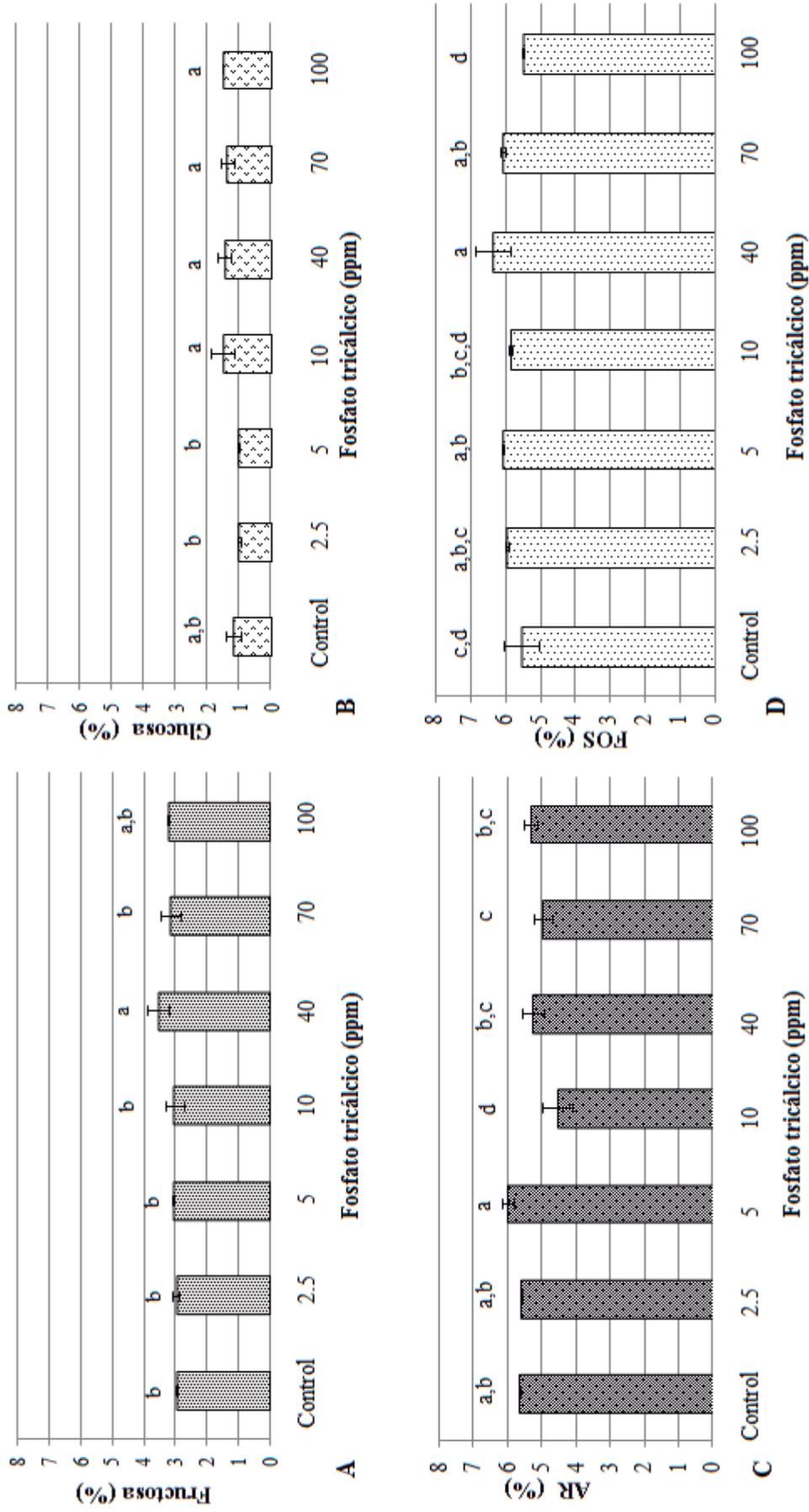


Figura 5: Contenido de fructosa (A), glucosa (B), azúcares reductores (C) y FOS (D) expresado como porcentaje, de los extractos clarificados de yacón

lado, el extracto clarificado con 2.5 ppm de fosfato tricálcico obtuvo el menor ΔE (3.03). El análisis estadístico se presenta en el Anexo 7-C.

Cuadro 12: Evaluación del color y rendimiento de FOS de los extractos clarificados con diferentes concentraciones de fosfato tricálcico

Extractos clarificados	Color*(ΔE)	Rendimiento de FOS*(%)
0 ppm	4.40 \pm 0.74 ^d	91.7 \pm 8.67 ^b
2.5 ppm	3.03 \pm 0.48 ^e	98.6 \pm 1.01 ^{ab}
5 ppm	5.81 \pm 0.07 ^{bc}	100.5 \pm 0.38 ^{ab}
10 ppm	8.23 \pm 0.27 ^a	97.0 \pm 0.89 ^{ab}
40 ppm	5.35 \pm 0.37 ^c	101.0 \pm 6.10 ^a
70 ppm	6.34 \pm 0.50 ^b	100.3 \pm 1.08 ^{ab}
100 ppm	5.87 \pm 0.06 ^{bc}	91.2 \pm 0.38 ^{ab}

*promedio de tres repeticiones \pm DS. Los valores medios que presentan letras diferentes dentro de la misma columna muestran diferencias significativas cuando se someten a la prueba de Duncan ($p < 0.05$)

Con respecto al proceso de clarificación, el pH cumple un rol importante en dicho proceso. Courtin *et al.* (2009) mencionan que los oligosacáridos de cadena corta son más sensibles a la descomposición alcalina que los de cadena larga debido a la abundancia de terminales con grupo reductor. A pH 2-3, la hidrólisis de los enlaces de oligosacáridos toma lugar y los arabinoxilooligosacáridos (AX), específicamente son estables entre pH 3 y 11. Estos mismos autores indican que aplicaciones que involucren alto o bajo pH, o alta temperatura de procesamiento descompone la estructura de los oligosacáridos no digeribles resultando en la pérdida de propiedades fitoquímicas y nutricionales. Sin embargo, el rango de pH de clarificación que se empleó fue de 7-11 por lo que se presume que no hubo una hidrólisis significativa de los FOS; esto puede ser corroborado por el porcentaje de rendimiento en FOS.

Se empleó fosfato tricálcico como aditivo en la clarificación del extracto bruto de yacón, de la misma manera como se clarifica el jugo de caña de azúcar. Según Doherty y Rackemann (2009), el nivel de fosfato en el jugo de caña es un parámetro clave en el éxito

del proceso de clarificación por defecación. Se menciona además que jugos clarificados con insuficiente fosfato (menor a 300 ppm como P_2O_5) generalmente clarifica pobremente y produce un jugo clarificado “hazy” y por otro lado, el exceso de fosfato impacta negativamente en los posteriores procesos de filtración (Deben, 1976; Stendl, 1998; Bennett y Regnauth, 1960; citados por Doherty y Rackemann, 2009). En el caso de la clarificación del extracto de yacón, se emplearon concentraciones menores a 300 ppm y el mejor tratamiento de clarificación obtenido fue adicionando 2.5 ppm. Cabe mencionar que excesivas cantidades de lechada de cal (aditivo también empleado en la clarificación) causa el oscurecimiento del jugo clarificado y aumento de ceniza (Doherty y Rackemann, 2009); sin embargo, la cantidad añadida en el extracto bruto de yacón fue controlada hasta regular el pH a 11.

Otras reacciones que pueden ocurrir durante la clarificación, es la formación de fosfato de calcio a un pH de 7-8 que aumenta la efectividad de la clarificación al remover una proporción significativa de proteínas y consecuente reducción de la formación de melanoidinas (Doherty y Rackemann, 2009).

Mediante el ANOVA, se demostró que de acuerdo al rendimiento, no existen diferencias significativas importantes entre los extractos clarificados tratados a diferentes concentraciones de fosfato tricálcico. Sin embargo, en cuanto al color sí existen diferencias significativas entre el control y de las concentraciones de 5, 10, 40, 70 y 100 con el de 2.5 ppm. Por lo anterior expuesto, el tratamiento de clarificación del extracto bruto con 2.5 ppm fue elegido para continuar con las siguientes etapas del estudio.

4.4 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y FUNCIONAL DE LOS EXTRACTOS CONCENTRADOS

Habiéndose seleccionado el mejor tratamiento de clarificación, el extracto de yacón se clarificó con 2.5 ppm de fosfato tricálcico y se concentró a 20, 28 y 36 °Brix. Las características de estos concentrados se presentan en el Cuadro 13.

En cuanto a la composición de los extractos concentrados, el contenido de FOS representa aproximadamente el 50% de su contenido de sólidos solubles. Betalleluz *et al.* (2010) mencionan que el contenido de sólidos solubles y la densidad de la solución son

directamente proporcionales al contenido de FOS que se impregnan en el alimento. Manrique *et al.* (2005) señalan que un jarabe de yacón de $73 \pm 1^\circ$ Brix posee una densidad de 1.350 g/ml, mientras que los extractos clarificados y concentrados de yacón a 20, 28 y 36° Brix presentan valores de densidad específica de 1.079, 1.124 y 1.163.

Cuadro 13: Características físicoquímicas y funcionales de los extractos concentrados de yacón*

Análisis	Extracto de 20° Brix	Extracto de 28° Brix	Extracto de 36° Brix
Humedad (%)	79.8 ± 0.01	72.6 ± 0.12	62.4 ± 0.31
Cenizas (%)	3.3 ± 0.39	5.4 ± 0.22	7.8 ± 0.41
Azúcares reductores (%)	9.3 ± 0.50	12.3 ± 0.47	17.1 ± 0.70
Fructosa (%)	4.84 ± 0.32	7.04 ± 0.26	9.81 ± 0.18
Glucosa (%)	2.56 ± 0.45	4.45 ± 0.12	5.80 ± 0.07
Sacarosa (%)	2.07 ± 0.10	3.14 ± 0.11	4.26 ± 0.07
Densidad específica	1,078.7 ± 6.8	1,124.4 ± 3.0	1,163.2 ± 0.8
Color (ΔE)	8.4 ± 0.57	8.4 ± 0.17	10.6 ± 0.26
FOS (g/100ml)	10.3 ± 0.10	14.1 ± 1.03	18.9 ± 1.19
Capacidad antioxidante ($\mu\text{mol TE/ml}$)			
- Método ABTS	1.65 ± 0.11	1.59 ± 0.05	2.42 ± 0.05
- Método ORAC	0.71 ± 0.03	1.0 ± 0.01	1.06 ± 0.04
Contenido de minerales:			
- Potasio (mg/L)	1720.00 ± 0.00	2361.00 ± 0.00	2229.00 ± 0.00
- Calcio (mg/L)	390.00 ± 0.00	458.00 ± 0.00	517.00 ± 0.00
- Fósforo (mg/L)	124.73 ± 0.00	198.41 ± 0.00	195.06 ± 0.00

*promedio de tres repeticiones ± DS

Lachman *et al.* (2003) señalan que los polifenoles de las raíces de yacón que predominan son el ácido clorogénico. Manrique *et al.* (2005), por su lado, indican que también hay por lo menos 4 fenoles solubles derivados del ácido cafeico. Otros componentes reportados por su actividad antioxidante son el triptófano, la quercetina, el ácido ferulico y el ácido gálico.

En cuanto a la variación del color de los extractos clarificados - concentrados con respecto

al patrón (agua destilada), éste aumenta ligeramente al concentrarse a 36°Brix, mas no se observan diferencias a concentraciones de 20 y 28°Brix. Generalmente, el mercado nacional ofrece jarabes de yacón concentrados pero que poseen una coloración parda debido a la falta de clarificación del jugo.

Estos extractos concentrados se consideran como soluciones que contienen como componente fisiológicamente activo a los FOS cuya composición es apropiada para formular un alimento funcional y estable como lo señalan Seminario *et al.* (2003) y Manrique *et al.* (2005) indican que el contenido calórico del jarabe de yacón es menor al de otros edulcorantes similares y han tenido un bajo efecto glicémico postprandial en personas con diabetes. Alfaro *et al.* (2004), citados por Muñoz *et al.* (2006) mencionan además que el yacón en sus diferentes formas (como producto fresco, liofilizado, filtrante de las hojas) produce una disminución de la glucosa sérica sin llegar a los valores normales, asimismo, evidenciaron una disminución de la hemoglobina glicosilada final con respecto a la basal en todos los grupos de estudio.

Los extractos concentrados y clarificados de yacón contienen calcio, potasio y fósforo. Gras *et al.* (2003) indican que uno de los compuestos más interesantes para el desarrollo de alimentos funcionales es el calcio. La presencia de este mineral en la dieta de las personas es crítica en las diferentes etapas de la vida y generalmente, se le encuentra en productos lácteos que puede ocasionar problemas digestivos para algunas personas. Por otro lado, el fósforo es un componente para la formación de fosfolípidos de la membrana, nucleótidos y ácidos nucleicos y el potasio es un nutriente esencial para el mantenimiento del líquido corporal y balance electrolítico.

Adicionalmente, Lachman *et al.* (2003) señalan que el procesamiento de las raíces de yacón como harina, jarabe o extracto le da un mayor alcance a su uso al incorporarlo a algún producto, razón por la cual los extractos concentrados de yacón podrían ser empleados en la elaboración de alimentos funcionales y nutracéuticos que incorporen fructooligosacáridos así como también minerales.

4.5 EVALUACIÓN DE LA IMPREGNACIÓN DE LOS SNACKS DE MANZANAS CON EXTRACTO CLARIFICADO DE YACÓN

Se evaluó el contenido de FOS y color en los *snacks* impregnados con extracto clarificado de yacón (20, 28 y 36 °Brix) a dos temperaturas de impregnación (25 y 35 °C). Los resultados se presentan en el Cuadro 14. Asimismo, los perfiles de los FOS de los *snacks* impregnados se muestran en la Figura 6.

Cuadro 14: Caracterización de los *snacks* impregnados con extracto de yacón

Temperatura impregnación (°C)	Concentración de extracto (°Brix)	<i>Snacks</i> impregnados		
		Humedad* (%)	FOS* (% bs)	Color*(ΔE)
Control	-	0.15 ± 0.04	1.13 ± 0.30	-
25	20	0.58 ± 0.04	19.5 ± 1.10 ^e	30.0 ± 0.88 ^a
	28	0.18 ± 0.00	24.9 ± 0.63 ^{bc}	23.2 ± 0.53 ^{bc}
	36	0.31 ± 0.02	25.9 ± 1.56 ^b	26.3 ± 0.90 ^{ab}
35	20	0.33 ± 0.03	22.3 ± 1.03 ^{cd}	19.3 ± 1.49 ^c
	28	0.22 ± 0.02	30.5 ± 0.88 ^a	21.7 ± 2.63 ^c
	36	0.19 ± 0.03	23.6 ± 0.98 ^{bcd}	28.0 ± 0.78 ^a

*promedio de tres repeticiones ± DS. Los valores medios que presentan letras diferentes dentro de la misma columna muestran diferencias significativas cuando se someten a la prueba de Duncan ($p < 0.05$)

De acuerdo a los resultados mostrados en el Cuadro 14, en todos los tratamientos de impregnación, los *snacks* de manzana retuvieron cantidades significativas de FOS comparados con el control. De esta manera, se comprueba que la tecnología de impregnación al vacío permite el desarrollo de alimentos funcionales influyendo así también en sus propiedades físicas y químicas (Fito *et al.*, 2001; Barrera *et al.*, 2004). Hermann *et al.* (1998), citados por Lachman *et al.* (2003) mencionan que los fructanos del yacón son de bajo peso molecular, es decir que el mayor porcentaje de FOS está constituido principalmente por GF-2, GF-3 y GF-4 que son los que se encuentran en mayor proporción en el *snack* impregnado sometido a diferentes tratamientos como se observa en la Figura 6.

