

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE CIENCIAS



**“IDENTIFICACIÓN DE FRUCTANOS Y EVALUACIÓN
DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE JARABES DE YACÓN
(*Smallanthus sonchifolius*). COMPORTAMIENTO CINÉTICO”**

Presentada por:

YESENIA ROSALINA ANCELMA QUISPE DE LA CRUZ

Tesis para Optar el Título Profesional de:

BIÓLOGA

Lima – Perú

2024

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

IDENTIFICACIÓN DE FRUCTANOS Y EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE JARABES DE YACÓN (*Smallanthus sonchifolius*). COMPORTAMIENTO CINÉTICO

INFORME DE ORIGINALIDAD

14%

INDICE DE SIMILITUD

14%

FUENTES DE INTERNET

5%

PUBLICACIONES

%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

| | | |
|---|---|-----|
| 1 | repositorio.lamolina.edu.pe Fuente de Internet | 2% |
| 2 | hdl.handle.net Fuente de Internet | 2% |
| 3 | bdigital.unal.edu.co Fuente de Internet | 1% |
| 4 | cybertesis.uach.cl Fuente de Internet | 1% |
| 5 | core.ac.uk Fuente de Internet | 1% |
| 6 | docplayer.es Fuente de Internet | <1% |
| 7 | repositorio.unj.edu.pe Fuente de Internet | <1% |
| 8 | idoc.pub Fuente de Internet | <1% |

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE CIENCIAS

**“IDENTIFICACIÓN DE FRUCTANOS Y EVALUACIÓN
DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE JARABES DE YACÓN
(*Smallanthus sonchifolius*). COMPORTAMIENTO CINÉTICO”**

Presentada por:

YESENIA ROSALINA ANCELMA QUISPE DE LA CRUZ

Tesis para Optar el Título Profesional de:

BIÓLOGA

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

Mg. Sc. Patricia Angélica Moreno Díaz de Saco
PRESIDENTE

Dra. Carmen Alicia Rodríguez Best
MIEMBRO

Mg. Fermín Arévalo Ortiz
MIEMBRO

Mg. Sc. Lena Asunción Téllez Monzón
ASESORA

Mg. Sc. Diana María Nolazco Cama
CO-ASESORA

DEDICATORIA

En gratitud a mis padres, Gladys y Fulgencio, por su incondicional amor, apoyo y comprensión en todas las decisiones que voy asumiendo en la vida. A mi querido hermano Shande, por su cariño y admiración. A mi compañera de vida Romina, por todo el amor brindado.

AGRADECIMIENTOS

Un agradecimiento muy especial a cada una de las personas que con su aporte permitieron el logro de este proyecto.

A mi familia, por su incesante respaldo y aliento en cada paso que voy asumiendo, y por todo el amor y valores que me han brindado a lo largo de mi vida.

A mi estimada asesora y maestra Mg. Sc. Lena Asunción Téllez Monzón, por su constante e incondicional apoyo en cada tramo de este proyecto.

A mi co-asesora Mg. Sc. Diana Nolzco Cama por todo el conocimiento brindado en el tema de tesis.

A las profesoras Mg. Sc. Paola Jorge Montalvo, Ph D. Lisbeth Flores del Pino, por el apoyo en la parte experimental.

Al Mg. Sc. José Haro Reyes por la logística y obtención del jarabe de yacón en conjunto con el Instituto de Desarrollo Agroindustrial (INDDA).

A mi compañera de proyecto Jackelin Masco Rosales, por los cruciales y gratos momentos en el laboratorio.

Al director del departamento académico de Química, Dr. Víctor Caro Sánchez, por los ambientes brindados y a los técnicos de los laboratorios de química, Gabriel Laura, Erick Díaz, Ángelo Balbín que siempre estuvieron dispuestos a colaborar con nuestra investigación.

Al proyecto financiado por el Fondo Nacional del Desarrollo Científico Tecnológico y de Innovación Tecnológica (N° 374-2019-FONDECYT- proyecto semilla).

Al XI Concurso de subvención de tesis de pregrado UNALM 2021, por el apoyo económico.

A la directora del Centro de Investigación en Química, Toxicología y Biotecnología (CIQTOBIA), Ph D. Lisbeth Flores del Pino, que nos permitió usar las instalaciones y equipos para el desarrollo adecuado de la investigación.

ÍNDICE GENERAL

| | |
|---|------|
| RESUMEN..... | vii |
| ABSTRACT | viii |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. REVISIÓN DE LITERATURA..... | 3 |
| 2.1 Antecedentes..... | 3 |
| 2.2 Marco teórico..... | 4 |
| 2.2.1 Yacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i>)..... | 4 |
| 2.2.2 Composición del yacón | 4 |
| 2.2.3 Ecofisiología del yacón | 6 |
| 2.2.4 Proceso para obtener jarabe de yacón | 7 |
| 2.2.5 Solubilidad del jarabe de yacón..... | 7 |
| 2.2.6 Factores que afectan a los principales metabolitos..... | 7 |
| 2.2.7 Tiempo de vida en anaquel..... | 11 |
| 2.2.8 Comportamiento cinético | 13 |
| III. METODOLOGÍA..... | 16 |
| 3.1 Delimitación espacial de la investigación | 16 |
| 3.2 Material de estudio..... | 16 |
| 3.2.1. Recolección de la muestra | 16 |
| 3.3 Materiales y equipos | 17 |
| 3.3.1 Materiales de laboratorio..... | 17 |
| 3.3.2 Reactivos y solventes | 17 |
| 3.3.3 Equipos..... | 18 |
| 3.4 Elaboración del jarabe de yacón por el INDDA | 18 |
| 3.5 Preparación del extracto del jarabe de yacón | 19 |
| 3.6 Métodos de análisis | 19 |
| 3.6.1 Análisis para la caracterización fisicoquímica del jarabe | 20 |