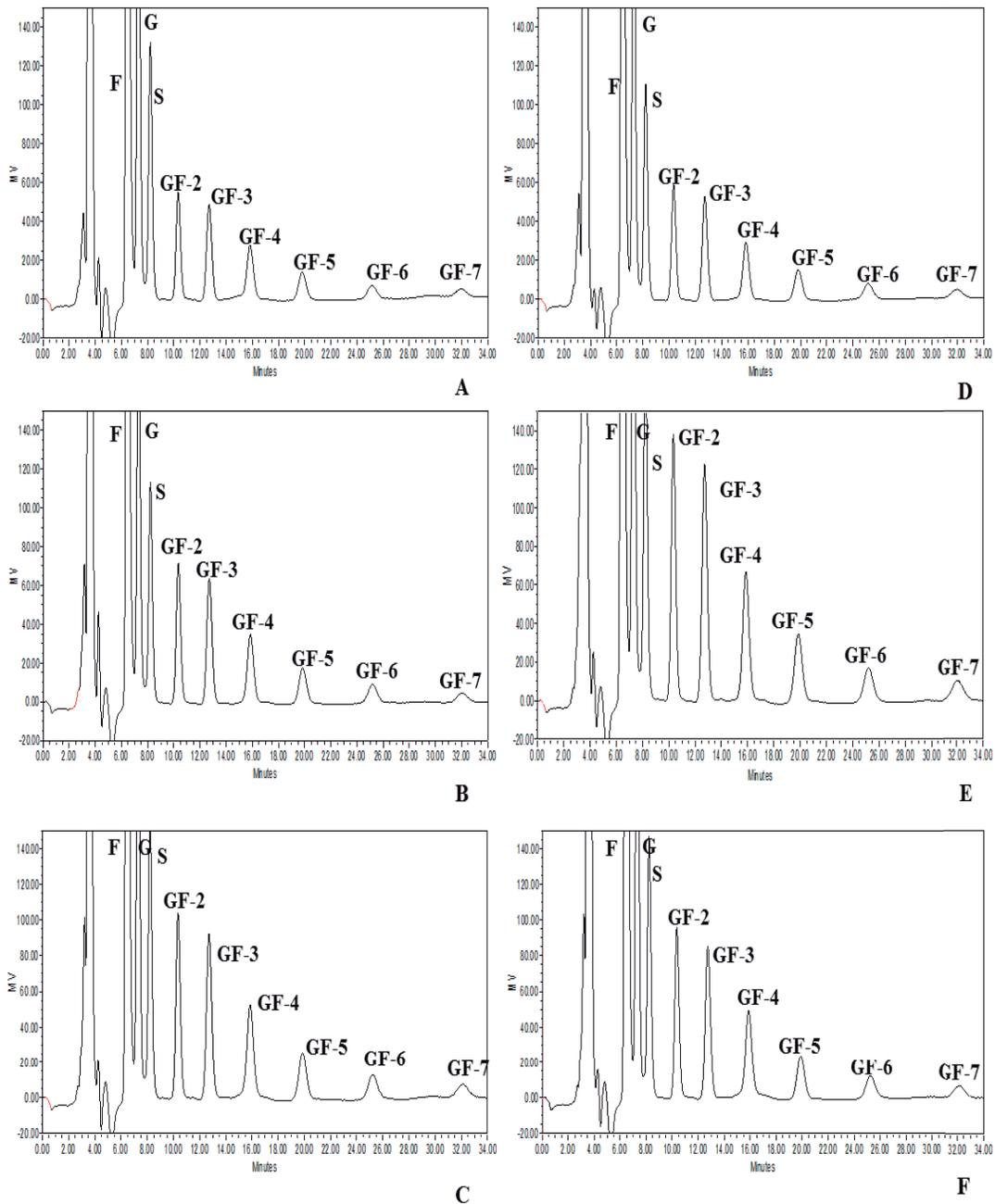


Figura 6: Perfil de FOS en *snacks* impregnados a 20°Brix y 25°C (A), 28°Brix y 25°C (B), 36°Brix y 25°C (C), 20°Brix y 35°C (D), 28°Brix y 35°C (E) y 36°Brix y 35°C (F)

En el Cuadro 14 se observa que una mayor impregnación de los FOS ocurre a 35°C que a 25°C debido a que la temperatura y la concentración de la solución influyen significativamente en la difusión de los solutos y en el cambio en la viscosidad de la

solución (Abbas *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2008; Corrêa *et al.*, 2009; Betoret *et al.*, 2012; Campos *et al.*, 2012b).

Sin embargo, en la impregnación a 35°C con un extracto concentrado de 36°Brix el contenido de FOS impregnados fue menor que el obtenido a 25°C a la misma concentración de la solución. De acuerdo a lo mencionado por Hayes (1987), la temperatura es un factor importante para reducir la viscosidad de soluciones concentradas. Es así que soluciones de sacarosa al 20% sometidas a 20°C y 80°C, reducen su viscosidad de 1.92 a 0.59 Ns/m² x 10³, respectivamente; mientras que soluciones al 60% requieren incrementar la temperatura significativamente de 20°C a 95°C para reducir la viscosidad de 60.2 a 3.7 Ns/m² x 10³, respectivamente. La impregnación al vacío a una temperatura de 35° C podría no haber disminuido suficientemente la viscosidad del concentrado de 36°Brix dificultando la difusión de los solutos y por ende, limitando la impregnación de una mayor cantidad de FOS.

Betalalleluz *et al.* (2010) señalan que en las soluciones de FOS de concentraciones hasta 29.8°Brix dada la baja viscosidad, permite poder impregnar cantidades importantes de FOS mientras que las soluciones más concentradas (50°Brix) limitan la penetración del líquido por su alta viscosidad, aumenta la rigidez de la capa celular externa debido al efecto del endurecimiento y se favorece la salida de agua desde el alimento por una mayor presión osmótica. Así también, Corrêa *et al.* (2009) mencionan que las soluciones concentradas pueden promover la formación de una capa densa de solutos en la superficie de los alimentos osmodeshidratados. Esta capa actúa como barrera contra la penetración de los solutos en el alimento y hace la transferencia de masa más difícil.

Por otro lado, Silva *et al.* (2008) y Torregiani (1993), citado por Campos *et al.* (2012b), indican que trabajar a altas o bajas temperaturas (mayor a 40°C o menor a 10°C) cambia la estructura de la fruta (su permeabilidad, cambio de color, sabor y aroma) influyendo en su comportamiento en la impregnación y deshidratación y por el contrario, temperaturas comprendidas entre 20-40°C permiten obtener la mayor pérdida de agua, en otras palabras, ocurre una mayor concentración de solutos.

Otros factores que influyen en la tasa de difusión del agua desde cualquier material son, aparte de la temperatura y la concentración de la solución osmótica, el tamaño, la

geometría del material y la relación solución/masa del alimento (Abbas *et al.*, 2006). Nieto *et al.* (2013) también señalan el efecto del jarabe de maltosa en las características reológicas y estructurales de manzanas osmóticamente deshidratadas señalando que además de una transferencia de masa de solutos dentro del producto con un flujo opuesto de agua, existe también complejas modificaciones físicas y estructurales que ocurren y que influyen en las interacciones entre el agua y las biomacromoléculas afectando el comportamiento mecánico de la fruta como lo son la turgencia, rigidez de la pared celular y la adhesión célula- célula.

Pani *et al.* (2010) mencionan que en la osmodeshidratación se emplea una solución hipertónica de azúcares simples y que el contenido de agua intracelular es drenado debido a la gradiente de concentración de azúcar. En este caso, el extracto concentrado de yacón poseía una mayor concentración de FOS que se transfirieron a la rodaja de manzana (con contenido inicial de 1.13%) por la diferencia de gradiente llegando al equilibrio mediante difusión. Ello también involucra la pérdida de agua por parte de la manzana y la ganancia de este componente en el extracto concentrado. La ventaja que ofrece la impregnación con respecto a esta otra tecnología, es que el tiempo de transferencia del compuesto en solución hipertónica se reduce significativamente por el efecto de la presión de vacío. Además, la pérdida de agua y sólidos ganados son más altos en el inicio del proceso de aplicación del vacío cuando el mecanismo hidrodinámico toma lugar a diferencia que el proceso de osmodeshidratación (Corrêa *et al.*, 2009).

Cabe indicar que al tener un extracto concentrado con FOS, éstos son de diferente grado de polimerización por lo que su facilidad de impregnarse en la matriz de la manzana depende mucho de su tamaño molecular y la porosidad del alimento sobre el que se trabaje.

De acuerdo al análisis estadístico (Anexo 8-C), el mayor contenido de FOS (30.5%) se obtuvo en los *snacks* impregnados con extracto concentrado de 28° Brix y aplicando una temperatura de impregnación de 35°C. Asimismo, el menor valor ΔE lo obtuvieron los *snacks* impregnados bajo la misma condición tomándose como patrón de comparación el *snack* control.

Los *snacks* presentaron en general valores muy bajos de humedad como se observa en el Cuadro 14. Adicionalmente, se realizó un control de la pérdida de peso durante el proceso

de secado para cada tratamiento de impregnación. Las curvas de secado se presentan en la Figura 7. Se puede observar que el control (*snack* deshidratado sin impregnar) es el que presenta una humedad mayor que los *snacks* impregnados al inicio del proceso de secado y que indistintamente del tratamiento de impregnación, aproximadamente a los 200 minutos se obtiene el peso constante. Durante los primeros 50 minutos, se puede notar una pérdida de agua más acelerada de los impregnados comparada con el control puesto que, como lo mencionan Raoult-Wack (1994), citado por Campos *et al.* (2012b) y Andrade *et al.* (2008), un pre-tratamiento de osmodeshidratación indistintamente del agente osmótico empleado (maltodextrina o sacarosa) reduce el tiempo de secado.

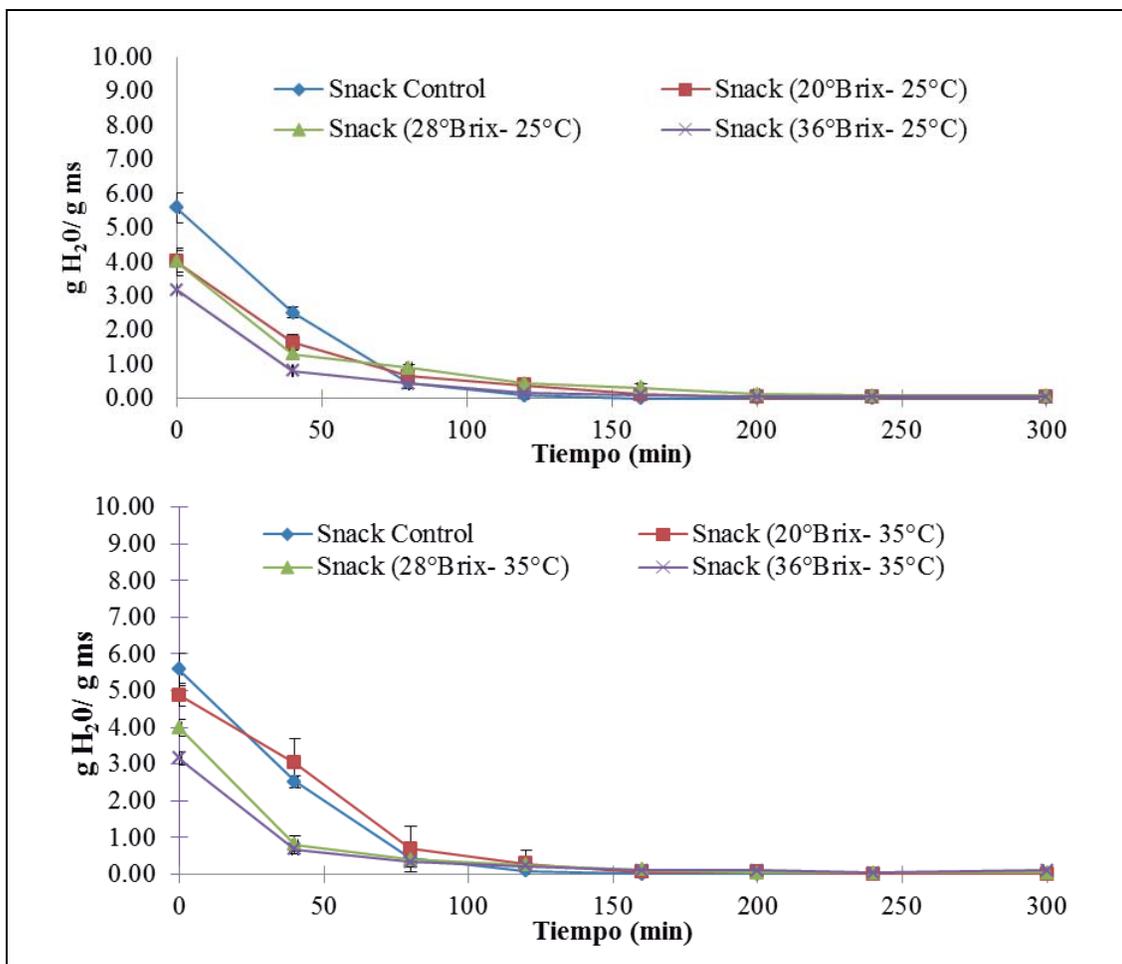


Figura 7: Curvas de secado de *snacks* impregnados con extractos concentrados de yacón a 25°C (A) y a 35°C (B)

Se seleccionó el tratamiento de impregnación óptimo, el obtenido con el extracto de 28°Brix y 35°C; esto debido a que se obtuvo el mayor contenido de FOS impregnados y bajo valor ΔE . Se realizó una caracterización fisicoquímica de los *snacks* provenientes de tal tratamiento y los resultados se presentan en el Cuadro 15.

4.6 CARACTERIZACIÓN DEL SNACK IMPREGNADO

De acuerdo a los resultados presentados en el Cuadro 15, la humedad final de los *snacks* de manzana impregnados y control es lo suficientemente baja para asegurar la ausencia de microorganismos y actividad enzimática como lo mencionan Sepúlveda *et al.* (2011) que caracterizaron también *snacks* de manzana reportando un valor de humedad de 4.6%.

Por otro lado, Scher *et al.* (2009) indican que el comportamiento del yacón al término del proceso de secado a 50, 60 y 70°C, mostró que la cantidad de agua retenida fue de 0.075, 0.069 y 0.058 g por 100 g bs, respectivamente. Con respecto a la actividad de agua, estos mismos autores mencionan que ésta no cambia en el inicio del período de secado y que posteriormente, decrece rápidamente hasta un valor constante de 0.389, 0.375 y 0.338 para las temperaturas de 50, 60 y 70°C, respectivamente. Por lo tanto, es probable que el *snack* de manzana impregnado haya adquirido ciertas características del yacón, obtenido así valores de humedad y actividad de agua de 0.24 g/100 g bs y 0.405, respectivamente.

Con respecto a la composición, Suni *et al.* (2000), citados por Nour *et al.* (2010) mencionan que el ácido málico es el mayor ácido orgánico de la manzana. El pH y la acidez titulable no presentan diferencias importantes con respecto al *snack* control. Este ácido aporta un valor funcional al producto desarrollado como *snack* impregnado por las propiedades glicémicas que atribuye la manzana como las mencionan estos autores.

En cuanto al contenido de minerales, el *snack* impregnado aumenta considerablemente su contenido de fósforo y potasio con respecto al *snack* control. Esto es debido a que el concentrado de yacón aporta estos minerales al alimento y por lo tanto, el contenido de cenizas en el *snack* impregnado también es mayor.

Cuadro 15: Caracterización del *snack* impregnado

Análisis	<i>Snack</i> impregnado*	<i>Snack</i> control*
Humedad (%)	0.24 ± 0.01	0.15 ± 0.04
Actividad de agua	0.405 ± 0.014	0.364 ± 0.03
pH	4.7 ± 0.02	4.7 ± 0.01
Acidez titulable (g ácido málico/ 100 g bs)	3.23 ± 0.35	3.00 ± 0.16
Color (ΔE)	20.7 ± 1.18	-
Compuestos fenólicos total (mg AGE/ g bs)	10.03 ± 0.24	14.23 ± 0.22
Capacidad antioxidante ($\mu\text{mol TE/g bs}$)		
- Método ABTS	31.1 ± 0.62	38.8 ± 2.19
- Método ORAC	59.2 ± 7.98	106.35 ± 8.50
FOS (% bs)	29.0 ± 0.77	1.13 ± 0.30
Fructosa (% bs)	22.62 ± 0.30	26.42 ± 2.30
Glucosa (% bs)	12.38 ± 0.19	18.50 ± 1.47
Sacarosa (% bs)	5.65 ± 0.14	8.30 ± 1.54
Cenizas (% bs)	8.87 ± 0.27	2.88 ± 0.14
Contenido de minerales:		
- Potasio (mg/100 bs)	710 ± 0.00	290 ± 0.00
- Calcio (mg/100 bs)	50 ± 0.00	40 ± 0.00
- Fósforo (mg/100 bs)	150 ± 0.00	70 ± 0.00

*promedio de tres repeticiones ± DS

Adicionalmente, las rodajas de *snacks* impregnados y secadas por aire caliente incluyen la cáscara. A esta parte del fruto se le ha atribuido una potente actividad antioxidante pudiendo inhibir significativamente el desarrollo del cáncer de hígado y de colon (Boyer y Hai, 2004). Por otro lado, Sepúlveda *et al.* (2011) indican que el contenido de polifenoles aumenta en el *snack* de manzana respecto a la materia prima. Sin embargo, evaluando el contenido de fenólicos totales para la fruta fresca, ésta resulta ser mayor que el *snack* impregnado (27.7% y 10.03%, Cuadros 11 y 15, respectivamente). Esta disminución puede deberse al proceso de secado e impregnación al vacío aplicada ya que tratamientos severos ocasionan que el efecto de la presión provoque la ruptura de vacuolas y por lo tanto la liberación de compuestos fenólicos de la manzana al medio externo (extracto concentrado

de yacón) (Sepúlveda *et al.*, 2011). Adicionalmente, la manzana fresca posee una capacidad antioxidante superior a los extractos concentrados de yacón (Cuadro 11 y Cuadro 13). Durante la impregnación, el equilibrio másico de los compuestos antioxidantes se alcanza a través de la difusión del componente desde la manzana hacia el extracto concentrado y por lo tanto, la capacidad antioxidante del *snack* impregnado disminuye con respecto al *snack* control, habiéndose incrementado la del extracto concentrado residual. Moyano y Zúñiga (2003) mencionan que, aparentemente reutilizar este concentrado 5 veces en procesos de osmodeshidratación no afecta la calidad de la fruta pero el extracto puede sufrir cambios fitoquímicos como el oscurecimiento, sólidos insolubles y turbidez.

Así también, López *et al.* (2010) indican que el contenido de compuestos fenólicos decrece mientras la temperatura de secado va incrementando; sin embargo, a 90°C se presenta alto contenido. La temperatura de secado de las manzanas impregnadas fue de 60°C para así evitar las reacciones de Maillard y caramelización que afecten la calidad sensorial del *snack*; no obstante, como lo mencionan López *et al.* (2010) la temperatura pudo afectar las cualidades funcionales.

Con respecto al color, se observó que la coloración varió con respecto al *snack* control, adquiriendo un color amarillo intenso (L*: 67.23, 82.61; a*: 8.58, 3.11; b*: 42.94, 31.66; respectivamente).

En cuanto a la proporción de los FOS de diferente grado de polimerización (DP) en el *snack* impregnado, éste está constituido mayormente por GF-2 y GF-3 y en menor cantidad los FOS tipo GF-4, GF-5, GF-6 y GF-7 (Cuadro 16).

La presencia de FOS en el *snack* impregnado es de alta importancia debido a que los FOS tienen una capacidad de fermentación del 100% a comparación de otras fibras como la celulosa, hemicelulosa, entre otros; en otras palabras, la selectividad de esta fibra por parte de las bacterias benéficas es mayor (Escudero y González, 2006). Por otro lado, los fructooligosacáridos del tipo GF-2, GF-3 y GF-4 en el *snack* impregnado son rápidamente metabolizados por las bacterias debido a que poseen una estructura química que permiten hidrolizarlos a monómeros y acelerar la ruta metabólica hasta la obtención del piruvato (Escudero y González, 2006).

Cuadro 16: Proporción de tipo de FOS en el *snack* impregnado

Grado de Polimerización	Proporción* (%)
GF-2	27.64 ± 0.02
GF-3	29.36 ± 0.03
GF-4	19.01 ± 0.01
GF-5	12.23 ± 0.02
GF-6	6.98 ± 0.00
GF-7	4.78 ± 0.16

*promedio de tres repeticiones ± DS

4.7 EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DURANTE EL ALMACENAMIENTO EN EL CONTENIDO DE FOS Y OTRAS CARACTERÍSTICAS EN SNACKS DE MANZANAS IMPREGNADOS

Los resultados se presentan en el Cuadro 17. Mediante el ANOVA, se determinó que existen diferencias significativas en las características reológicas y fisicoquímicas de los *snacks* durante el almacenamiento como el aumento gradual de la humedad, la variación del color y la disminución de la acidez, entre otros. El análisis estadístico se muestra en los Anexos 9-C - 15-C.

Pereira *et al.* (2006), citados por Egea *et al.* (2012) indican que el procesamiento osmótico y el secado de la manzana incrementa el parámetro de color b* debido a la concentración de pigmentos ya que el soluto crea una barrera protectora que previene la salida de pigmento y en consecuencia la pérdida de color de la fruta.

Los niveles de actividad de agua de los *snacks* impregnados a partir de la primera semana se mantuvieron sin diferencias estadísticas significativas.

Acerca del punto de máximo rotura, Lewicki y Jakubczyk (2004) indican que la disminución del contenido de agua incrementa la fuerza necesaria para comprimir las manzanas deshidratadas y la temperatura de secado define las propiedades mecánicas de éstas; no obstante, el tratamiento de osmodeshidratado modifica el efecto convectivo del

Cuadro 17: Características del snack impregnado durante el almacenamiento

Análisis	Tiempo de almacenamiento*						
	Inicio	1° semana	2° semana	3° semana	4° semana	5° semana	6° semana
Humedad (%)	0.24 ± 0.01 ^c	0.25 ± 0.01 ^c	0.28 ± 0.01 ^b	0.28 ± 0.01 ^b	0.30 ± 0.02 ^{ab}	0.30 ± 0.02 ^b	0.32 ± 0.02 ^a
Aw	0.410 ± 0.01 ^b	0.440 ± 0.011 ^a	0.448 ± 0.015 ^a	0.444 ± 0.004 ^a	0.450 ± 0.016 ^a	0.442 ± 0.008 ^a	0.440 ± 0.009 ^a
Color (ΔE)	20.7 ± 1.18 ^c	26.0 ± 1.16 ^{ab}	29.1 ± 1.39 ^a	24.7 ± 0.46 ^{bc}	25.8 ± 0.33 ^{ab}	29.3 ± 1.42 ^a	27.2 ± 0.09 ^{ab}
Textura (N)	36.67 ± 0.70 ^b	36.26 ± 0.62 ^b	39.36 ± 0.48 ^b	51.94 ± 0.92 ^a	53.25 ± 0.59 ^a	57.49 ± 0.38 ^a	60.11 ± 0.32 ^a
pH	4.7 ± 0.02 ^c	4.8 ± 0.02 ^b	4.7 ± 0.07 ^c	5.0 ± 0.05 ^a	4.8 ± 0.02 ^b	4.7 ± 0.03 ^c	4.8 ± 0.03 ^{bc}
Acidez titulable (g ácido málico/ 100 g bs)	3.23 ± 0.14 ^a	2.80 ± 0.14 ^b	2.68 ± 0.12 ^{bc}	2.57 ± 0.04 ^{cd}	2.44 ± 0.02 ^d	2.44 ± 0.05 ^d	2.44 ± 0.08 ^d
FOS (% bs)	29.0 ± 0.77 ^{bc}	30.6 ± 0.76 ^{ab}	28.0 ± 1.78 ^{cd}	31.8 ± 0.57 ^a	29.5 ± 1.26 ^{bc}	28.3 ± 1.45 ^{cd}	27.0 ± 0.68 ^d

*promedio de tres repeticiones ± DS. Los valores medios que presentan letras diferentes dentro de la misma columna muestran diferencias significativas cuando se someten a la prueba de Duncan ($p < 0.05$).

proceso de secado en las propiedades reológicas del tejido. De la misma manera, los *snacks* impregnados con extracto de yacón han cambiado sus propiedades reológicas y al evaluarse en el tiempo, se demostró un aumento de la fuerza de rotura así como de la adhesividad.

Con respecto al contenido de fructooligosacáridos, no se observa una disminución considerable de su contenido. No obstante, Courtin *et al.* (2009) y Blecker *et al.* (2002) mencionan que realizar un almacenamiento prolongado bajo condiciones ambientales puede descomponer las estructuras de los oligosacáridos no digeribles resultando en la pérdida de propiedades nutricionales y fitoquímicas. Estos autores señalan que pH inferiores a 4, aceleran la tasa de hidrólisis de los oligosacáridos en un factor de 10. Sin embargo, el *snack* impregnado posee un pH entre 4.7-5.0, lo que hace a este producto estable frente a este tipo de reacción que podría degradar los FOS impregnados.

Benkeblia *et al.* (2005) señalan que, en 24 semanas el contenido de FOS en bulbos secos de cebolla disminuye significativamente 72.8%; sin embargo, en la octava semana la pérdida es de 2.5%. Tal tendencia es posible que ocurra para los *snacks* ya que durante las seis primeras semanas se observa un contenido casi constante.

V. CONCLUSIONES

- El mejor proceso de clarificación- decoloración del extracto de yacón se obtuvo añadiendo 2.5 ppm de fosfato tricálcico, adición de lechada de cal hasta alcanzar un pH de 11, a 40°C durante 5 min; seguido de centrifugación, regulación de pH 7 con ácido fosfórico, manteniéndose a 90°C durante 2 min y posterior decoloración con carbón activado al 1%. En estas condiciones se logró un $\Delta E = 3.03$ y una recuperación de FOS de 98.6%.
- La temperatura de impregnación tuvo una influencia significativa, a 35°C. Los mejores resultados se obtuvieron con un extracto clarificado- concentrado con 28% de sólidos solubles.
- La manzana Delicia presentó alta porosidad y puede ser empleada satisfactoriamente para producir *snacks* de manzana fortificados con FOS provenientes del yacón mediante una impregnación al vacío; llegándose a obtener 30.5g/100g ms de FOS en el producto final.
- El perfil de FOS (DP) en el extracto clarificado - concentrado es similar al del producto final.
- Durante el periodo de almacenamiento de 6 semanas de los *snacks* impregnados, se presentó un pH constante en los *snacks* impregnados y envasados en bolsas de polietileno de alta densidad (88.88 g/cm²) a temperatura ambiente. Con respecto a los FOS y la actividad de agua, se observó también una tendencia constante; sin embargo, si se observaron cambios importantes en la humedad, acidez, color y textura.

VI. RECOMENDACIONES

- Optimizar el método de extracción para la obtención del mayor rendimiento de FOS del extracto bruto con respecto a la harina de yacón.
- Optimizar el método de clarificación del extracto bruto de yacón a través de la metodología por superficie de respuesta.
- Evaluar, mediante pruebas afectivas, la aceptabilidad general de los *snacks* de manzana impregnados.
- Evaluar la reutilización de los extractos concentrados yacón en nuevos procesos de impregnación.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, A.; MOREIRA, P.; LUCENA, J.; XIDIEH, F. 2006. Influence of the osmotic agent on the osmotic dehydration of papaya (*Carica papaya* L.). *Journal of Food Engineering*. 75: 267-274.
- AGENCIA AGRARIA DE NOTICIAS. 2014. Perú: Consumo de manzana Winter, Israel y de Agua creció en 20% desde el 2011. Consultado el 31 jul. 2014. Disponible en <http://www.regionamazonas.gob.pe/sede/microsite.php?id=7&idpublicacion=756>.
- AMIOT, M.; TACCHINI, M.; AUBERT, S.; NICOLAS, J. 1992. Phenolic composition and browning susceptibility of various Apple cultivars at maturity. *Journal of Food Science*. 57 (4): 958-962.
- ANDRADE, E.; TEIXEIRA, M.; VILELA, S.; ANTUN, M.; MARIA, I. 2008. Influencia del agente osmótico en la composición fisico-química y en la cinética de secado de la manzana Gala. *Ciência Agronômica*. 39(1): 173-176.
- ANDRÉ, C.; GHISLAIN, M.; BERTIN, P.; OUFIR, M.; HERRERA, M.; HOFFMANN, L.; HAUSMAN, J.; LARONDELLE, Y.; EVERS, D. 2007. Andean potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.) as a source of antioxidant and mineral micronutrients. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55: 366-378.
- AQUINO, J. 2009. Ficha técnica: Manzana (*Malus Silvestris*) (on line). Red Peruana de Alimentación y Nutrición. Lima, Perú. Consultado 01 ene. 2013. Disponible en <http://www.rpan.org/>
- ARANGO, O.; CUARÁN, G.; FAJARDO, J. 2008. Extracción, cristalización y caracterización de inulina a partir de yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. &Endl)

para su utilización en la industria alimentaria y farmacéutica. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*. 6(2): 14-20.

- ARCE, L. 2012. Obtención de extracto clarificado y concentrado de fructooligosacáridos de la raíz de yacón (*Smallantus sonchifolia Poepp. & Endl.*). Tesis de Maestría en Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.
- ARNAO, M.; CANO, A.; ACOSTA, M. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry*. 73(2): 239-244.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1995. Official methods of analysis. 16th Edition. Washington D.C, USA. 1298 p.
- AYBAR, M.; SANCHEZ, A.; GRAU, A.; SANCHEZ, S. 2001. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallantus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*.74: 125–132.
- BARRERA, C.; BETORET, N.; FITO, P. 2004. Ca⁺² and Fe⁺² influence on the osmotic dehydration kinetics of apple slices (var. *Granny Smith*). *Journal of Food Engineering*. 65: 9-14.
- BARONI, S.; SUZUKI-KEMMELMEIER, F.; MARTINS, S.; NAKAMURA, R.; APARECIDA, C. 2008. Effect of crude extracts of leaves of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) on glycemia in diabetic rats. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 44(3): 521-530.
- BLECKER, C.; FOUGNIES, C.; VAN, JC.; CHEVALIER JP., PAQUOT, M. 2002. Kinetic study of the acid hydrolysis of various oligofructose samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.50:1602-1607.
- BENKEBLIA, N.; ONODERA, S.; YOSHIHIRA, T.; KOSAKA, S.; SHIOMI, N. 2005. Effect of long-term storage on saccharides and fructooligosaccharides (FOS) of onion bulb *Allium cepa* L. Var. Tenshin. *Journal of Food Technology*. 3(1): 35-40.