| | | |
|-------|---|----|
| 3.6.2 | Determinación de fructooligosacáridos y azúcares reductores por HPLC-RID | 20 |
| 3.6.3 | Determinación de azúcares reductores por el método DNS | 20 |
| 3.6.4 | Determinación de la capacidad antioxidante | 21 |
| 3.6.5 | Caracterización química de compuestos por LC-MS | 21 |
| 3.7 | Diseño experimental para la estimación del tiempo de vida | 21 |
| 3.8 | Análisis cinético..... | 22 |
| 3.8.1 | Determinación del orden de reacción (n) | 23 |
| 3.8.2 | Determinación de la constante de velocidad de reacción (k) | 23 |
| 3.9 | Análisis estadístico..... | 23 |
| IV. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 24 |
| 4.1 | Caracterización del jarabe de yacón..... | 24 |
| 4.2 | Caracterización química de los compuestos por LC-MS de jarabes de yacón de ambas procedencias | 25 |
| 4.3 | Determinación de los estándares de kestosa, nistosa, fructosa y glucosa por HPLC-RID..... | 30 |
| 4.4 | Cuantificación de kestosa, nistosa, fructosa y glucosa a tres temperaturas diferentes por HPLC-RID del jarabe de yacón procedente de Huánuco. | 32 |
| 4.5 | Cuantificación de kestosa, nistosa, fructosa y glucosa a 65 °C por HPLC-RID del jarabe de yacón procedente del Amazonas. | 35 |
| 4.6 | Variación en el contenido de los indicadores de calidad por las pruebas aceleradas | 39 |
| 4.6.1 | Contenido de kestosa y nistosa..... | 39 |
| 4.6.2 | Capacidad antioxidante | 40 |
| 4.6.3 | Glucosa y fructosa | 44 |
| 4.7 | Determinación del orden de reacción..... | 45 |
| V. | CONCLUSIONES | 50 |
| VI. | RECOMENDACIONES | 51 |
| VII. | BIBLIOGRAFÍA | 52 |
| VIII. | ANEXOS..... | 67 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Condiciones mínimas de crecimiento para microorganismos seleccionados | 9 |
| Tabla 2. Criterios microbiológicos para azúcares, mieles y productos similares | 10 |
| Tabla 3. Ubicación geográfica de la procedencia de las muestras de jarabes de yacón | 16 |
| Tabla 4: Caracterización de los jarabes de yacón procedentes de Huánuco y Amazonas | 24 |
| Tabla 5: Perfil 1LC-MS de los azúcares encontrados en los jarabes de yacón de la procedencia Huánuco y Amazonas | 26 |
| Tabla 6: Perfil 1LC-MS de los compuestos fenólicos encontrados en los jarabes de yacón de la procedencia Huánuco y Amazonas | 27 |
| Tabla 7: Perfil 1LC-MS de los ácidos orgánicos encontrados en los jarabes de yacón de la procedencia Huánuco y Amazonas | 28 |
| Tabla 8: Perfil 1LC-MS del aminoácido y su derivado encontrados en los jarabes de yacón de la procedencia Huánuco y Amazonas | 29 |
| Tabla 9: Perfil 1LC-MS de fituberina encontrado en el jarabe de yacón de Amazonas y Huánuco | 29 |
| Tabla 10: Tiempos de retención de los fructanos y azúcares simples para diferentes productos | 32 |
| Tabla 11: Concentraciones de fructanos y azúcares simples (g/100g) a tres temperaturas en un intervalo de tiempo del jarabe procedente de Huánuco | 34 |
| Tabla 12: Concentraciones de kestosa, nistosa, fructosa y glucosa (g/100g) a una temperatura 65 °C en un intervalo de tiempo | 35 |
| Tabla 13: Concentraciones de kestosa, nistosa, fructosa y glucosa de los jarabes | 36 |
| Tabla 14: Concentración de kestosa (g/100g) a 1TA, 45°, 65°C en un intervalo de tiempo | 39 |

| | |
|---|----|
| Tabla 15: Concentración de nistosa (g/100g) a 1TA, 45° y 65 °C en un intervalo de tiempo..... | 40 |
| Tabla 16: Absorbancia promedio y el (%) inhibición del DPPH del extracto de jarabe de yacón de Huánuco a 1TA. | 41 |
| Tabla 17: Absorbancia promedio y el (%) inhibición del DPPH del extracto de jarabe de yacón de Huánuco a temperatura de 45°C durante 6 días. | 42 |
| Tabla 18: Absorbancia promedio y el (%) inhibición del DPPH del extracto de jarabe de yacón Huánuco a temperatura de 65 °C durante 5 días. | 43 |
| Tabla 19: Contenido de azúcares simples (g/100g) a tres temperaturas en un intervalo de tiempo..... | 44 |
| Tabla 20: Determinación del orden de reacción de los FOS (kestosa y nistosa) evaluados en las pruebas aceleradas por tres temperaturas..... | 45 |
| Tabla 21: Determinación del orden de reacción de cada indicador de calidad evaluados en las pruebas aceleradas por tres temperaturas..... | 46 |
| Tabla 22: Constante de la velocidad de reacción (k) y tiempo de vida media para los indicadores de calidad a tres temperaturas..... | 47 |
| Tabla 23: Variables para determinar el tiempo de vida útil predictivo en el jarabe de yacón de procedencia Huánuco..... | 48 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Mapa de estabilidad alimentaria en función de la actividad del agua..... | 8 |
| Figura 2. Representación esquemática del proceso de evaluación del tiempo de vida..... | 12 |
| Figura 3. Comparación de las gráficas de degradación de orden cero y primer orden..... | 14 |
| Figura 4. Gráfica de segundo orden..... | 14 |
| Figura 5. Trasvase de las muestras de jarabes de yacón de ambas procedencias hacia frascos ámbar manteniendo las condiciones de esterilidad y oscuridad..... | 19 |
| Figura 6. Reducción del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo con su característico cambio de color..... | 21 |
| Figura 7. Esquema del diseño experimental..... | 22 |
| Figura 8. Cromatogramas de los estándares de kestosa y nistosa por HPLC-RID..... | 30 |
| Figura 9. Cromatogramas de los estándares de fructosa y glucosa por HPLC..... | 31 |
| Figura 10. Cromatogramas con los contenidos de kestosa, nistosa, fructosa y glucosa presente en los jarabes de yacón de Huánuco y Amazonas. | 38 |
| Figura 11. Variación del % de inhibición del radical DPPH a TA en un intervalo de tiempo. | 41 |
| Figura 12. Variación del % de inhibición del radical DPPH a 45 °C en un intervalo de tiempo..... | 42 |
| Figura 13. Variación del % de inhibición del radical DPPH a 65°C en un intervalo de tiempo..... | 44 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | |
|---|----|
| Anexo 1. Flujograma de la preparación del jarabe de yacón | 68 |
| Anexo 2. Determinación del contenido de FOS por HPLC-RID | 69 |
| Anexo 3. Determinación de la cantidad de azúcares reductores | 70 |
| Anexo 4. Determinación de la capacidad antioxidante..... | 71 |
| Anexo 5. Curva de calibración de la inhibición del radical DPPH por el estándar ácido gálico. | 72 |
| Anexo 6. Curvas estándares de los patrones por HPLC | 73 |
| Anexo 7. Curvas estándares de los patrones por método del DNS..... | 75 |
| Anexo 8. Pruebas de normalidad e igualdad de varianzas | 76 |
| Anexo 9. Cromatogramas LC-MS de los jarabes de yacón de ambas procedencias | 79 |
| Anexo 10. Análisis estadístico..... | 80 |
| Anexo 11. Gráficos para analizar el orden de reacción | 82 |
| Anexo 12. Variables cinéticas | 84 |
| Anexo 13. Galería de fotos..... | 85 |

RESUMEN

El yacón, *Smallanthus sonchifolius*, es una raíz nativa de los Andes, que se cultiva desde la época prehispánica, entre los 1.000 y los 4.000 metros sobre el nivel del mar. La raíz contiene una alta concentración de fructooligosacáridos (FOS), inulina, antioxidantes y compuestos fenólicos, en presentaciones comerciales tales como: raíz, harina y jarabe; brindando efectos beneficiosos para la salud por su actividad antiglicémica, anticancerígena y antioxidante, como respuesta a un consumo adecuado de sus compuestos bioactivos dentro del tiempo de vida establecido. Las reacciones químicas internas modifican las estructuras moleculares de los compuestos. El presente estudio analizó la cinética de los FOS de tipo nistosa y kestosa entre otros metabolitos de los jarabes de yacón procedentes de los departamentos de Amazonas y Huánuco, mediante pruebas aceleradas realizadas a temperaturas de 45, 65 y 85 °C durante una semana. Se utilizó HPLC-RID, con condiciones de fase móvil acetonitrilo:agua (70:30 v/v), columna 5 µm, velocidad de flujo de 1 mL/min y temperatura de la columna 35 °C. Obteniendo cambios en las concentraciones, el mayor tiempo de exposición se registró en el 4° y 5° día con concentraciones de kestosa y nistosa de 9,555 g/100g y 8,372 g/100g del jarabe de Huánuco; 6.799 g/100g y 5.424 g/100g para el jarabe de Amazonas respectivamente. Asimismo, para determinar los compuestos existentes en los jarabes, estos se identificaron mediante el perfil químico por el análisis LC-MS, a condiciones de fase móvil de agua con 0,1% de ácido fórmico en agua (A) y 0,1% de ácido fórmico en acetonitrilo (B), la gradiente usada consiste: (0-1) min 10% B; (19-21) min 100% B; (21.1-24) min 10% B; columna C18 y flujo de 0,25 mL min⁻¹, mantenido a 40°C con un volumen de inyección de 3 µL. Se identificaron diferentes tipos de FOS, ácidos orgánicos como el ácido cítrico, málico, ascórbico, quínico, compuestos fenólicos derivados del ácido caféico, aminoácidos y un compuesto poco común identificado como fituberina. Se determinaron los siguientes indicadores de calidad: FOS, azúcares reductores y capacidad antioxidante. Los indicadores de calidad FOS y azúcares simples se ajustan mejor a los modelos de reacción de primer orden, mientras que, la capacidad antioxidante se ajusta al orden cero. Finalmente, el tiempo de vida útil predictiva del jarabe de yacón es de 7 días con un 75% de conservación de los compuestos activos. Esto asegura una ingesta adecuada de metabolitos por parte de los consumidores.

Palabras clave: yacón, fructooligosacáridos, vida útil, HPLC-RID, LC-MS, metabolitos.

ABSTRACT

Yacón, *Smallanthus sonchifolius*, is a root native to the Andes, which has been cultivated since pre-Hispanic times, between 1,000 and 4,000 meters above sea level. The root contains a high concentration of fructooligosaccharides (FOS), inulin, antioxidants and phenolic compounds, in commercial presentations such as: root, flour and syrup; providing beneficial health effects due to its antiglycemic, anticancer and antioxidant activity, in response to adequate consumption of its bioactive compounds within the established life time. Internal chemical reactions modify the molecular structures of compounds. The present study analyzed the kinetics of nystose and kestose type FOS among other metabolites of yacon syrups from the departments of Amazonas and Huánuco, through accelerated tests carried out at temperatures of 45, 65 and 85 °C for one week. HPLC-RID was used, with mobile phase conditions acetonitrile:water (70:30 v/v), 5 µm column, flow rate of 1 mL/min and column temperature 35 °C. Obtaining changes in concentrations, the longest exposure time was recorded on the 4th and 5th day with kestose and nystose concentrations of 9.555 g/100g and 8.372 g/100g of Huánuco syrup; 6,799 g/100g and 5,424 g/100g for Amazonas syrup respectively. Likewise, to determine the compounds existing in the syrups, these were identified through the chemical profile by LC-MS analysis, at mobile phase conditions of water with 0.1% formic acid in water (A) and 0.1% of formic acid in acetonitrile (B), the gradient used consists: (0-1) min 10% B; (19-21) min 100% B; (21.1-24) min 10% B; C18 column and flow rate of 0.25 mL min⁻¹, maintained at 40°C with an injection volume of 3 µL. Different types of FOS were identified, organic acids such as citric, malic, ascorbic, quinic acid, phenolic compounds derived from caffeic acid, amino acids and a rare compound identified as phytuberin. The following quality indicators were determined: FOS, reducing sugars and antioxidant capacity. The quality indicators FOS and simple sugars fit better to the first order reaction models, while the antioxidant capacity fits to the zero order. Finally, the predictive shelf life of yacon syrup is 7 days with 75% conservation of the active compounds. This ensures adequate intake of metabolites by consumers.

Keywords: yacon, fructooligosaccharides, shelf life, HPLC-RID, LC-MS, metabolites.

I. INTRODUCCIÓN

El yacón (*Smallanthus sonchifolius*), raíz oriunda de los andes y adaptable a diferentes ecosistemas, está sujeto a factores ambientales como la temperatura, altitud y estacionalidad, entre otros, que involucran efectos sobre el fotoperiodo que determinan la fisiología vegetal (Sales *et al.*, 2021). Las raíces aprovechables son grandes fuentes de fructooligosacáridos (FOS), inulina, ácidos orgánicos, compuestos fenólicos y antioxidantes, que sufren variaciones en el contenido de los compuestos activos por influencia de los factores externos y del efecto de los productos químicos derivados (Silva *et al.*, 2018).

Las diferentes partes del cultivo y sus productos derivados son reconocidos por tener actividades antiglicémicas, reduciendo concentraciones de glucosa e insulina post prandiales (Adriano *et al.*, 2019); anticancerígenas, por la capacidad de eliminar células cancerígenas del hígado e inhibir su proliferación mediante extractos de hojas de yacón (Myint *et al.*, 2019); antioxidantes y antiinflamatorios, que en conjunto generan efectos biológicos benéficos para la salud, reduciendo los riesgos a enfermedades crónicas como las cardiovasculares, metabólicas, diabetes tipo 2, entre otras (Contreras-Puentes & Alvíz-Amador, 2021).

Las raíces de yacón presentan propiedades prebióticas que promueven la integridad e inmunidad de la microbiota intestinal frente a eventos que pueden alterar el equilibrio de la flora intestinal (Verediano *et al.*, 2021). El consumo de FOS promueve el crecimiento de la microbiota intestinal, bacterias del género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, modulan la absorción, metabolismo y mantenimiento de la actividad inmunológica del ser humano, adicionalmente mitigan en gran medida la sensación de apetito y saciedad (Roupar *et al.*, 2022).