- BETALLELUZ, I.; BETORET, N.; CAMPOS, D.; FITO, P. 2010. Prebiotic fortification of apple by vacuum impregnation. International Conference on Food Innovation Food Innova. Valencia, España. 1-6.
- BETORET, N.; PUENTE, L.; DÍAZ, M.; PAGÁN, M.; GARCÍA, M.; GRAS, M.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; FITO, P. 2003. Development of probiotic- enriched dried fruits by vacuum impregnation. *Journal of Food Engineering*. 56: 273-277.
- BETORET, E.; BETORET, N.; ARILLA, A.; BENNÁR, M.; BARRERA, C.; CODOÑER, P.; FITO, P. 2012. No invasive methodology to produce a probiotic low humid apple snack with potential effect against *Helicobacter pylori*. *Journal of Food Engineering*. 110: 289-293.
- BIBAS, M.; MESON, O.; DE MORENO, A.; DOGI, C.; CHAVES, S.; KORTSARZ, A.; GRAU, A.; PERDIGÓN, G. 2010. Prebiotic effect of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) on intestinal mucosa using a mouse model. *Food and Agricultural Immunology*. 21(2): 175-189.
- BORGES, J.; VASQUES, A.; CURTO, R.; BERTOLI, S.; TAVARES, L.; BEGNINI, I.; KRETZSCHMAR, M. 2005. Dehydration of yacon as an alternative for the food production process. 2º Mercosur Congress on Chemical Engineering and 4º Mercosur Congress on Process Systems Engineering. Rio de Janeiro, Brazil. 1-8.
- BORNET, F. 1994. Undigestible sugars in food product. *American Journal of Clinical Nutrition*. 59: 76.
- BOSSCHER, D.; VAN LOO, J.; FRANCK, A. 2006. Inulin and oligofructose as prebiotics in the prevention of intestinal infections and diseases. *Nutrition Research Review*. 19: 216-226.
- BOYER, J.; HAI, R. 2004. Review: Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrition Journal*. 3(5): 1-15.

- CAMPOS, D.; BETALLELUZ, I.; CHIRINOS, R.; AGUILAR, A.; NORATTO, G.; PEDRESCHI, R. 2012a. Prebiotic effect of yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. Endl.), a source of fructooligosaccharides and phenolic compounds with antioxidant activity. *Food Chemistry*. 135: 1592-1599.
- CAMPOS, C.; SATO, A.; TONON, R.; HURINGER, M.; CUNHA, R. 2012b. Effect of process variables on the osmotic dehydration of star- fruit slices. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 32(2): 357-365.
- CASTRO, A.; CABALLERO, M.; HERBAS, A.; CARBALLO, S. 2012. Antioxidants in yacon products and effect of long term storage. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 32(3): 432-435.
- CHACÓN, S. 2006. Procesamiento de Frutas: Procesos Húmedos y Productos Secos. Manual de procesamiento de frutas tropicales a escala artesanal, en El Salvador. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. La Libertad, El Salvador. 66 p.
- CHAPMAN, H.; PRATT, P. 1973. Métodos de Análisis para Suelos, Plantas y Aguas. Editorial Trillas. México.
- CHIRALT, A.; FITO, P.; BARAT, J.; ANDRÉS, A.; GONZÁLEZ - MARTÍNEZ, C.; ESCRICHE, I.; CAMACHO, M. 2001. Use of vacuum impregnation in food salting process. *Journal of Food Engineering*. 49: 141-151.
- CODEX ALIMENTARIUS. 2010. Normas del Codex para las manzanas (CODEX STAN - 299) (*on line*). Consultado 27 ene. 2013. Disponible en <http://www.codexalimentarius.org/standards/list-of-standards/>
- CORRÊA, J.; PEREIRA, L.; VIEIRA, G.; HUBINGER, M. 2009. Mass transfer kinetics of pulsed vacuum osmotic dehydration of guavas. *Journal of Food Engineering*. 96: 498-504.

- COURTIN, C.; SWENNEN, K.; VERJANS, P.; DELCOUR, J. 2009. Heat and pH stability of prebiotic arabinoxylooligosaccharides, xylooligosaccharides and fructooligosaccharides. *Food Chemistry*. 112: 831-837.
- DABROWSKI, A.; PODKOSCIELNZY, P.; HUBICKI, Z.; BARCZAK, M. 2005. Adsorption of phenolic compounds by activated carbon- a critical review. *Chemosphere*. 58(8): 1049-1070.
- DECAGON DEVICES. 2007. Aqualab Lite: Operator's Manuall. 6th Version. Pullman, USA.
- DOHERTY, W.; RACKEMANN, D. 2009. Some aspects of calcium phosphate chemistry in sugarcane clarification. *International Sugar Journal*. 111(327): 448-455.
- EBERHARDT, M.; LEE, C.; LIU, R. 2000. Nutrition: antioxidant effect of fresh apples. *Nature*. 405: 903-904.
- ESCUDERO, E.; GONZÁLEZ, P. 2006. La fibra dietética. *Nutrición Hospitalaria*. 21 (Supl. 2): 61-72.
- EGEEA, M.; BORSATO, D.; SANTOS, R DOS; YAMASHITA, F. 2012. Osmo-dehydrated functional product containing fructooligosaccharides: physical, chemical and sensorial characteristics. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 55(6): 927-936.
- EIC (Environ International Corporation). 2000. Generally recognized as safe notification for short-chain fructooligosaccharide. Virginia, USA. 168 p.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2006. Fichas técnicas: Productos frescos y procesados (*on line*). Consultado 27 ene. 2013. Disponible en http://www.fao.org/inpho_archive/content/documents/vlibrary/ae620s/index.htm
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2012. Proposal for new work on a Codex regional standard for yacon (*Smallanthus sonchifolius* (Poeppig

& Endlicher) H. Robinson). 18° Session of FAO/WHO Coordinating Committee for Latin America and the Caribbean. San José, Costa Rica.

- FERREE, D.; WARRINGTON, I. 2003. Apples: Botany, production and uses. Edición ilustrada. CABI Publishing. USA. 662 p.
- FITO, P. 1994. Modelling of vacuum osmotic dehydration of food. *Journal of Food Engineering*. 22: 313-328.
- FITO, P.; CHIRALT, A.; BETORET, N.; GRAS, M.; CHÁFER, M.; MARTÍNEZ – MONZÓ, J.; ANDRÉS, A.; VIDAL, D. 2001. Vacuum impregnation and osmotic dehydration in matrix engineering. Application in functional fresh food development. *Journal of Food Engineering*. 49: 175-183.
- FUKAI, K.; MIYASAKI, S.; NANJO, F.; HARA, Y. 1993. Distribution of carbohydrates and related enzyme activities in Yacon (*Polymnia sonchifolia*). *Plant Nutrition and Soil Science*. 39 (3): 567-571.
- GENTA, S.; CABRERA, W.; GRAU, A.; SÁNCHEZ, S. 2005. Subchronic 4- month oral toxicity study of dried *Smallanthus sonchifolius* (yacon) roots as a diet supplement in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 43: 1657-1665.
- GENTA, S.; CABRERA, W.; HABIB, N.; PONS, J.; MANRIQUE, I.; GRAU, A.; SÁNCHEZ, S. 2009. Yacon syrup: Beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. *Clinical Nutrition*. 28: 182-187.
- GÓMEZ, V. 2010. Informe: Cadenas de valor de la manzana y el membrillo con enfoque territorial en la Cuenca de Lurín (*on line*). Disponible en <http://www.cgdd.org/valledelurin/documentos/estudios-especificos-de-la-cuenca-del-rio-lurin>
- GRAS, M.; VIDAL, D.; BETORET, N.; CHIRALT, A.; FITO, P. 2003. Calcium fortification of vegetables by vacuum impregnation. Interactions with cellular matrix. *Journal of Food Engineering*. 56: 279-284.

- GRAU, A.; KORTSARZ, A.; AYBAR, M.; SANCHEZ, A.; SANCHEZ, S. 2001. El retorno del Yacón. *Ciencia Hoy*. 11(63): 24-32.
- GRAZIANI, G.; D'ARGENIO, G., TUCCILLO, C.; LOGUERCIO, C.; RITIENI, A.; MORISCO, F.; VECCHIO C DEL; FLOGLIANO, V.; ROMANO, M. 2005. Apple polyphenol extracts prevent damage to human gastric epithelial cells *in vitro* and to rat gastric mucosa *in vivo*. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 54(2): 193-200.
- HAYES, G. 1987. Manual de Datos para Ingeniería de los Alimentos. Edición en lengua española. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. 182 p.
- HENRÍQUEZ, C.; ALMONACID, S.; CHIFFELLE, I.; VALENZUELA, T.; ARAYA, M.; CABEZAS, L.; SIMPSON, R.; SPEISKY, H. 2010. Determination of antioxidant capacity, total phenolic content and mineral composition of different fruit tissue of five apple cultivars grown in Chile. *Chilean Journal of Agricultural Research*. 70(4): 523-536.
- HERMANN, M.; FREIRE, I.; PAZOS, C. 1999. Compositional diversity of the yacon storage root. Impact on changing world: Program report 1997-1998. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Peru. 425-432.
- HOEBREGS, H. 1997. Fructans in foods and food products, ion exchange chromatographic method: collaborative study. *Journal of AOAC International*. 80: 1029-1036.
- HOPKINS, M.; MACFARLANE, G. 2002. Nondigestible oligosaccharides enhance bacterial colonization resistance against *Clostridium difficile* *in vitro*. *Applied and Environmental Microbiology*. 69(4): 1920-1927.
- JAIME, L.; MARTÍN-CABREJAS, M.; MOLLÁ, E.; LÓPEZ-ANDRÉU, F.; ESTEBAN, R. 2001. Effect of storage on Fructan and Fructooligosaccharide of Onion (*Allium cepa* L.). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 49: 982-988.

- JIROVSKÝ, D.; HORÁKOVÁ, D.; KOTOUCEK, M.; VALENTOVÁ, K.; ULRICHOVÁ, J. 2003. Analysis of phenolic acids in plant materials using HPLC with amperometric detection at a platinum tubular electrode. *Journal of Separation Science*. 26: 739-742.
- JOSHI, A.; RUPASINGHE, H.; PITTS, N. 2010. Sensory and nutritional quality of the apple *snacks* prepared by vacuum impregnation process. *Journal of Food Quality*. 33: 758-767.
- KEENAN, D.; BRUNTON, N.; BUTLER, F.; WOUTERS, R.; GORMLEY, R. 2011. Evaluation of thermal and high hydrostatic pressure processed apple purees enriched with prebiotic inclusions. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 12: 261-268.
- KOLIDA, S.; TUOHY, K.; Gibson, G. 2002. Prebiotic effects of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*. 87 (Suppl. 2): S193-S197.
- LACHMAN, J.; FERNÁNDEZ, E.; ORSÁK, M. 2003. Yacon (*Smallanthus sonchifolia* (Poepp. et Endl.) H. Robinson) chemical composition and use- a review. *Plant Soil Environment*. 49(6): 283- 290.
- LAVELLI, V.; VANTAGGI, C. 2009. Rate of antioxidant degradation and color variations in dehydrated apples as related to water activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57(11): 4733-4738.
- LEE, K.; KIM, Y.; KIM, D.; LEE, H.; LEE, C. 2003. Major phenolics in apple and their contribution to the total antioxidant capacity. *Journal Agriculture of Food Chemistry*. 51(22): 6516-6520.
- LEWICKI, P.; JAKUBCZYK, E. 2004. Effect of hot air temperature on mechanical properties of dried apples. *Journal of Food Engineering*. 64(3): 307-314.

- L'HOMME, C.; ARBELOT, M.; PUIGSERVER, A.; BIAGINI, A. 2003. Kinetics of hydrolysis of fructooligosaccharides in mineral-buffered aqueous solutions: Influence of pH and temperature. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(1): 224-228.
- LOTITO, S.; FREI, B. 2004. Relevance of apple polyphenols as antioxidants in human plasma: Contrasting *in vitro* and *in vivo* effects. *Free Radical Biology and Medicine*. 36(2): 201-211.
- LÓPEZ, J.; URIBE, E.; VEGA-GÁLVEZ, A.; MIRANDA, M.; VERGARA, J.; GONZALEZ, E.; DI SCALA, K. 2010. Effect of air temperature on drying kinetics, vitamin C, antioxidant activity, total phenolic content, non-enzymatic browning and firmness of blueberries variety O'Neil. *Food Bioprocess Technology*. 3: 772-777.
- MAFFEI, F.; TAROZZI, A.; CARBONE, F.; MARCHESI, A.; HRELIA, S.; ANGELONI, C.; CANTELLI, G.; HRELIA, P. 2007. Relevance of apple consumption for protection against oxidative damage induced by hydrogen peroxide in human lymphocytes. *British Journal of Nutrition*. 97: 921-927.
- MANRIQUE, I.; PÁRRAGA, A.; HERMANN, M. 2005. Yacon syrup: Principles and processing. Centro Internacional de la Papa (CIP), Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión, Erbacher Foundation, Swiss Agency for Development and Cooperation. Lima, Perú. 31 p. Serie "Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003)" (N°8B).
- MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; MARTÍNEZ- NAVARRETE, N.; CHIRALT, A.; FITO, P. 1998. Mechanical and structural changes in apple (var. Granny Smith) due to vacuum impregnation with cryoprotectants. *Journal of Food Science*. 63(3): 499-503.
- MILLER, G. 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of reducing Sugar. *Analysis Chemistry*. 31: 426-428.
- MINAG (Ministerio de Agricultura). 2013. Series históricas de Producción Agrícola- Compendio Estadístico (*on line*). Lima, Perú. Consultado 12 jul. 2012. Disponible en <http://frenteweb.minag.gob.pe/sisca/>

- MOYANO, P.; ZUÑIGA, R. 2003. Kinetic analysis of osmotic dehydration carried out with reused sucrose syrup. *Journal of Food Engineering and Physical Properties*. 68(9): 2701.
- MÚJICA-PAZ, H.; VALDEZ-FRAGOSO, A.; LÓPEZ-MALO, A.; PALOU, E.; WELTI-CHANES, J. 2003. Impregnation properties of some fruits at vacuum pressure. *Journal of Food Engineering*. 56: 307-314.
- MUÑOZ, A.; BLANCO, T.; SERVÁN, K.; ALVARADO-ORTIZ, C. 2006. Evaluación del contenido nutricional de yacón (*Polimnia sonchifolia*) procedente de sus principales zonas de producción nacional. *Horizonte Médico*. 6(2): 69-73.
- MURPHY, O. 2001. Non-polyol low- digestible carbohydrates: food applications and functional benefits. *British Journal of Nutrition*. 85: 47-53.
- MUSSATTO, S.; MANCILHA, I. 2007. Non- digestible oligosaccharides: A review. *Carbohydrates Polymers*. 68 (3): 587-597.
- MUÑOZ, A.; BLANCO, T.; SERVÁN, K.; ALVARADO-ORTIZ, C. 2006. Evaluación del contenido nutricional de yacón (*Polimnia sonchifolia*) procedente de sus principales zonas de producción nacional. *Horizonte Médico*. 6(2): 69-73.
- NIETO, A.; VICENTE, S.; HODARA, K.; CASTRO, M.; MARIS, S. 2013. Osmotic dehydration of apple: Influence of sugar and water activity on tissue structure, rheological properties and water mobility. *Journal of Food Engineering*. 119(1): 104-114.
- NOUR, V.; TRANDAFIR, I.; IONICA, M. 2010. Compositional characteristics of fruits of several apple (*Malus domestica* Borkh.) cultivars. *Notulae Botanicae HortiAgrobotanici Cluj- Napoca*. 38(3): 228-233.
- ODEPA (Oficina de Estudios y Políticas Agrarias). 2011. Boletín N° 231: Mercados agropecuarios (*on line*). Chile. Ministerio de Agricultura del gobierno de Chile. Consultado 27 ene. 2013. Disponible en www.odepa.gob.cl

- OU, B.; HAMPSCH – WOODILL, M.; PRIOR, R. 2001. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49: 4619- 4626.
- ÖZOĞLU, H.; BAYINDIRLI, A. 2002. Inhibition of enzymic browning in cloudy Apple juice with selected antibrowning agent. *Food Control*. 13(4): 213-221.
- PANI, P.; SIGNORELLI, M.; SCHIRALDI, A.; TORREGGIANI, D. 2010. Osmo-dehydration of apple pulp studied by means of classical and Knudsen thermogravimetry approach. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 102(1): 383-390.
- PEDRESCHI, R.; CAMPOS, D.; NORATTO, G.; CHIRINOS, R.; CISNERO-ZEVALLOS, L. 2003. Andean Yacon Root (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. et. Endl) fructooligosaccharides as a potential novel source of prebiotics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 5278-5284.
- PEREZ – JIMENEZ, J.; SAURA – CALIXTO, F. 2007. Metodología para la evaluación de capacidad antioxidante en frutas y hortalizas. V Congreso Iberoamericano de Tecnología, Postcosecha y Agroexportaciones. Madrid, España. 1151-1160.
- POLANCO, M. 2011. Caracterización morfológica y molecular de materiales de yacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl) H. Robinson) colectados en la eco región eje cafetero de Colombia. Trabajo de grado presentado para optar el título de Magister en Ciencias Agrícolas en énfasis en Fitomejoramiento. Universidad Nacional de Colombia. Colombia. 92 p.
- POLREICH, S. 2003. Establishment of a classification scheme to structure the post-harvest diversity of yacon storage roots (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl) H. Robinson). Thesis. University of Kassel. Hesse, Germany. 63 p.
- PYMAGROS (Productores y Mercados del Agro de la Sierra). 2005. Manual del cultivo de yacón (*on line*). Cajamarca, Perú. Consultado 31 jul. 2014. Disponible en: http://www.incidenciapolitica.info/biblioteca/P0136_completo.pdf.