Manrique *et al.*, (2005), afirman que la cadena de producción del jarabe de yacón, inicia desde la cosecha y recolección de las raíces de yacón hasta las condiciones de almacenamiento del jarabe como producto terminado. Durante las etapas, se debe controlar el efecto de la humedad y temperatura, principalmente, para evitar la degradación de sus metabolitos. Durante la vida en anaquel se llevan a cabo diferentes reacciones entre los

azúcares reductores y otros compuestos, se producen cambios desfavorables en sus características organolépticas y sensoriales, sobre todo, en la cantidad de metabolitos funcionales (Correa, 2015). Por esta razón, la importancia e interés sobre el comportamiento cinético y el estado de deterioro de los principales compuestos con mayor actividad funcional es imprescindible para los consumidores finales.

Las pruebas aceleradas enlazan condiciones de almacenamiento con mayor predominio, por ejemplo, temperaturas elevadas en un breve periodo de tiempo, aceleran los procesos químicos y físicos generando un impacto de deterioro en los principales compuestos. Es cuantificable las variaciones de los compuestos a lo largo del proceso a través de modelos cinéticos, matemáticos y estadísticos (Labuza & Schmidl, 1985).

Por lo expuesto anteriormente, los objetivos del presente estudio han sido analizar la composición química de los principales metabolitos del jarabe de yacón procedentes de Huánuco y Amazonas; determinar las diferencias en la concentración de los azúcares de ambas procedencias, evaluar el comportamiento cinético determinando el orden de reacción de los FOS (kestosa, nistosa), azúcares reductores y capacidad antioxidante mediante pruebas aceleradas de vida en anaquel, en condiciones controladas de temperaturas, 45, 65 y 85 °C, predecir el tiempo de vida útil con modelos cinéticos, donde mantienen los niveles de metabolitos funcionales. El motivo es conservar la calidad del jarabe de yacón como producto nutracéutico para el consumidor final.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Antecedentes

El cultivo de yacón (*Smallanthus sonchifolius*), conocido también como aricoma, yacuma, jícama es de origen andino, fue domesticado en las montañas de Perú y Bolivia, se expande hacia lo largo de los valles interandinos con alcance a países como Chile, Colombia y Argentina. Asimismo, el yacón se ha adaptado a naciones fuera de los andes, como Nueva Zelanda y Japón, con desarrollo exitoso de los cultivos. En el interior del país, la raíz es consumida de forma tradicional como fruto fresco, jalea o harina; tanto la raíz como las hojas, son empleadas de forma medicinal para afecciones renales, hepáticas, sanguíneas como la diabetes por su contenido de inulina y en regiones como Cajamarca para el rejuvenecimiento de la piel (Seminario *et al.*, 2003).

La baja demanda del yacón frente al consumo de otros alimentos, como la papa o el camote, se debe a escasa información de sus propiedades en el ámbito de la salud y nutrición. Al mismo tiempo, la baja aceptación en las familias, es consecuencia de la poca difusión y promoción por parte del estado y de ciertas empresas, obteniendo un retroceso en el cultivo (Alvarado Zamudio, 2021). En los últimos años, han cambiado las tendencias de los estilos de vida en las nuevas generaciones, jóvenes buscan mantener un equilibrio, entre su agitada vida laboral y la naturaleza, por lo cual, van desarrollando iniciativas en diferentes emprendimientos, con una mirada hacia lo autóctono y saludable, donde incluyen diversos derivados del yacón como complementos en los platillos (López-Rodríguez *et al.*, 2020).

Los productos a base de raíces de yacón se han internacionalizado con el tiempo, el sector agrícola ha fortalecido el comercio, tanto en el mercado interno como en el exterior, por un valor de 1,9 millones de dólares, llevando a cabo, líneas de producción para los derivados de este cultivo (ADEX, 2018). Las variedades de raíces de yacón, como son el yacón blanco, anaranjado y morado; tiene sus presentaciones como jarabes, zumos, deshidratados, hojuelas, cápsulas, extracto, polvo y miel. Los principales mercados de destino son: Estados Unidos, Brasil, Alemania, Reino Unido y Japón; con una ventana comercial anual entre junio

y septiembre (SIICEX, 2015). En el periodo 2015-2019, en el Perú, se sembraron 480hectáreas con una producción aproximada de 10 mil toneladas de yacón por año, con rendimientos promedio de 20 toneladas por hectárea (MINAGRI, 2020).

2.2 Marco teórico

2.2.1 Yacón (*Smallanthus sonchifolius*)

Pertenece a la familia Asteraceae (Compositae) cuyo nombre científico es *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson 1978. Asimismo, el yacón estaba clasificado en el género *Polymnia*. Actualmente el género *Smallanthus* incluye 21 especies de las cuales seis especies de *Smallanthus* aparte de *S. sonchifolius* son reconocidas en el Perú. Su distribución a lo largo del Perú se registra con mayor predominancia en los departamentos de Cajamarca, Huánuco, Cusco, Junín y Puno (Seminario *et al.*, 2003). El dominio del manejo del cultivo abre el interés de diversas industrias alimentarias como también agroindustriales (Mansilla *et al.*, 2010).

Respecto al contenido de las raíces de yacón, los FOS representan hasta el 70% del peso seco, seguido de sacáridos y azúcares simples con un contenido variable de 2.1-70.8 %, el contenido de i ambientales como económicos, aunque no tiene el respaldo de estudios para su desarrollo (Wagner *et al.*, 2019).

2.2.2 Composición del yacón

a) Fructooligosacáridos

Los FOS, conocidos como oligofruktosas, pertenecen al grupo de los fructanos, una clase de azúcares que resulta de la asociación de moléculas de fructosas con una molécula de glucosa, mediante enlaces glucosídicos, beta (2,1) y beta (2,6), la organización dimensional puede extenderse de acuerdo a la composición química GF_n y FF_n , siendo “n” un valor entre 2 a 10, en la fórmula son moléculas de fructosas. De igual importancia, la comparación del contenido de calorías (kcal/g) versus el índice del poder edulcorante, nos muestra que la glucosa contiene 4 kcal/g / 0.7, mientras los FOS contienen 1-1.5 kcal/g /0.3 de poder edulcorante (Seminario *et al.*, 2003).

De la Rosa (2019) manifiesta que, son algunas las fuentes que contienen FOS, como son el plátano, yacón, espárragos, cebolla, ajos, betarraga, achicoria, cebada y trigo, entre otros. No obstante, las industrias, tales como, alimentarias, biotecnológicas y farmacéuticas están

explorando nuevas vías de producción de FOS, utilizando microorganismos en sustratos alternativos con una mirada en una economía circular (Kherade *et al.*, 2021).

b) Fructanos tipo inulina

Los fructanos tipo inulina son agrupaciones de fructanos de cadenas largas, unidos por enlaces beta (2,1 fructosil-fructosa) a una molécula de glucosa o fructosa (Escobar-Ledesma *et al.*, 2020). Según su composición química GF_n y FF_n , este tipo inulina, puede contener hasta más de 60 moléculas de fructosa; se sintetizan en algunas raíces y se almacenan como reserva de energía, por consiguiente, la presencia de ramificaciones y el grado de polimerización tienen efectos en las propiedades funcionales. La fuente de origen no son solo las plantas, sino también pueden ser sintetizados en bacterias y hongos, como en algunas especies del género *Bacillus* y *Aspergillus* (Roberfroid, 2004). Asimismo, dietéticamente son carbohidratos no digeribles, considerados como fibra natural funcional, debido al bajo índice calórico y adicional al poder antioxidante tienen efectos favorables en la salud, considerado como prebiótico (Illippangama *et al.*, 2022).