- REECE, N. 2003. Optimizing aconitate removal during clarification. Thesis for the degree of Master of Science in Biological and Agricultural Engineering. Louisiana State University. USA.122 p.
- ROBERFROID, M. 2002. Functional food: concepts and application to inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*. 87 (Suppl. 2): S139-S143.
- ROMERO, M. 2010. Factibilidad para la producción y comercialización de una botana de fruta deshidratada en Apizaco, Tlaxcala. Tesis para obtener el grado de Maestra en Ingeniería Administrativa. Instituto Tecnológico de Apizaco. Tlaxcala, México. 150 p.
- SABATER, M. 2008. Efectos de las poliaminas y los FOS de la dieta sobre la maduración intestinal en cerdos destetados precozmente. Memoria presentada para optar el grado de Doctora en Biología. Universidad de Murcia. Murcia, España. 211 p.
- SALVATORI, D.; ANDRES, A.; CHIRALT, A.; FITO, P. 1998. The response of some properties of fruits to vacuum impregnation. *Journal of Food Process Engineering*. 21: 59-73.
- SANGEETHA, P.; RAMESH, M.; PRAPULLA, S. 2005. Fructooligosaccharide production using fructosyltransferase obtain from recycling culture of *Aspergillus oryzae* CFR 202. *Process Biochemistry*. 40: 1085-1088.
- SCHER, C.; RIOS, A.; PELAYO, C. 2009. Hot air drying of yacón (*Smallanthus sonchifolius*) and its effect on sugar concentrations. *International Journal of Food Science and Technology*. 44: 2169-2175.
- SEMINARIO, J.; VALDERRAMA, M.; MANRIQUE, I. 2003. El yacón: Fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio. Centro Internacional de la Papa (CIP), Universidad Nacional de Cajamarca, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSUDE). Lima, Perú. 60 p.
- SEPÚLVEDA, M.; QUIRAL, V.; SCHWARTZ, M.; VIO, F.; ZACARÍAS, I.; WERTHER, K. 2011. Propiedades saludables y calidad sensorial de snack de manzanas

- destinadas a alimentación escolar. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 61(4): 423-428.
- SILVA, S.; BEULKE, G.; BORGES, J. 2008. Effect of vacuum impregnation temperature on the mechanical properties and osmotic dehydration parameters of apples. *Brazilian archives of Biology and Technology*. 51(4): 799-806.
 - SINGLETON, V.; ROSSI, J. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16(3): 144-158.
 - SNI (Sociedad Nacional de Industrias). 2005a. Ficha técnica: Manzana delicia (*on line*). Consultado 01 ene. 2013. Disponible en www.sni.org.pe/downloads/fichas_tecnicas
 - SNI (Sociedad Nacional de Industrias). 2005b. Ficha técnica: Manzana para agua (*on line*). Consultado 01 ene. 2013. Disponible en www.sni.org.pe/downloads/fichas_tecnicas
 - VALENTOVÁ, K.; ULRICHOVÁ, J. 2003. *Smallanthus sonchifolius* and *Lepidium meyenii* – Prospective Andean crops for the prevention of chronic diseases. *Biomedical Papers*. 147(2): 119-130.
 - VEGA, R. 2009. Evaluación del contenido de fructooligosacáridos y actividad fructano exohidrolasa (EC. 3.2.1.80) durante el crecimiento de cinco entradas de yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl.). Tesis para optar el título profesional de Ingeniero en Industrias Alimentarias. UNALM. Lima, Perú. 97 p.
 - VEGA - MERCADO, H.; GÓNGORA - NIETO, M.; BARBOSA - CÁNOVAS, G. 2001. Advances in dehydration of foods. *Journal of Food Engineering*. 49(4): 271-289.
 - WU, J.; GAO, H.; ZHAO, L.; LIAO, X.; CHEN, F.; WANG, Z.; HU, X. 2007. Chemical composition and characterization of some apple cultivars. *Food Chemistry*. 103: 88-93.

- ZHOU, W.; PENG, H.; WANG, Z. 2012. Removing impurity technology for fructooligosaccharide coarse extraction liquid of yacon. *Food Science and Technology*. 3: 214-216, 220.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1-A: Determinación del contenido de compuesto fenólicos

Procedimiento

1. Preparar una solución de carbonato de sodio de una concentración de 75 g/L.
2. Preparar una solución de Folin- Ciocalteau 1 N.
3. Tomar 500 μ L de la muestra en un tubo protegido de la luz y adicionar primero, 250 μ L de Folin- Ciocalteau, y segundo, 1250 μ L de solución carbonato de sodio. Paralelamente preparar un blanco con 500 μ L de metanol en lugar de la muestra.
4. Agitar y dejar reaccionar por 30 minutos.
5. Leer en el espectrofotómetro a 755 nm.

El contenido de compuesto fenólicos se calcula usando una curva estándar de ácido gálico, y los resultados se expresan como mg de ácido gálico equivalente (AGE)/ ml de muestra. La ecuación empleada, obtenida a partir de la curva estándar con ácido gálico a 755 nm se muestra en la Figura 1.A.

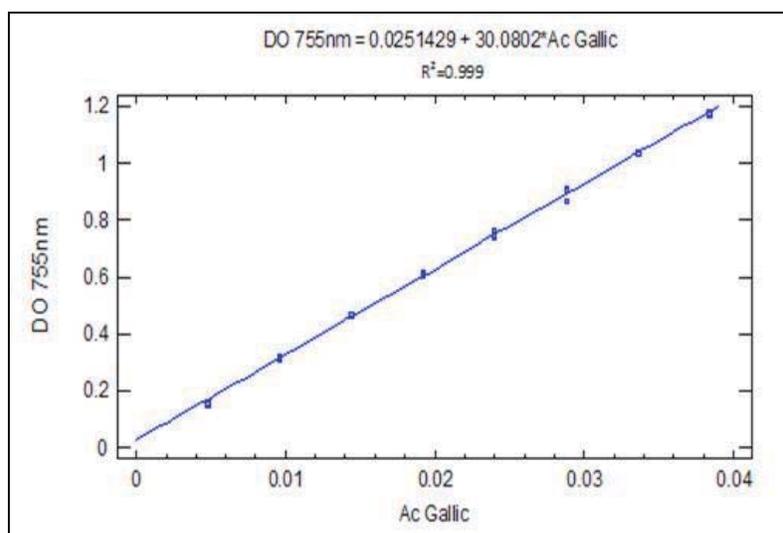


Figura 1.A. Curva estándar para la determinación de compuestos fenólicos

ANEXO 2-A: Determinación de la capacidad antioxidante por el método ABTS

Preparación de reactivos

- **Reactivo A:** Disolver 78.4 mg de ABTS en 10 mL de agua destilada.
- **Reactivo B:** Disolver 13.2 mg de persulfato de potasio en 10 mL de agua destilada
- **Solución de trabajo (solución madre) de ABTS:** Mezclar volúmenes iguales de los reactivos A y B; dejar reposar en oscuridad durante 12 horas (solución madre). Mezclar en una proporción aproximada de 1:60 (sol. madre: metanol), hasta una absorbancia de 1.1 ± 0.02 a 734 nm, leída contra metanol.
- **Solución stock de Trolox:** Disolver 12.5 mg de Trolox en 10 mL de metanol.
- **Solución estándar de Trolox:** Preparar 6 soluciones entre 0.5 y 0.01 mM de Trolox.

Preparación de la curva estándar

1. Tomar 150 μ L de cada solución estándar de Trolox. Para el blanco de reacción, se empleará 150 μ L de metanol en lugar de Trolox.
2. Adicionar 2850 μ L de solución de trabajo ABTS y dejar reaccionar por 30 minutos con agitación constante y protegido de la luz.
3. Transcurrido este tiempo, leer la absorbancia a 734 nm.

Para realizar la curva se toma por triplicado cada solución. La diferencia de absorbancias del blanco y los estándares se someten a un análisis de regresión lineal.

$$\Delta\text{Abs} = \text{Abs}_{\text{blanco}} - \text{Abs}_{\text{muestra } 734 \text{ nm}}$$

Procedimiento

Se repitió el procedimiento de preparación de la curva estándar, exceptuando que se tomó 150 μ L de muestra. La capacidad antioxidante se calculó usando la curva estándar mostrada en la Figura 2.A, y los resultados se expresan como μ mol de Trolox equivalente por mL de muestra.

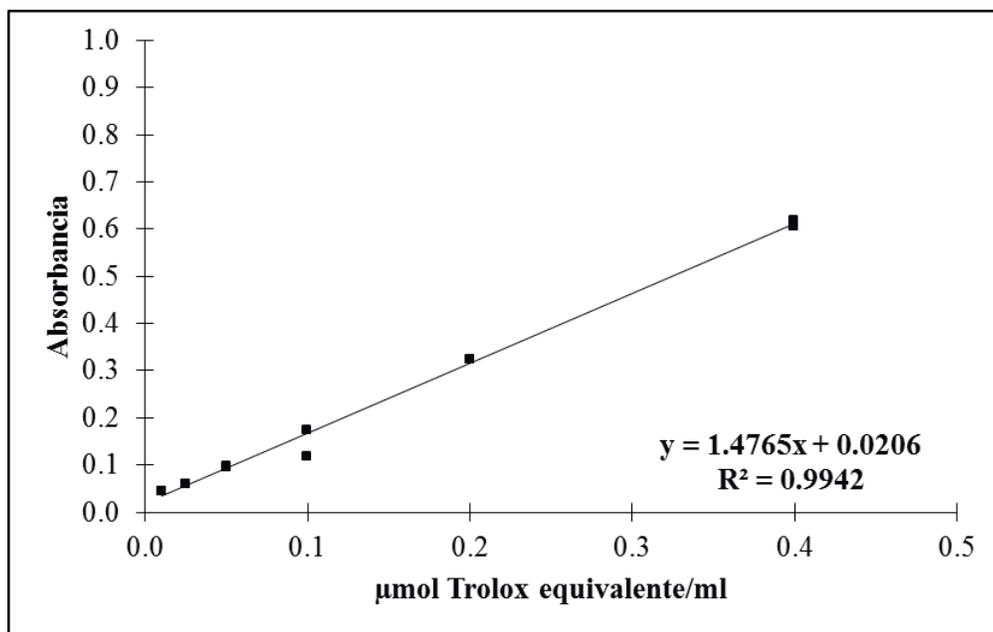


Figura 2.A. Curva estándar para capacidad antioxidante por ABTS

ANEXO 3-A: Determinación de la capacidad antioxidante por el método de ORAC

Preparación de reactivos

- **Solución de buffer fosfato (PBS) (pH=7.4 y 75 mM):** Pesar 25.3103 g de K_2HPO_4 y añadirlo a una fiola de 250 mL. Llevar el respectivo volumen con agua MiliQ (Solución A). Posteriormente, pesar 5.7400 g de K_2HPO_4 y añadirlo en una fiola de 250 mL, llevar al respectivo volumen con agua MiliQ (Solución B). Para llegar a la concentración de 75 mM, mezclar 25 mL de la solución A con 25 mL de la solución B y llevar la mezcla a un volumen de 250 mL. Éste será el buffer PBS. Se mide el pH del PBS, el valor debe ser 7.4, en caso contrario llevarlo al pH establecido con unas gotas de la solución A o B.
- **Solución de fluoresceína (55 nM):** Pesar 0.0167 g de fluoresceína y llevarla a 10 mL con el PBS (pH=7.4). Al momento de hacer el ensayo, se toma 10 μ L de la solución *stock* y se agrega 990 μ L del PBS en un ependorf de 2 mL y se agita bien en el vortex (Dilución 1). Luego, se toma 50 μ L de la dilución 1 y se agrega a 40 mL de la solución PBS en un tubo falcon de 50 mL. El conjunto se agita en un vortex (Dilución 2).
- **Solución de AAPH (153 mM):** Esta solución es preparada al momento de hacer el ensayo. Se disuelve 0.414 g de AAPH en 10 mL del PBS (pH=7.4) y agitar en un vortex hasta su completa disolución.
- **Solución de trolox (0.01 M):** Disolver 0.125 g de Trolox en 100 mL del PBS (pH=7.4). Seguidamente, se divide la solución en ependorf de 2 mL (Solución *stock*).

Preparación de la curva estándar

La curva estándar debe ser hecha cada día de corrida del ensayo ORAC. En la Figura 3.A se presenta la curva estándar empleada para los análisis de las muestras. La preparación de la curva estándar consiste en los siguientes pasos:

1. Tomar 1mL de la solución *stock* del Trolox la cual es diluida 50 veces con PBS (pH=7.4) para llegar a una concentración de 0.0002 M (1 mL de la solución *stock* con 49 mL del PBS) (Solución diluida).
2. A partir de la solución diluida, se hará la curva estándar tomando en cuenta las cantidades siguientes: 40 µL de solución diluida y 960 µL de PBS, 80 µL de solución diluida y 920 µL de PBS, 120 µL de solución diluida y 880 µL de PBS, 160 µL de solución diluida y 840 µL de PBS, y 200 µL de solución diluida y 800 µL de PBS.
3. Las diluciones se harán en ependorf de 1 mL, para luego ser pasadas a la microplaca.

Procedimiento

La microplaca de 96 pozos será llenada con las soluciones establecidas de la siguiente forma:

Reactivo	Concentración Inicial	Volumen
Fluoresceína	48 nM	250 µL
AAPH	153 nM	250 µL
Trolox	8, 16, 24, 32, 49 nM	250 µL

La microplaca es cargada primera con la fluoresceína y el Trolox (o muestra) y luego llevada a incubación a 37°C por 10 min y luego se inyectará el AAPH, el mismo que debe de estar a bajas temperaturas (baño de hielo) antes de ser incorporado a la microplaca.

Una vez realizada la inyección se procederá a realizar la lectura de los pozos cada minuto por un tiempo de 55 min.

El programa finalmente indicará el valor de la fluorescencia de cada uno de los pozos y ello se llevará a un programa Excel para obtener los valores de µmol Trolox equivalente/ml.

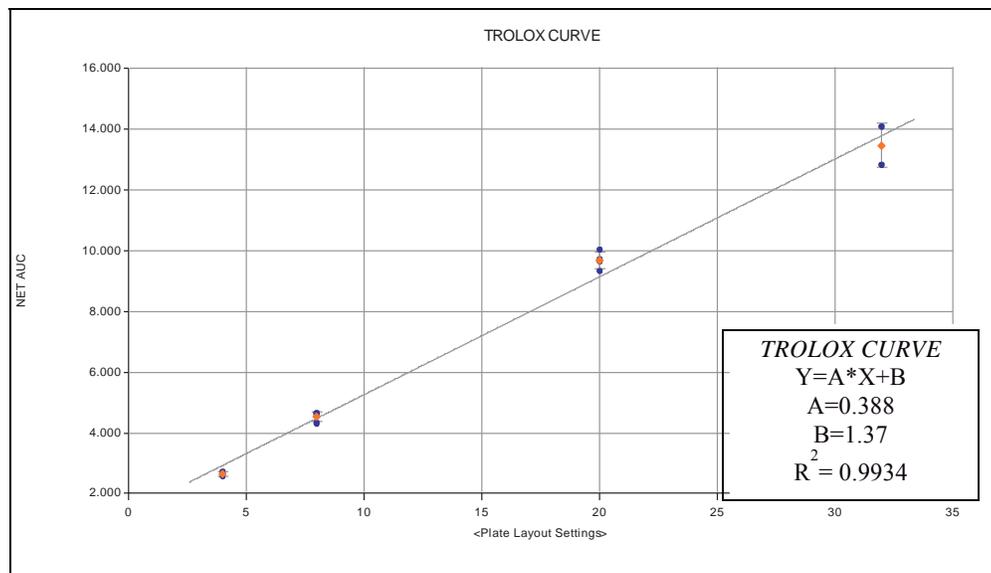


Figura 3.A: Curva estándar de capacidad antioxidante por ORAC

ANEXO 4-A: Determinación de densidad aparente y densidad real de manzanas

Fundamento

La densidad real considera el peso del sólido sin aire ocluido en su matriz y el volumen por el desplazamiento de un líquido conocido, de tal manera que este valor considera el promedio de la masa por unidad de volumen del sólido individual.

La densidad aparente es muy inferior a la densidad real por unidad debido a que se considera el peso del sólido con la presencia de espacios vacíos o aire ocluido.

Procedimiento

1. Pesar el picnómetro de sólidos vacío (P_v)
2. Enrasar el picnómetro con agua y volver a pesar (P_a)
3. Cortar las manzanas en cubos y pesarlas (P_m) en una placa tarada
4. Colocar los cubos pesados en el picnómetro (previamente pesado), llenar de agua (enrasar), secar y pesar (hacerlo rápido para que no entre agua a los espacios vacíos) (P_{ma})
5. Hacer vacío hasta que no se vea burbujas de aire saliendo de los cubos, enrasar, secar y pesar (P_{pva})

Se determinó la densidad real de la manzana a través de la siguiente expresión:

$$\rho_r = \frac{W_m}{V_m}$$

$$V_m = \frac{(P_a - P_v) - (P_{pva} - P_v - P_m)}{\rho}$$

Donde:

ρ_r = Densidad real (g/ml)

W_m = Peso de la manzana (g)

V_m = Volumen de la manzana sin espacios vacíos internos (ml)

P_a = Peso del picnómetro con agua (g)

P_v = Peso del picnómetro vacío (g)

P_{pva} = Peso del picnómetro con muestra enrasado con agua luego de hacer vacío (g)

P_m = Peso del picnómetro sólo con muestra (g)

ρ = Densidad del líquido conocido (g/ml)

Para determinar la densidad aparente, se calcula a partir de lo siguiente:

$$\rho_a = \frac{W_m}{V_{m\ c/poros}} = \frac{(P_m \times \rho)}{(P_a - P_v) - (P_{ma} - P_v - P_m)}$$

Donde:

ρ_a = Densidad aparente (g/ml)

$V_{m\ c/poros}$ = Volumen de la manzana con espacios vacíos internos (ml)

P_{ma} = Peso del picnómetro con muestra enrasado con agua antes de hacer vacío (g)

ANEXO 5-A: Determinación de azúcares reductores (Miller, 1959)

Preparación de reactivos

- **Solución DNS:** Disolver 1.1g de hidróxido de sodio en aproximadamente 70 ml de agua destilada, añadir 1g de DNS. Seguidamente, agregar 0.2g de fenol y 0.05 g de bisulfito de sodio, enrasar a 100ml con agua destilada y conservar en frasco oscuro en refrigeración.
- **Sal de Rochelle:** Preparar una solución al 40% (p/v) de tartrato de sodio y potasio. Guardar en frasco oscuro en refrigeración.

Preparación de la curva estándar

1. Pesar 0.2 g de fructosa anhidra.
2. Colocar en una fiola de 100 ml y enrasar con agua hervida y fría.
3. Tomar alícuota de 5, 7, 9, 11, 14.5, 18 y 22 mL. Colocar en fiolas de 25 mL y enrasar con agua destilada.
4. Colocar 0.5 mL en un tubo de ensayo por cada una de las soluciones preparadas en el paso anterior así como un blanco (agua).
5. Agregar 3 mL de solución de DNS a cada uno.
6. Llevar a baño maría en ebullición durante 15 minutos.
7. Agregar 1 mL de Sal de Rochelle y 10 mL de agua destilada a cada tubo y agitar.
8. Enfriar los tubos a temperatura ambiente en baño de agua fría.
9. Leer a una absorbancia de 550 nm.

Se construyó una curva estándar con soluciones estándar de fructosa como se observa en la Figura 5.A. Los resultados se expresan en g Fructosa/mL.

Procedimiento

1. Tomar 0.5ml de la muestra a analizar.
2. Adicionar 3ml de solución de DNS.

3. Calentar en baño maría a 100°C por 15 min
4. Adicionar 1ml de sal de Rochelle, seguido de 10 mL de agua destilada.
5. Agitar y leer la absorbancia a 550nm.

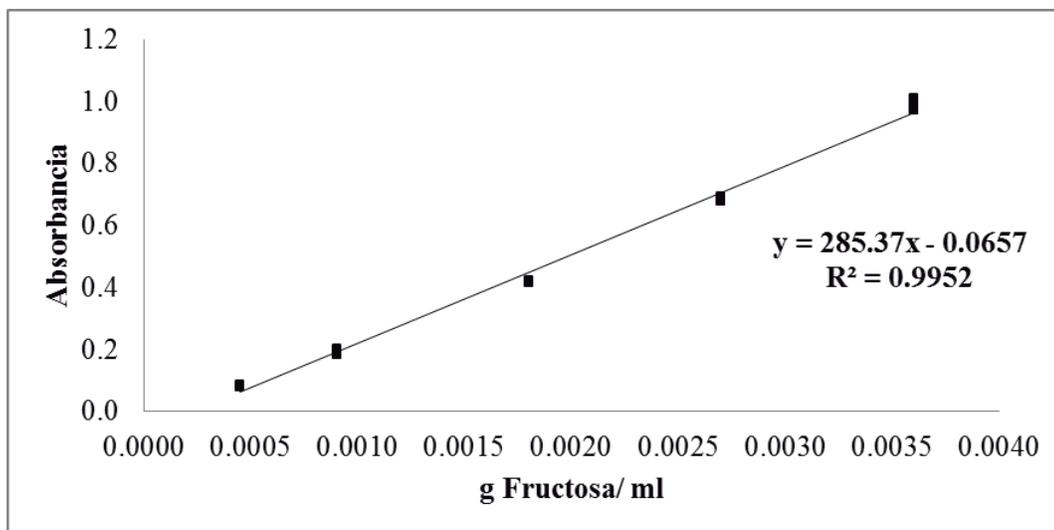


Figura 5. A. Curva estándar de azúcares reductores

ANEXO 6-A: Determinación de fructooligosacáridos por HPLC

Preparación de reactivos

- **Buffer acetato (pH=4.5):** Pesar 4.102 g de acetato sódico. Se procede a enrasar a 50 ml en fiola con agua destilada. Tomar 20 ml de esta solución y enrasar con ácido acético 1M a 50 ml hasta llegar a pH= 4.5.
- **Solución de enzima inulinasa activas e inactiva:** 0.5 ml de enzima inulinasa (Sigma) se diluye en 9.5 ml de buffer acetato. De estos 10 ml de solución enzimática, se toman 5 ml y se lleva a ebullición por 5 minutos; esta solución se considera la solución enzimática inactiva. Los otros 5 ml, se considera solución enzimática activa.

Procedimiento de hidrólisis

1. El extracto proveniente de la muestra preparada, debe ser usado diluido o tal cual para poder realizar la hidrólisis. Por cada muestra debe realizarse dos extractos que se mencionan a continuación:
 - *Extracto hidrolizado:* 2.8 ml de Extracto (concentrado o diluido) más 0.2 ml de solución de enzima activa
 - *Extracto no hidrolizado:* 2.8 ml de Extracto (concentrado o diluido) más 0.2 ml solución de enzima inactiva
2. Incubar a 60°C por 3 horas (sin agitación)
3. Filtrar en el vial y correr en HPLC.

ANEXO 1-B: Densidad aparente y real de variedades de manzana

Variedad	Repetición	Densidad aparente	Densidad real
Caña	1	0.8757	1.0368
	2	0.8727	1.0481
	3	0.8787	1.0420
Delicia	1	0.7959	1.0622
	2	0.7931	1.0487
	3	0.7945	1.0554
Israel	1	0.7951	0.8496
	2	0.8036	0.8583
	3	0.8122	0.8673

ANEXO 2-B: Contenido de fructosa, glucosa, sacarosa, FOS y azúcares reductores de los extractos clarificados de yacón tratados a diferentes concentraciones de fosfato tricálcico

Concentración de fosfato tricálcico (ppm)	Repetición	Fructosa (%)	Glucosa (%)	Sacarosa (%)	FOS (%)	Azúcares Reductores (%)
0	1	2.99	0.99	1.18	5.90	5.61
	2	2.94	1.33	1.13	5.16	5.61
	3	2.96	1.16	1.16	5.53	5.62
2.5	1	2.89	0.95	1.16	5.90	5.57
	2	3.02	1.02	1.18	5.99	5.55
	3	2.96	0.99	1.17	5.94	5.56
5	1	3.05	1.03	1.20	6.07	5.84
	2	3.01	0.97	1.18	6.04	6.08
	3	3.03	1.00	1.19	6.06	5.96
10	1	2.73	1.10	1.19	5.90	4.27
	2	3.02	1.48	1.37	5.85	4.22
	3	3.30	1.86	1.55	5.79	5.00
40	1	3.11	1.22	1.33	6.35	4.98
	2	3.71	1.56	1.61	5.83	5.56
	3	3.71	1.55	1.62	6.87	5.16
70	1	2.84	1.13	1.24	6.11	5.04
	2	3.14	1.35	1.44	6.05	4.65
	3	3.45	1.58	1.64	5.98	5.11
100	1	3.21	1.50	1.58	5.51	5.40
	2	3.19	1.49	1.53	5.48	5.09
	3	3.17	1.49	1.49	5.45	5.40

ANEXO 3-B: Influencia de la concentración de fosfato tricálcico en el rendimiento de FOS y variación del color en el extracto clarificado de yacón

Concentración de fosfato tricálcico (ppm)	Repetición	Rendimiento de FOS (%)	Variación del color (ΔE)
0	1	97.84	4.92
	2	85.59	3.88
	3	91.71	4.40
2.5	1	97.86	3.37
	2	99.29	2.69
	3	98.57	3.03
5	1	100.72	5.76
	2	100.19	5.85
	3	100.45	5.81
10	1	97.86	8.31
	2	96.97	8.46
	3	96.08	7.93
40	1	105.34	5.44
	2	96.72	4.94
	3	113.96	5.66
70	1	101.39	6.61
	2	100.30	5.76
	3	99.22	6.63
100	1	91.45	5.81
	2	90.91	5.93
	3	108.45	5.88

ANEXO 4-B: Influencia de la temperatura y concentración del extracto clarificado en el contenido de FOS y variación de color de los *snacks* impregnados

Temperatura de impregnación (°C)	Concentración de extracto (°Brix)	Repetición	Fructosa (%)	Glucosa (%)	Sacarosa (%)	FOS (%)	ΔL	Δa	Δb	ΔE
25	20	1	31.87	15.87	7.12	20.35	27.44	2.28	9.63	29.17
		2	31.44	15.59	7.15	19.70	28.18	5.16	11.67	24.92
		3	31.29	15.47	7.20	18.22	27.81	3.72	10.65	30.01
	28	1	25.96	12.74	6.27	24.49	21.13	1.20	10.46	23.76
		2	25.43	12.52	6.09	25.54	22.20	0.44	4.58	22.69
		3	26.65	12.71	6.33	24.41	22.09	1.60	6.65	23.14
	36	1	22.79	11.65	6.32	27.41	24.82	1.54	11.28	27.31
		2	24.90	11.67	6.15	25.68	25.19	0.81	4.09	25.53
		3	25.44	11.86	6.23	24.30	25.01	1.17	7.69	26.19
35	20	1	26.87	14.23	6.13	21.07	18.82	0.99	3.70	19.20
		2	24.57	14.23	6.00	22.40	17.46	2.92	2.31	23.77
		3	24.47	14.26	6.04	23.08	20.17	0.93	5.09	20.82
	28	1	22.53	12.31	5.64	30.60	20.58	0.27	6.84	21.68
		2	22.29	12.18	5.50	31.20	22.57	0.37	9.20	24.37
		3	22.89	12.55	5.77	29.48	18.59	0.18	4.48	19.12
	36	1	24.17	13.55	5.78	22.49	27.08	2.81	9.20	28.73
		2	25.16	14.14	6.04	23.70	25.77	2.44	8.29	27.17
		3	24.55	13.56	5.76	24.42	26.42	2.62	8.74	27.95

ANEXO 5-B: Influencia del tiempo de almacenamiento en la humedad de los *snacks* impregnados

Tiempo de almacenamiento	Repetición	Humedad (%)
Inicial	1	0.24
	2	0.23
	3	0.24
1° semana	1	0.24
	2	0.27
	3	0.25
2° semana	1	0.30
	2	0.27
	3	0.30
3° semana	1	0.28
	2	0.27
	3	0.29
4° semana	1	0.28
	2	0.28
	3	0.32
5° semana	1	0.31
	2	0.27
	3	0.31
6° semana	1	0.32
	2	0.33
	3	0.30

ANEXO 6-B: Influencia del tiempo de almacenamiento en la actividad de agua de los *snacks* impregnados

Tiempo de almacenamiento	Repetición	Aw
Inicial	1	0.422
	2	0.398
	3	0.396
1° semana	1	0.431
	2	0.452
	3	0.438
2° semana	1	0.427
	2	0.45
	3	0.458
3° semana	1	0.445
	2	0.439
	3	0.447
4° semana	1	0.431
	2	0.457
	3	0.461
5° semana	1	0.439
	2	0.451
	3	0.437
6° semana	1	0.450
	2	0.433
	3	0.437

ANEXO 7-B: Influencia del tiempo de almacenamiento en la variación del color de los *snacks* impregnados

Tiempo de almacenamiento	Repetición	ΔL	Δa	Δb	ΔE
Inicial	1	-15.38	5.47	11.29	19.85
	2	-18.36	3.26	7.73	20.19
	3	-19.15	5.38	11.22	22.84
1° semana	1	-23.99	2.93	5.01	24.71
	2	-25.95	5.73	4.82	27.01
	3	-23.66	6.12	6.54	26.13
2° semana	1	-27.14	4.00	6.11	27.09
	2	-28.18	4.44	6.32	29.95
	3	-28.31	7.39	7.66	30.30
3° semana	1	-26.55	6.31	5.47	27.84
	2	-21.07	4.96	5.97	22.19
	3	-22.01	3.24	4.88	22.97
4° semana	1	-23.85	5.44	5.21	25.11
	2	-24.49	6.11	5.65	26.00
	3	-25.11	5.06	6.82	26.93
5° semana	1	-27.72	9.65	3.75	29.60
	2	-25.66	7.02	7.75	27.71
	3	-28.20	8.91	7.45	30.50
6° semana	1	-29.21	5.16	6.04	23.32
	2	-27.23	5.18	7.53	28.37
	3	-20.94	7.56	8.86	31.10