Roberfroid *et al.*, (2004) brindan la relación entre el contenido de inulina en frutas y vegetales, que se diferencian por el grado de polimerización (GP), por lo regular, el plátano contiene < 5 GP con 2-7 g/100 g, cebolla de 2-12 GP con 1-7.5 g/100 g, achicoria 2-65 GP con 15-20 g/100 g.

c) Azúcares reductores

Se denomina azúcar reductor, si cuentan con un grupo hemiacetal libre. Son productos de la hidrólisis de azúcares de cadenas largas hacia cadenas cortas, como los FOS, por diversos factores, como la temperatura, reacción enzimática, cambio de pH entre los más significativos. (Shao & Lin, 2018). Actualmente, el tipo de azúcar está mediado principalmente por enzimas que manejan la selectividad del sustrato con estrategias de sacarificación, no obstante, están involucrados otros parámetros externos (Mohapatra *et al.*, 2018).

d) Ácidos orgánicos

Los ácidos orgánicos forman parte de los compuestos bioactivos en muchos vegetales, frutas y plantas medicinales, por sus prometedoras propiedades antioxidantes y antiinflamatorias (Adamczak *et al.*, 2019). Se sintetizan y distribuyen en las diferentes partes de las plantas, las raíces pueden acumular ácido málico, cítrico y oxálico; son elaborados como respuesta a

los factores abióticos, sequías, la tolerancia al estrés oxidativo (Khan *et al.*, 2019). En la elaboración del jarabe de yacón es favorable el empleo de los ácidos orgánicos que se le añaden, por la capacidad de inhibir el efecto de las enzimas, causantes del pardeamiento enzimático, en consecuencia, el deterioro de la calidad de los metabolitos en las plantas, frutos y derivados como el jarabe de yacón (Zhou *et al.*, 2019).

e) Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios en las plantas, contienen un representativo fenol unido a estructuras alifáticas o aromáticas, son sintetizados en las plantas como defensa ante posibles infecciones fúngicas, bacterianas y en respuesta al estrés fisiológico (Gimeno Creus, 2004). Otra característica, es la alta afinidad y capacidad de formar complejos, los cuales modulan sus propiedades. En el yacón, se han identificado principalmente, derivados del ácido caféico, clorogénico y del triptófano (Silva *et al.*, 2018).

La clasificación de los compuestos fenólicos se divide en flavonoides, no flavonoides, por el número de anillos aromáticos, por el esqueleto de carbonos contenido y según su estructura química básica. La actividad antioxidante que muestra, es debido a la estructura química básica y a la posición de los grupos funcionales contiguos (Gutierrez-Uribe & Nollet, 2018).

2.2.3 Ecofisiología del yacón

Las plantas se exponen a constantes cambios climáticos, como respuesta, desencadenan reacciones fisiológicas ante el estrés, biótico como abiótico. Para entender la relación planta-ambiente, se debe considerar los mecanismos internos como los moleculares y metabólicos que nos permitirá predecir los cambios en la conducta ecofisiológica del cultivo (Díaz *et al.*, 2018).

Las características morfológicas y el contenido de los metabolitos del cultivo de yacón, son el resultado tanto de factores genéticos como de las condiciones edafoclimáticas, como el tipo ambiente donde se desarrolla, clima (campo o invernadero), fotoperiodo, cambios de temperaturas, presencia o ausencia de precipitaciones, plagas y enfermedades, influyen en el cultivo y la conservación de las propiedades (Sáenz, 2019).

Según lo reportado por Da Silva *et al.*, (2018), durante la caracterización fisicoquímica de raíces de yacón, cosechadas en diferentes altitudes y estaciones, se obtuvieron en las raíces de mayor altitud, características fisicoquímicas más deseables que en raíces de baja altitud,

siendo, en la estación de primavera, en la cual, se generaron elevados niveles de sólidos solubles.

2.2.4 Proceso para obtener jarabe de yacón

El procesamiento para obtener el jarabe de yacón, se basa en concentrar el jugo de las raíces de yacón, y aumentar la concentración a un nivel aproximado de 73 °Brix. La secuencia de etapas, comienza con la desinfección de las raíces de yacón y el pelado de estas, se minimiza el impacto del ambiente al reducir el tiempo de exposición para evitar el pardeamiento provocado por las enzimas polifenoloxidasas, que catalizan reacciones de oxidación a los fenoles hacia quinonas reduciendo la calidad funcional y sensorial del jarabe, se recomienda añadir ácido ascórbico y cítrico como antioxidantes para amortiguar la reacción (Seminario *et al.*, 2003).

En las siguientes etapas, las raíces de yacón ingresan a un pulpeador, que separa el jugo del bagazo, en este punto se debe evitar el pardeamiento mediante tratamientos térmicos o con la inmersión en antioxidantes. El filtrado del jugo es mediante tela de tocuyo, para luego ser concentrado hasta obtener el valor de sólidos solubles deseado aproximadamente entre 73 – 78 °Brix (Torres, 2016).

2.2.5 Solubilidad del jarabe de yacón

El jarabe de yacón es una matriz orgánica, constituida principalmente por azúcares de diversos pesos moleculares y con la asociación de otros compuestos como ácidos orgánicos y compuestos fenólicos; se debe llegar a un equilibrio entre las fuerzas intramoleculares que actúan en la matriz y las fuerzas que existen entre las moléculas, se utiliza el solvente con mayor afinidad para poder disolver una matriz orgánica (Geissman, 1973).

La extracción se hace posible al emplear técnicas de purificación y caracterización de algún metabolito objetivo, para lograr esclarecer la composición que representa en la matriz. Un compuesto se puede extraer, mediante la afinidad selectiva que posee un disolvente, por las fuerzas intermoleculares a su favor (Beyer & Walter, 1987).