ANEXO 8-B: Influencia del tiempo de almacenamiento en la textura de los *snacks* impregnados

Tiempo de almacenamiento	Repetición	Textura (kgf)
Inicial	1	4.50
	2	3.60
	3	3.13
1° semana	1	4.20
	2	3.90
	3	3.00
2° semana	1	3.55
	2	4.50
	3	4.00
3° semana	1	4.30
	2	6.10
	3	5.50
4° semana	1	5.00
	2	6.10
	3	5.20
5° semana	1	5.60
	2	5.70
	3	6.30
6° semana	1	6.00
	2	6.50
	3	5.90

ANEXO 9-B: Influencia del tiempo de almacenamiento en el pH de los *snacks* impregnados

Tiempo de almacenamiento	Repetición	pH
Inicial	1	4.71
	2	4.75
	3	4.73
1° semana	1	4.85
	2	4.84
	3	4.82
2° semana	1	4.63
	2	4.65
	3	4.75
3° semana	1	4.96
	2	4.94
	3	5.03
4° semana	1	4.85
	2	4.82
	3	4.80
5° semana	1	4.73
	2	4.71
	3	4.67
6° semana	1	4.82
	2	4.77
	3	4.79

ANEXO 10-B: Influencia del tiempo de almacenamiento en la acidez titulable de los *snacks* impregnados

Tiempo de almacenamiento	Repetición	Acidez titulable (%)
Inicial	1	3.262
	2	3.086
	3	3.350
1° semana	1	2.680
	2	2.781
	3	2.948
2° semana	1	2.814
	2	2.580
	3	2.647
3° semana	1	2.546
	2	2.546
	3	2.613
4° semana	1	2.412
	2	2.446
	3	2.446
5° semana	1	2.446
	2	2.479
	3	2.379
6° semana	1	2.479
	2	2.345
	3	2.479

ANEXO 11-B: Influencia del tiempo de almacenamiento en el contenido de FOS de los *snacks* impregnados

Tiempo de almacenamiento	Repetición	Fructosa (%)	Glucosa (%)	Sacarosa (%)	FOS (%)
Inicial	1	38.18	15.18	13.63	28.33
	2	37.60	14.17	13.14	29.86
	3	37.91	14.16	13.32	28.91
1° semana	1	36.83	14.79	10.49	31.42
	2	36.62	14.60	10.54	29.95
	3	37.81	15.60	10.92	30.35
2° semana	1	36.25	13.00	10.72	29.92
	2	32.12	11.00	11.12	26.41
	3	35.36	12.53	10.83	27.63
3° semana	1	35.60	13.48	10.09	31.63
	2	34.20	12.84	9.40	32.45
	3	34.53	12.91	9.71	31.35
4° semana	1	37.12	13.70	11.46	28.14
	2	36.70	14.84	10.81	29.52
	3	38.06	14.43	10.95	30.65
5° semana	1	36.79	13.28	11.04	29.86
	2	36.84	13.21	11.72	27.97
	3	36.97	13.28	12.34	27.02
6° semana	1	36.88	14.16	10.79	27.01
	2	36.33	13.90	10.66	27.67
	3	36.61	13.91	10.73	26.31

ANEXO 1-C: Análisis estadístico – Influencia de la variedad en la porosidad de las manzanas

ANOVA Table for Porosidad by Variedad

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	504.918	2	252.459	1381.15	0.0000
Within groups	1.09674	6	0.182789		
Total (Corr.)	506.015	8			

Multiple Range Tests for Porosidad by Variedad

Method: 95.0 percent LSD

Variedad	Count	Mean	Homogeneous Groups
Israel	3	6.38083	X
Caña	3	15.9821	X
Delicia	3	24.7211	X

Contrast	Difference	+/- Limits
Caña - Delicia	*-8.73893	0.85418
Caña - Israel	*9.6013	0.85418
Delicia - Israel	*18.3402	0.85418

* denotes a statistically significant difference.

ANEXO 2-C: Análisis estadístico - Influencia de la concentración de fosfato tricálcico en el contenido de fructosa del extracto clarificado de yacón

ANOVA Table for Fructosa by Concentracion fosfato tricalcico

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	0.682248	6	0.113708	2.65	0.0621
Within groups	0.599867	14	0.0428476		
Total (Corr.)	1.28211	20			

Multiple Range Tests for Fructosa by Concentracion fosfato tricalcico

```

-----
Method: 95.0 percent LSD
Level          Count      Mean          Homogeneous Groups
-----
2.5            3          2.95667      X
0              3          2.96333      X
10             3          3.01667      X
5              3          3.03         X
70             3          3.14333      X
100            3          3.19         XX
40             3          3.51         X
-----

Contrast          Difference          +/- Limits
-----
0 - 10            -0.0533333        0.362496
0 - 100           -0.2266667        0.362496
0 - 2.5           0.006666667       0.362496
0 - 40            *-0.5466667       0.362496
0 - 5             -0.0666667       0.362496
0 - 70            -0.18             0.362496
10 - 100          -0.1733333       0.362496
10 - 2.5          0.06              0.362496
10 - 40           *-0.4933333       0.362496
10 - 5            -0.01333333      0.362496
10 - 70           -0.1266667       0.362496
100 - 2.5         0.2333333        0.362496
100 - 40          -0.32             0.362496
100 - 5           0.16              0.362496
100 - 70          0.0466667        0.362496
2.5 - 40          *-0.5533333       0.362496
2.5 - 5           -0.07333333      0.362496
2.5 - 70          -0.1866667       0.362496
40 - 5            *0.48             0.362496
40 - 70           *0.3666667       0.362496
5 - 70            -0.1133333       0.362496
-----

```

* denotes a statistically significant difference.

ANEXO 3-C: Análisis estadístico – Influencia de la concentración de fosfato tricálcico en el contenido de glucosa del extracto clarificado de yacón

ANOVA Table for Glucosa by Concentracion fosfato tricalcico

```

-----
Analysis of Variance
-----
Source          Sum of Squares      Df  Mean Square      F-Ratio      P-Value
-----
Between groups      0.888429           6   0.148071         3.93         0.0163
Within groups       0.527067           14  0.0376476
-----
Total (Corr.)      1.4155             20
-----

```

Multiple Range Tests for Glucosa by Concentracion fosfato tricalcico

Method: 95.0 percent LSD

Level	Count	Mean	Homogeneous Groups
2.5	3	0.986667	X
5	3	1.0	X
0	3	1.16	XX
70	3	1.35333	X
40	3	1.44333	X
10	3	1.48	X
100	3	1.49333	X

Contrast	Difference	+/- Limits
0 - 10	-0.32	0.339788
0 - 100	-0.333333	0.339788
0 - 2.5	0.173333	0.339788
0 - 40	-0.283333	0.339788
0 - 5	0.16	0.339788
0 - 70	-0.193333	0.339788
10 - 100	-0.0133333	0.339788
10 - 2.5	*0.493333	0.339788
10 - 40	0.0366667	0.339788
10 - 5	*0.48	0.339788
10 - 70	0.126667	0.339788
100 - 2.5	*0.506667	0.339788
100 - 40	0.05	0.339788
100 - 5	*0.493333	0.339788
100 - 70	0.14	0.339788
2.5 - 40	*-0.456667	0.339788
2.5 - 5	-0.0133333	0.339788
2.5 - 70	*-0.366667	0.339788
40 - 5	*0.443333	0.339788
40 - 70	0.09	0.339788
5 - 70	*-0.353333	0.339788

* denotes a statistically significant difference.

ANEXO 4-C: Análisis estadístico – Influencia de la concentración de fosfato tricálcico en el contenido de sacarosa del extracto clarificado de yacón

ANOVA Table for Sacarosa by Concentracion fosfato tricalcico

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	0.497067	6	0.0828444	5.67	0.0036
Within groups	0.204733	14	0.0146238		
Total (Corr.)	0.7018	20			

Multiple Range Tests for Sacarosa by Concentracion fosfato tricalcico

Method: 95.0 percent LSD

Level	Count	Mean	Homogeneous Groups
0	3	1.15667	X
2.5	3	1.17	XX
5	3	1.19	XX
10	3	1.37	XX
70	3	1.44	X
40	3	1.52	X
100	3	1.53333	X

Contrast	Difference	+/- Limits
0 - 2.5	-0.0133333	0.211773
0 - 5	-0.0333333	0.211773
0 - 10	*-0.213333	0.211773
0 - 40	*-0.363333	0.211773
0 - 70	*-0.283333	0.211773
0 - 100	*-0.376667	0.211773
2.5 - 5	-0.02	0.211773
2.5 - 10	-0.2	0.211773
2.5 - 40	*-0.35	0.211773
2.5 - 70	*-0.27	0.211773
2.5 - 100	*-0.363333	0.211773
5 - 10	-0.18	0.211773
5 - 40	*-0.33	0.211773
5 - 70	*-0.25	0.211773
5 - 100	*-0.343333	0.211773
10 - 40	-0.15	0.211773
10 - 70	-0.07	0.211773
10 - 100	-0.163333	0.211773
40 - 70	0.08	0.211773
40 - 100	-0.0133333	0.211773
70 - 100	-0.0933333	0.211773

* denotes a statistically significant difference.

ANEXO 5-C: Análisis estadístico – Influencia de la concentración de fosfato tricálcico en el contenido de azúcares reductores del extracto clarificado de yacón

ANOVA Table for AR by Concentracion fosfato tricalcico

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	4.15685	6	0.692808	12.54	0.0001
Within groups	0.773533	14	0.0552524		
Total (Corr.)	4.93038	20			

Multiple Range Tests for AR by Concentracion fosfato tricalcico

```

-----
Method: 95.0 percent LSD
Level          Count      Mean          Homogeneous Groups
-----
10             3          4.49667      X
70             3          4.93333      X
40             3          5.23333      XX
100            3          5.29667      XX
2.5            3          5.56         XX
0              3          5.61333      XX
5              3          5.96         X
-----
Contrast              Difference      +/- Limits
-----
0 - 10                *1.11667      0.411637
0 - 100               0.316667     0.411637
0 - 2.5               0.0533333    0.411637
0 - 40                0.38         0.411637
0 - 5                 -0.346667    0.411637
0 - 70                *0.68        0.411637
10 - 100              *-0.8        0.411637
10 - 2.5              *-1.06333    0.411637
10 - 40               *-0.736667   0.411637
10 - 5                *-1.46333    0.411637
10 - 70               *-0.436667   0.411637
100 - 2.5             -0.263333    0.411637
100 - 40              0.0633333    0.411637
100 - 5               *-0.663333   0.411637
100 - 70              0.363333     0.411637
2.5 - 40              0.326667     0.411637
2.5 - 5               -0.4         0.411637
2.5 - 70              *0.626667    0.411637
40 - 5                *-0.726667   0.411637
40 - 70               0.3          0.411637
5 - 70                *1.02667     0.411637
-----

```

* denotes a statistically significant difference.

ANEXO 6-C: Análisis estadístico – Influencia de la concentración de fosfato tricálcico en el contenido de FOS del extracto clarificado de yacón

ANOVA Table for FOS by Concentracion fosfato tricalcico

```

Analysis of Variance
-----
Source          Sum of Squares    Df    Mean Square    F-Ratio    P-Value
-----
Between groups      1.6988           6     0.283133       4.74       0.0077
Within groups       0.835467         14    0.0596762
-----
Total (Corr.)      2.53427          20

```

Multiple Range Tests for FOS by Concentracion fosfato tricalcico

```

-----
Method: 95.0 percent LSD
Level          Count      Mean          Homogeneous Groups
-----
100            3          5.48          X
0              3          5.53          XX
10             3          5.84667      XXX
2.5           3          5.94333      XXX
70            3          6.04667      XX
5             3          6.05667      XX
40            3          6.35          X
-----
Contrast              Difference          +/- Limits
-----
0 - 2.5              -0.413333          0.427799
0 - 5                *-0.526667          0.427799
0 - 10              -0.316667          0.427799
0 - 40              *-0.82             0.427799
0 - 70              *-0.516667          0.427799
0 - 100             0.05              0.427799
2.5 - 5            -0.113333          0.427799
2.5 - 10           0.0966667          0.427799
2.5 - 40           -0.406667          0.427799
2.5 - 70           -0.103333          0.427799
2.5 - 100          *0.463333          0.427799
5 - 10             0.21              0.427799
5 - 40            -0.293333          0.427799
5 - 70             0.01              0.427799
5 - 100           *0.576667          0.427799
10 - 40            *-0.503333          0.427799
10 - 70            -0.2              0.427799
10 - 100           0.366667          0.427799
40 - 70            0.303333          0.427799
40 - 100           *0.87             0.427799
70 - 100           *0.566667          0.427799
-----

```

* denotes a statistically significant difference.

ANEXO 7-C: Análisis estadístico – Influencia de la concentración de fosfato tricálcico en el rendimiento de FOS y la variación del color en el extracto clarificado de yacón

ANOVA Table for Rendimiento FOS by Concentracion fosfato tricalcico

```

-----
Analysis of Variance
-----
Source          Sum of Squares      Df  Mean Square      F-Ratio      P-Value
-----
Between groups      313.839            6   52.3065          1.71          0.1907
Within groups       427.723           14   30.5516
-----
Total (Corr.)       741.562           20
-----

```

Multiple Range Tests for Rendimiento FOS by Concentracion fosfato tricalcico

Method: 95.0 percent LSD

Level	Count	Mean	Homogeneous Groups
0	3	91.7133	X
100	3	96.9367	XX
10	3	96.97	XX
2.5	3	98.5733	XX
70	3	100.303	XX
5	3	100.453	XX
40	3	105.34	X

Contrast	Difference	+/- Limits
0 - 2.5	-6.86	9.67958
0 - 5	-8.74	9.67958
0 - 10	-5.25667	9.67958
0 - 40	*-13.6267	9.67958
0 - 70	-8.59	9.67958
0 - 100	-5.22333	9.67958
2.5 - 5	-1.88	9.67958
2.5 - 10	1.60333	9.67958
2.5 - 40	-6.76667	9.67958
2.5 - 70	-1.73	9.67958
2.5 - 100	1.63667	9.67958
5 - 10	3.48333	9.67958
5 - 40	-4.88667	9.67958
5 - 70	0.15	9.67958
5 - 100	3.51667	9.67958
10 - 40	-8.37	9.67958
10 - 70	-3.33333	9.67958
10 - 100	0.0333333	9.67958
40 - 70	5.03667	9.67958
40 - 100	8.40333	9.67958
70 - 100	3.36667	9.67958

* denotes a statistically significant difference.

ANOVA Table for Variacion de color by Concentracion fosfato tricalcico

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	47.0828	6	7.84713	64.69	0.0000
Within groups	1.69813	14	0.121295		
Total (Corr.)	48.7809	20			

Multiple Range Tests for Variacion de color by Concentracion fosfato tricalcico

Method: 95.0 percent LSD

Level	Count	Mean	Homogeneous Groups
2.5	3	3.03	X
0	3	4.4	X
40	3	5.34667	X
5	3	5.80667	XX
100	3	5.87333	XX
70	3	6.33333	X
10	3	8.23333	X

Contrast	Difference	+/- Limits
0 - 2.5	*1.37	0.609904
0 - 5	*-1.40667	0.609904
0 - 10	*-3.83333	0.609904
0 - 40	*-0.946667	0.609904
0 - 70	*-1.93333	0.609904
0 - 100	*-1.47333	0.609904
2.5 - 5	*-2.77667	0.609904
2.5 - 10	*-5.20333	0.609904
2.5 - 40	*-2.31667	0.609904
2.5 - 70	*-3.30333	0.609904
2.5 - 100	*-2.84333	0.609904
5 - 10	*-2.42667	0.609904
5 - 40	0.46	0.609904
5 - 70	-0.526667	0.609904
5 - 100	-0.0666667	0.609904
10 - 40	*2.88667	0.609904
10 - 70	*1.9	0.609904
10 - 100	*2.36	0.609904
40 - 70	*-0.986667	0.609904
40 - 100	-0.526667	0.609904
70 - 100	0.46	0.609904

* denotes a statistically significant difference.