2.2.6 Factores que afectan a los principales metabolitos

Un alimento pierde la propiedad de ser aceptable para el consumo humano, cuando ya no posee las características que tenía al inicio de su elaboración. Los cambios en las cualidades sensoriales, tales como, sabor, textura, ya sea, por ganancia o pérdida de humedad, color y aroma; resultan de las reacciones químicas entre los compuestos lábiles. La proliferación de

microorganismos, que secretan sustancias indeseables producto de su metabolismo puede llegar a ser un peligro para la salud del consumidor (Dar *et al.*, 2022).

a) Degradación física y relacionados a la temperatura

La variación del nivel de humedad y de temperatura, son los principales responsables del deterioro en los alimentos por cambios físicos. Es relevante mencionar, durante el tiempo de almacenamiento, el material de empaqueo del alimento puede verse afectado por reacciones químicas, que limitan la vida útil sensorial y funcional, por ejemplo, cambios en la permeabilidad, altera el equilibrio en el interior del empaque con el ambiente, provocando efectos microbiológicos como químicos. La alteración en los componentes químicos del empaque, permite el movimiento de compuestos volátiles externos al interior, lo que resulta en la oxidación del producto, y esto es perjudicial en la vida útil de los productos. Por ello se debe tener en consideración, humedad relativa (HR), actividad del agua (Aw), las isotermas de sorción, tienen un equilibrio específico para cada alimento y los modelos isotérmicos de adsorción como se observa en la Figura 1.

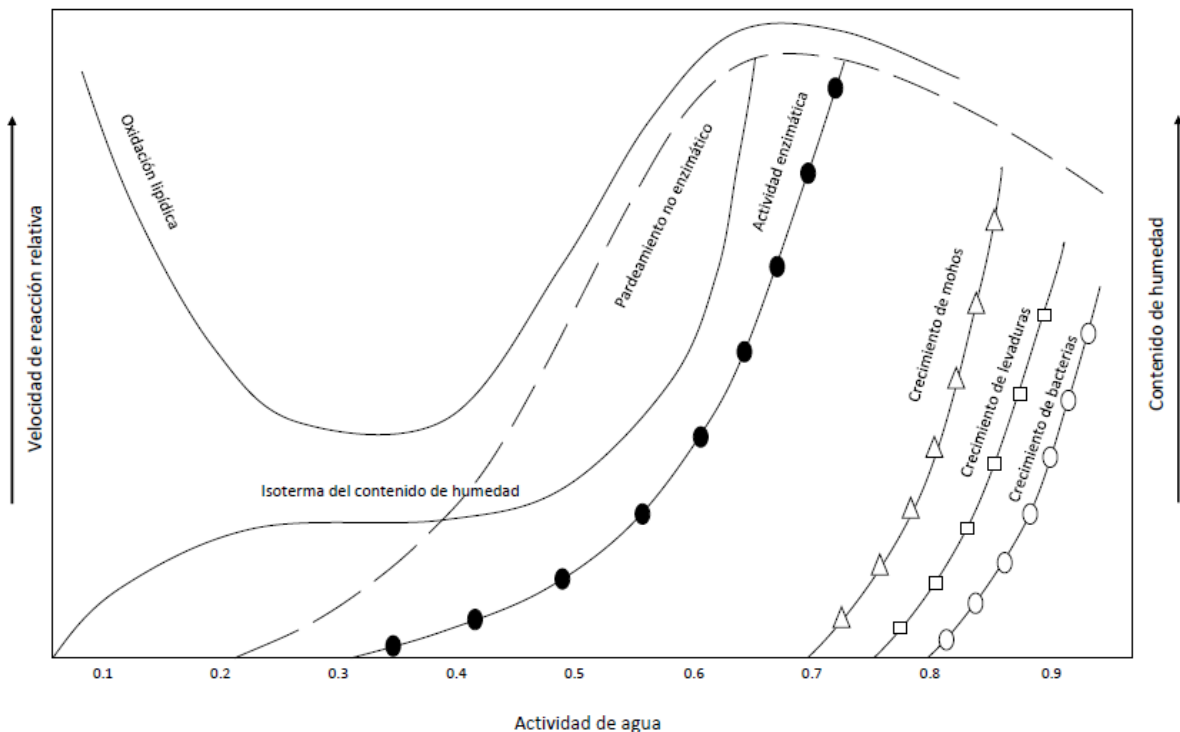


Figura 1. Mapa de estabilidad alimentaria en función de la actividad del agua
FUENTE: Adaptado de (Labuza *et al.*, 1972)

El deterioro puede ocurrir por elevadas o en bajas temperaturas; muchos microorganismos entre patógenos y descomponedores, tienen un amplio rango de temperaturas de crecimiento,

como se muestra en la Tabla 1; la temperatura promueve las reacciones químicas y físicas, como la cristalización o emulsión de jarabes (Kilcast & Subramaniam, 2000).

b) Degradación microbiológica

La degradación microbiana o biodegradación, es un mecanismo donde diferentes microorganismos generan un deterioro del material orgánico o inorgánico, que aprovechan para realizar funciones metabólicas. La gran variedad de enzimas que contienen los microorganismos juegan un rol clave del proceso de degradación, independiente del ambiente (Siracusa, 2019).

El crecimiento de microorganismos específicos durante la vida en anaquel depende de varios factores, siendo los más importantes: la carga microbiana inicial, las propiedades fisicoquímicas de los alimentos, como contenido de humedad, pH, presencia de conservantes; el método de procesamiento utilizado en la producción de alimentos; y el entorno externo de los alimentos, como la composición del gas circundante y temperatura de almacenamiento (Kilcast & Subramaniam, 2000).

Tabla 1. Condiciones mínimas de crecimiento para microorganismos seleccionados

| Tipo de microorganismo | Mínimo pH de crecimiento | Mínimo Aw de crecimiento | Crecimiento anaeróbico | Mínima temperatura de crecimiento (°C) |
|---------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|---|
| Patógenos | | | | |
| <i>Salmonella</i> | 4.0 | 0.94 | Si | 7 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 4.0 (4.5 toxina) | 0.83 (0.9 toxina) | Si | 6 (10 toxina) |
| <i>Bacillus cereus</i> (psicotrópico) | 4.4 | 0.91 | Si | < 4 |
| <i>Clostridium botulinium</i> | | | | |
| • Proteolítico | 4.6 | 0.93 | Si | 10 |
| • No proteolítico | 5.0 | 0.97 | Si | 3.3 |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 4.3 | 0.92 | Si | 0 |
| <i>Escherichia coli</i> | 4.4 | 0.95 | Si | 7 |

Continuación ...

| Tipo de microorganismo | Mínimo pH de crecimiento | Mínimo Aw de crecimiento | Crecimiento anaeróbico | Mínima temperatura de crecimiento (°C) |
|--------------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------|--|
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | 4.8 | 0.94 | Si | 5 |
| <i>E. coli</i> 0157 | 4.5 | 0.95 | Si | -6.5 |
| Descomponedores | | | | |
| <i>Pseudomonas</i> | 5.5 | 0.97 | No | < 0 |
| <i>Enterobacter aerogenes</i> | 4.4 | 0.94 | Si | 2 |
| Bacteria del ác. láctico | 3.8 | 0.94 | Si | 4 |
| Micrococci | 5.6 | 0.9 | No | 4 |
| Levaduras | 1-5 | 0.8 | Si | -5 |
| Mohos | < 2.0 | 0.6 | No | < 0 |

FUENTE: Kilcast & Subramaniam (2000)

Según MINSA (2008), tras la aprobación de la norma sanitaria N° 071, se establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. Los criterios establecidos específicamente para el grupo de alimentos denominados, azúcares, mieles y productos similares se encuentran en la Tabla 2.

Tabla 2. Criterios microbiológicos para azúcares, mieles y productos similares

| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | C | Límite por g | |
|-------------------------------|-----------|-------|---|---|--------------|-------|
| | | | | | m | M |
| <i>Aerobios mesófilos</i> | 2 | 3 | 5 | 2 | 1000 | 10000 |
| <i>Enterobacteriaceas</i> (*) | 5 | 3 | 5 | 2 | < 1 | 10 |
| <i>Mohos</i> | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 | 100 |
| <i>Levaduras osmófilas</i> | 2 | 3 | 5 | 2 | 10 | 100 |

(*) Para consumo directo. Los que requieren dilución para su análisis $m \leq 10$

FUENTE: MINSA (2008)

Conforme a los parámetros indicados, los productos de este grupo muestran las condiciones microbiológicas que deben cumplir en el tiempo de vida útil, con el fin de asegurar el menor riesgo para la salud. La evaluación experimental del crecimiento microbiano, dentro de los

límites microbiológicos garantizan la calidad de los alimentos, evitando la cantidad perjudicial de microorganismos como hongos, levaduras o mesófilos.

2.2.7 Tiempo de vida en anaquel

Es definido como el periodo mínimo de durabilidad donde se conservan las características útiles para el consumidor. La calidad de los alimentos se altera a lo largo del almacenamiento desde la condición inicial (Galanakis, 2019).

a) Factores que afectan en tiempo de vida útil

Los factores intrínsecos, son características de la materia prima, tales como, la composición del producto, actividad de agua, pH, oxígeno disponible y contenido de enzimas; por otro lado, los factores extrínsecos son aquellos que intervienen durante la cadena de producción y distribución, como son el control de la temperatura, humedad relativa (HR) exposición a la luz UV entre otros. Por ello, se generan una serie de barreras que combinan parámetros para inhibir o restringir el efecto de los factores, como el crecimiento microbiano y más, evitando la pérdida de vida útil (Vito, 2019).

Otros autores afirman, que el tiempo de vida en anaquel depende de cuatro factores, tales son, formulación, procesamiento, empaque y condiciones de almacenamiento; mientras que los parámetros que dependen de las condiciones de almacenamiento, aparte de los mencionados, son la presión o estrés mecánico y la composición de la HR (Estrada Jiménez, 2017).

b) Métodos de determinación del tiempo de vida en anaquel

- Factor de aceleración único

El método más utilizado para pruebas aceleradas, se basa en emplear un único factor para acelerar el proceso de deterioro. La validez del modelo cinético es crucial, para obtener una predicción del tiempo de duración. Por lo tanto, la selección de un modelo para la prueba acelerada debe basarse en conocimientos previos, se pueden apoyar en datos empíricos disponibles o en teorías físicas o químicas sólidas, probadas ampliamente en un gran número de casos similares. El modelo de Arrhenius, que relaciona la tasa de una reacción química con los cambios de temperatura, es el mejor ejemplo de modelo validado (Espinoza, 2019).

- Pruebas aceleradas

Para una predicción rápida del tiempo de vida útil, en lugar de, una prueba a tiempo real (tiempo largo); se realizan las pruebas aceleradas, donde se establecen condiciones extremas en parámetros, tales como, humedad y temperatura, que producen cambios significativos en los compuestos, estos son utilizados con frecuencia en la industria. Se aplica a procesos de deterioro que cuentan con un modelo cinético válido, estos procesos pueden ser químicos, físicos, bioquímicos o microbianos; la mayor parte de los estudios en pruebas aceleradas son por degradación química. Para Correa (2015), la temperatura es elegida como factor crítico de deterioro, mantiene constante las demás condiciones de almacenamiento, como humedad, luz entre otros. Se requiere de un modelamiento matemático para la cinética de degradación de los compuestos que sirven como limitante de la calidad del jarabe de yacón (Estrada, 2017). La capacidad de predecir el tiempo de vida tiene un alto impacto en la industria, que debe ser respaldado de la estadística; se puede enfrentar a costos significativos, si el cálculo es erróneo, o ser una ventaja, si es el acertado (Andrewes, 2022).

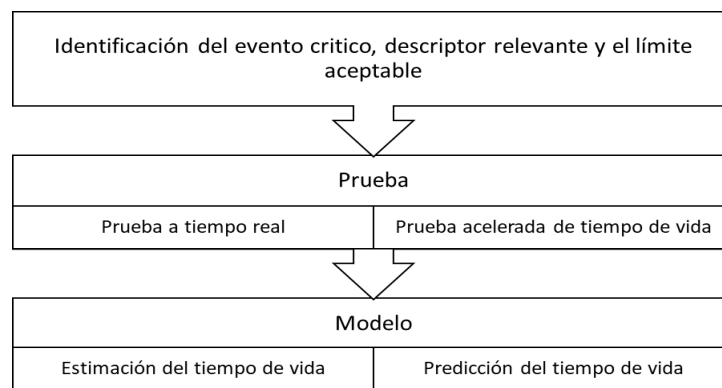


Figura 2. Representación esquemática del proceso de evaluación del tiempo de vida
FUENTE: Adaptado de (Galanakis, 2019)

c) Mantenimiento del tiempo de vida en un alimento

A lo largo del tiempo, emergen nuevas tecnologías que neutralizan o inhiben los efectos de los factores, que influyen en el tiempo de vida, evitan problemas, así como, la contaminación y enfermedades transmitidas por alimentos. Entre los métodos clásicos, están los tratamientos térmicos, disminución de la actividad de agua, refrigeración y almacenamiento en frío, en debate está el empleo de preservantes químicos y agentes antimicrobianos. Actualmente, existen tecnologías como los tratamientos de alta presión, ultrasonido, dióxido de carbono en fase densa, radiación y el tratamiento con plasma al vacío (Galanakis, 2019).

2.2.8 Comportamiento cinético

Los parámetros que describen el comportamiento de las variables, como la rapidez de reacción, orden de reacción en condiciones específicas del estudio, se determinan a través de modelos matemáticos, se toma de base, para las predicciones del tiempo de vida útil. La velocidad de degradación de los metabolitos, puede tener una cinética de orden cero, uno o dos, para definirlo es necesario realizar una regresión lineal (Correa, 2015). Por esta razón, el objetivo de los estudios experimentales sobre cinética, es desarrollar un modelo matemático que describa la velocidad de las reacciones en función a las variables experimentales, todo ello, es necesario para desarrollar y optimizar la producción, minimizando la pérdida de la calidad en el proceso por predicción de su vida útil (Estrada Jiménez, 2017).

a) Orden de reacción

Matemáticamente el orden de reacción, es la representación gráfica de la tendencia que integra la concentración y el tiempo de un producto en evaluación, si el modelo que se obtiene es una gráfica lineal, es de orden cero ($n = 0$), si no es el caso, se trata de linealizar los valores, según la forma de linealizar, estos pueden llegar a ser de primer ($n = 1$), segundo ($n = 2$) o pseudo-orden. En la literatura, el orden de reacción indica el cambio en la calidad de los alimentos que están basados en reacciones químicas, crecimiento microbiano, muerte o valor sensorial (Labuza T., 1984). Siendo, $[A_0]$ la concentración inicial de A, “t” tiempo y “ k_0 ” el factor pre-exponencial.