ANEXO 8-C: Análisis estadístico – Influencia de la concentración de extracto de yacón y temperatura de impregnación en el contenido de FOS y la variación del color del snack impregnado

Analysis of Variance for FOS - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A: Temperatura	18.6864	1	18.6864	16.55	0.0016
B: Concentracion	140.229	2	70.1145	62.08	0.0000
INTERACTIONS					
AB	47.6656	2	23.8328	21.10	0.0001
RESIDUAL	13.5522	12	1.12935		
TOTAL (CORRECTED)	220.133	17			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Analysis of Variance for Variacion del color - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Temperatura	22.0227	1	22.0227	6.17	0.0287
B:Concentracion	65.9906	2	32.9953	9.25	0.0037
INTERACTIONS					
AB	53.8548	2	26.9274	7.54	0.0076
RESIDUAL	42.8269	12	3.56891		
TOTAL (CORRECTED)	184.695	17			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Multiple Range Tests for Variacion del color by Temperatura

Method: 95.0 percent LSD

Temperatura	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
35	9	23.6456	X
25	9	25.8578	X

Contrast	Difference	+/- Limits
25 - 35	*2.21222	1.94036

* denotes a statistically significant difference.

Multiple Range Tests for FOS by Temperatura

Method: 95.0 percent LSD

Temperatura	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
25	9	23.3444	X
35	9	25.3822	X

Contrast	Difference	+/- Limits
25 - 35	*-2.03778	1.09151

* denotes a statistically significant difference.

ANEXO 9-C: Análisis estadístico - Influencia del tiempo de almacenamiento en la humedad de los *snacks* impregnados

ANOVA Table for Humedad by Tiempo de almacenamiento

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	0.0134476	6	0.00224127	7.98	0.0007
Within groups	0.00393333	14	0.000280952		
Total (Corr.)	0.017381	20			

Multiple Range Tests for Humedad by Tiempo de almacenamiento

```

-----
Method: 95.0 percent LSD
Level          Count      Mean          Homogeneous Groups
-----
Inicial        3          0.236667      X
1 semana      3          0.253333      XX
3 semana      3          0.28          XX
2 semana      3          0.29          XX
4 semana      3          0.293333      XX
5 semana      3          0.296667      XX
6 semana      3          0.316667      X
-----

```

```

-----
Contrast          Difference      +/- Limits
-----
1 semana - 2 semana      *-0.0366667      0.0293532
1 semana - 3 semana      -0.0266667      0.0293532
1 semana - 4 semana      *-0.04          0.0293532
1 semana - 5 semana      *-0.0433333      0.0293532
1 semana - 6 semana      *-0.0633333      0.0293532
1 semana - Inicial        0.0166667      0.0293532
2 semana - 3 semana      0.01          0.0293532
2 semana - 4 semana      -0.00333333      0.0293532
2 semana - 5 semana      -0.00666667      0.0293532
2 semana - 6 semana      -0.0266667      0.0293532
2 semana - Inicial        *0.0533333      0.0293532
3 semana - 4 semana      -0.0133333      0.0293532
3 semana - 5 semana      -0.0166667      0.0293532
3 semana - 6 semana      *-0.0366667      0.0293532
3 semana - Inicial        *0.0433333      0.0293532
4 semana - 5 semana      -0.00333333      0.0293532
4 semana - 6 semana      -0.0233333      0.0293532
4 semana - Inicial        *0.0566667      0.0293532
5 semana - 6 semana      -0.02          0.0293532
5 semana - Inicial        *0.06          0.0293532
6 semana - Inicial        *0.08          0.0293532
-----

```

* denotes a statistically significant difference.

ANEXO 10-C: Análisis estadístico - Influencia del tiempo de almacenamiento en la actividad de agua de los *snacks* impregnados

ANOVA Table for Aw by Tiempo de almacenamiento

```

-----
Analysis of Variance
-----
Source          Sum of Squares      Df      Mean Square      F-Ratio      P-Value
-----
Between groups      0.00393762          6      0.00065627      4.59          0.0089
Within groups      0.00200333          14     0.000143095
-----
Total (Corr.)      0.00594095          20
-----

```

Multiple Range Tests for Aw by Tiempo de almacenamiento

Method: 95.0 percent LSD

Level	Count	Mean	Homogeneous Groups
Inicial	3	0.405333	X
6 semana	3	0.44	X
1 semana	3	0.440333	X
5 semana	3	0.442333	X
3 semana	3	0.443667	X
2 semana	3	0.445	X
4 semana	3	0.449667	X

Contrast	Difference	+/- Limits
1 semana - 2 semana	-0.00466667	0.0209485
1 semana - 3 semana	-0.00333333	0.0209485
1 semana - 4 semana	-0.00933333	0.0209485
1 semana - 5 semana	-0.002	0.0209485
1 semana - 6 semana	0.000333333	0.0209485
1 semana - Inicial	*0.035	0.0209485
2 semana - 3 semana	0.00133333	0.0209485
2 semana - 4 semana	-0.00466667	0.0209485
2 semana - 5 semana	0.00266667	0.0209485
2 semana - 6 semana	0.005	0.0209485
2 semana - Inicial	*0.0396667	0.0209485
3 semana - 4 semana	-0.006	0.0209485
3 semana - 5 semana	0.00133333	0.0209485
3 semana - 6 semana	0.00366667	0.0209485
3 semana - Inicial	*0.0383333	0.0209485
4 semana - 5 semana	0.00733333	0.0209485
4 semana - 6 semana	0.00966667	0.0209485
4 semana - Inicial	*0.0443333	0.0209485
5 semana - 6 semana	0.00233333	0.0209485
5 semana - Inicial	*0.037	0.0209485
6 semana - Inicial	*0.0346667	0.0209485

* denotes a statistically significant difference.

ANEXO 11-C: Análisis estadístico - Influencia del tiempo de almacenamiento en la variación del color de los *snacks* impregnados

ANOVA Table for Variacion de color by Tiempo de almacenamiento

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	152.696	6	25.4493	5.10	0.0057
Within groups	69.8775	14	4.99125		
Total (Corr.)	222.573	20			

Multiple Range Tests for Variacion de color by Tiempo de almacenamiento

Method: 95.0 percent LSD

Level	Count	Mean	Homogeneous Groups
Inicial	3	20.96	X
3 semana	3	24.3333	XX
1 semana	3	25.95	XX
4 semana	3	26.0133	XX
6 semana	3	27.5967	XX
2 semana	3	29.1133	X
5 semana	3	29.27	X

Contrast	Difference	+/- Limits
1 semana - 2 semana	-3.16333	3.91241
1 semana - 3 semana	1.61667	3.91241
1 semana - 4 semana	-0.0633333	3.91241
1 semana - 5 semana	-3.32	3.91241
1 semana - 6 semana	-1.64667	3.91241
1 semana - Inicial	*4.99	3.91241
2 semana - 3 semana	*4.78	3.91241
2 semana - 4 semana	3.1	3.91241
2 semana - 5 semana	-0.156667	3.91241
2 semana - 6 semana	1.51667	3.91241
2 semana - Inicial	*8.15333	3.91241
3 semana - 4 semana	-1.68	3.91241
3 semana - 5 semana	*-4.93667	3.91241
3 semana - 6 semana	-3.26333	3.91241
3 semana - Inicial	3.37333	3.91241
4 semana - 5 semana	-3.25667	3.91241
4 semana - 6 semana	-1.58333	3.91241
4 semana - Inicial	*5.05333	3.91241
5 semana - 6 semana	1.67333	3.91241
5 semana - Inicial	*8.31	3.91241
6 semana - Inicial	*6.63667	3.91241

* denotes a statistically significant difference.

ANEXO 12-C: Análisis estadístico - Influencia del tiempo de almacenamiento en la textura de los *snacks* impregnados

ANOVA Table for Textura by Tiempo de almacenamiento

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	19.3696	6	3.22827	8.93	0.0004
Within groups	5.06093	14	0.361495		
Total (Corr.)	24.4305	20			

Multiple Range Tests for Textura by Tiempo de almacenamiento

Method: 95.0 percent LSD

Level	Count	Mean	Homogeneous Groups
1 semana	3	3.7	X
Inicial	3	3.74333	X
2 semana	3	4.01667	X
3 semana	3	5.3	X
4 semana	3	5.43333	X
5 semana	3	5.86667	X
6 semana	3	6.13333	X

Contrast	Difference	+/- Limits
1 semana - 2 semana	-0.316667	1.05291
1 semana - 3 semana	*-1.6	1.05291
1 semana - 4 semana	*-1.73333	1.05291
1 semana - 5 semana	*-2.16667	1.05291
1 semana - 6 semana	*-2.43333	1.05291
1 semana - Inicial	-0.0433333	1.05291
2 semana - 3 semana	*-1.28333	1.05291
2 semana - 4 semana	*-1.41667	1.05291
2 semana - 5 semana	*-1.85	1.05291
2 semana - 6 semana	*-2.11667	1.05291
2 semana - Inicial	0.273333	1.05291
3 semana - 4 semana	-0.133333	1.05291
3 semana - 5 semana	-0.566667	1.05291
3 semana - 6 semana	-0.833333	1.05291
3 semana - Inicial	*1.55667	1.05291
4 semana - 5 semana	-0.433333	1.05291
4 semana - 6 semana	-0.7	1.05291
4 semana - Inicial	*1.69	1.05291
5 semana - 6 semana	-0.266667	1.05291
5 semana - Inicial	*2.12333	1.05291
6 semana - Inicial	*2.39	1.05291

* denotes a statistically significant difference.

ANEXO 13-C: Análisis estadístico - Influencia del tiempo de almacenamiento en el pH de los *snacks* impregnados

ANOVA Table for pH by Tiempo de almacenamiento

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	0.186257	6	0.0310429	23.62	0.0000
Within groups	0.0184	14	0.00131429		
Total (Corr.)	0.204657	20			

Multiple Range Tests for pH by Tiempo de almacenamiento

```

-----
Method: 95.0 percent LSD
Level          Count      Mean          Homogeneous Groups
-----
2 semana      3          4.67667      X
5 semana      3          4.70333      X
Inicial       3          4.73         XX
6 semana      3          4.79333      XX
4 semana      3          4.82333      X
1 semana      3          4.83667      X
3 semana      3          4.97667      X
-----
Contrast              Difference      +/- Limits
-----
1 semana - 2 semana      *0.16          0.0634869
1 semana - 3 semana      *-0.14         0.0634869
1 semana - 4 semana      0.0133333     0.0634869
1 semana - 5 semana      *0.133333     0.0634869
1 semana - 6 semana      0.0433333     0.0634869
1 semana - Inicial       *0.106667     0.0634869
2 semana - 3 semana      *-0.3          0.0634869
2 semana - 4 semana      *-0.146667    0.0634869
2 semana - 5 semana      -0.0266667    0.0634869
2 semana - 6 semana      *-0.116667    0.0634869
2 semana - Inicial       -0.0533333    0.0634869
3 semana - 4 semana      *0.153333     0.0634869
3 semana - 5 semana      *0.273333     0.0634869
3 semana - 6 semana      *0.183333     0.0634869
3 semana - Inicial       *0.246667     0.0634869
4 semana - 5 semana      *0.12          0.0634869
4 semana - 6 semana      0.03          0.0634869
4 semana - Inicial       *0.0933333    0.0634869
5 semana - 6 semana      *-0.09         0.0634869
5 semana - Inicial       -0.0266667    0.0634869
6 semana - Inicial       0.0633333     0.0634869
-----

```

* denotes a statistically significant difference.

ANEXO 14-C: Análisis estadístico - Influencia del tiempo de almacenamiento en la acidez de los *snacks* impregnados

ANOVA Table for Acidez titulable by Tiempo de almacenamiento

```

Analysis of Variance
-----
Source          Sum of Squares      Df      Mean Square      F-Ratio      P-Value
-----
Between groups      1.52863            6        0.254771          29.06         0.0000
Within groups       0.122748           14        0.00876771
-----
Total (Corr.)      1.65137            20
-----

```

Multiple Range Tests for Acidez titulable by Tiempo de almacenamiento

Method: 95.0 percent LSD

Level	Count	Mean	Homogeneous Groups
6 semana	3	2.43433	X
5 semana	3	2.43467	X
4 semana	3	2.43467	X
3 semana	3	2.56833	XX
2 semana	3	2.68033	XX
1 semana	3	2.803	X
Inicial	3	3.23267	X

Contrast	Difference	+/- Limits
1 semana - 2 semana	0.122667	0.163977
1 semana - 3 semana	*0.234667	0.163977
1 semana - 4 semana	*0.368333	0.163977
1 semana - 5 semana	*0.368333	0.163977
1 semana - 6 semana	*0.368667	0.163977
1 semana - Inicial	*-0.429667	0.163977
2 semana - 3 semana	0.112	0.163977
2 semana - 4 semana	*0.245667	0.163977
2 semana - 5 semana	*0.245667	0.163977
2 semana - 6 semana	*0.246	0.163977
2 semana - Inicial	*-0.552333	0.163977
3 semana - 4 semana	0.133667	0.163977
3 semana - 5 semana	0.133667	0.163977
3 semana - 6 semana	0.134	0.163977
3 semana - Inicial	*-0.664333	0.163977
4 semana - 5 semana	0.0	0.163977
4 semana - 6 semana	0.000333333	0.163977
4 semana - Inicial	*-0.798	0.163977
5 semana - 6 semana	0.000333333	0.163977
5 semana - Inicial	*-0.798	0.163977
6 semana - Inicial	*-0.798333	0.163977

* denotes a statistically significant difference.

ANEXO 15-C: Análisis estadístico - Influencia del tiempo de almacenamiento en el contenido de FOS de los *snacks* impregnados

ANOVA Table for FOS by Tiempo de almacenamiento

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	47.8136	6	7.96893	6.33	0.0022
Within groups	17.6186	14	1.25847		
Total (Corr.)	65.4322	20			

Multiple Range Tests for FOS by Tiempo de almacenamiento

 Method: 95.0 percent LSD

Level	Count	Mean	Homogeneous Groups
6 semana	3	26.9967	X
2 semana	3	27.9867	XX
5 semana	3	28.2833	XX
Inicial	3	29.0333	XX
4 semana	3	29.4367	XX
1 semana	3	30.5733	XX
3 semana	3	31.81	X

Contrast	Difference	+/- Limits
1 semana - 2 semana	*2.58667	1.96454
1 semana - 3 semana	-1.23667	1.96454
1 semana - 4 semana	1.13667	1.96454
1 semana - 5 semana	*2.29	1.96454
1 semana - 6 semana	*3.57667	1.96454
1 semana - Inicial	1.54	1.96454
2 semana - 3 semana	*-3.82333	1.96454
2 semana - 4 semana	-1.45	1.96454
2 semana - 5 semana	-0.296667	1.96454
2 semana - 6 semana	0.99	1.96454
2 semana - Inicial	-1.04667	1.96454
3 semana - 4 semana	*2.37333	1.96454
3 semana - 5 semana	*3.52667	1.96454
3 semana - 6 semana	*4.81333	1.96454
3 semana - Inicial	*2.77667	1.96454
4 semana - 5 semana	1.15333	1.96454
4 semana - 6 semana	*2.44	1.96454
4 semana - Inicial	0.403333	1.96454
5 semana - 6 semana	1.28667	1.96454
5 semana - Inicial	-0.75	1.96454
6 semana - Inicial	*-2.03667	1.96454

 * denotes a statistically significant difference.