- Orden cero

$$\text{pérdida: } [A] = [A_0] - k_0t$$

$$\text{ganancia: } [B] = [B_0] + k_0t$$

- Primer orden

$$\text{perdida: } \ln [A]/[A_0] = -k_1t \rightarrow [A] = [A_0] e^{-k_1t}$$

$$\text{ganancia: } \ln [B]/[B_0] = +k_1t \rightarrow [B] = [B_0] e^{+k_1t}$$

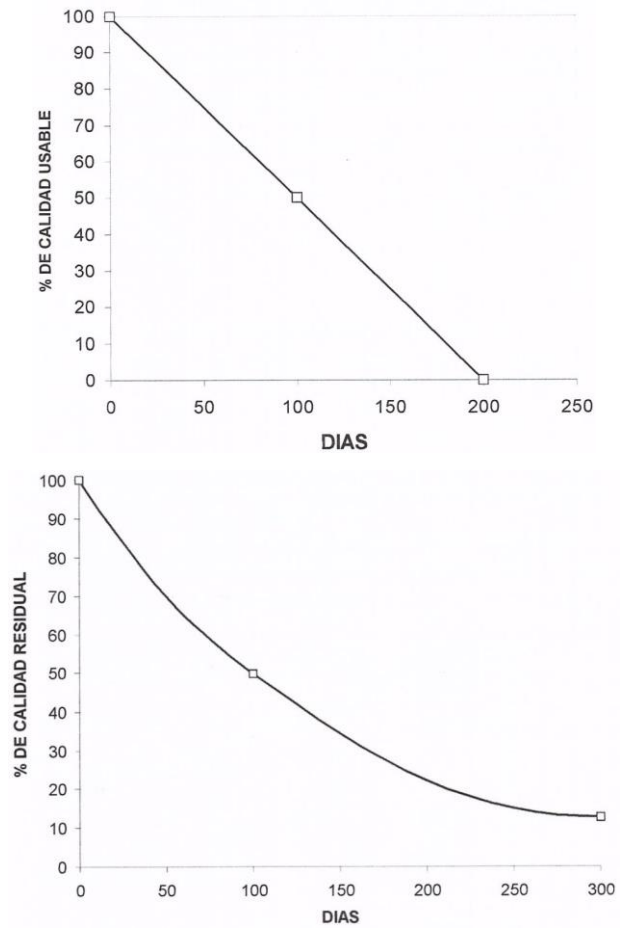


Figura 3. Comparación de las gráficas de degradación de orden cero y primer orden
FUENTE: Labuza T. (1982)

- Pseudo Orden

Aparece por la transformación del orden, si hay una variación de una variable mientras la otra se mantiene constante, generalmente en los casos de primer a orden cero (Fonseca & Berrocal, 2004).

- Segundo Orden

Ecuación general: $1/[C]= kt + 1/[C_0]$

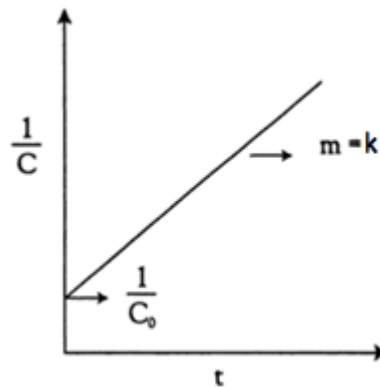


Figura 4. Gráfica de segundo orden
FUENTE: Fonseca & Berrocal, (2004)

b) Modelo cinético

La velocidad de cambio en la calidad del indicador, se obtiene con la siguiente ecuación, donde (k) es la constante de velocidad y (n) el orden de reacción. Se determina (k) mediante regresión lineal.

$$\int_{I_0}^I \frac{dI}{I^n} = \int_0^t k dt$$

Se puede estimar el tiempo de vida resolviendo la integral de la ecuación en función al tiempo, donde (I) es el indicador en función al tiempo de almacenamiento (t) (Galanakis, 2019).

$$\text{Tiempo de vida} = \int_{I_0}^I \lim \frac{dI}{I^n}$$

c) Modelo de Arrhenius

El empleo de la temperatura como factor crítico de aceleración ha sido estudiado por medio de la ecuación de Arrhenius en 1901, y se basa en la reversibilidad de ciertas reacciones químicas, permitiendo estimar la razón de cambios en los índices de calidad que ocurren en los alimentos.

$$k = k_0 \cdot e^{\frac{-E_a}{RT}} \rightarrow \ln k = \ln k_0 - \frac{E_a}{RT} \rightarrow \text{Tiempo de vida} = \frac{\int_{I_0}^I \lim \frac{dI}{I^n}}{k \exp\left[\frac{-E_a}{R}\left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_0}\right)\right]}$$

Siendo, R la constante de velocidad de reacción (8.3145 J K⁻¹mol⁻¹), T temperatura (Kelvin), E_a energía de activación (J mol⁻¹) y k₀ factor pre-exponencial.

Se emplea el modelo de Arrhenius para ajustar la relación entre el valor k encontrado en el modelo cinético del orden de reacción de los indicadores de calidad bajo los factores de tiempo y temperatura. Este modelo describe bien a los índices físicos como la temperatura (Du *et al.*, 2022).

III. METODOLOGÍA

3.1 Delimitación espacial de la investigación

- Universidad Nacional Agraria La Molina, Laboratorios de Química (Q1 y Q5)
- Centro de Investigación en Química, Toxicología y Biotecnología (CIQTOBIA).
- Instituto de Desarrollo Agroindustrial (INDDA).

3.2 Material de estudio

3.2.1. Recolección de la muestra

Las raíces de yacón recolectadas, se utilizaron como materia prima para la elaboración del jarabe de yacón en estudio, se ubicó en las jurisdicciones de los departamentos de Huánuco y Amazonas. Según las coordenadas UTM (Tabla 3).

Las muestras de yacón se trasladaron por vía terrestre y se mantuvieron en cadena de frío, hasta el ingreso al Instituto de Desarrollo Agroindustrial de la Universidad Nacional Agraria La Molina (INDDA), donde posteriormente, se procesaron para obtener el jarabe de yacón para el estudio.

Tabla 3. Ubicación geográfica de la procedencia de las muestras de jarabes de yacón (*Smallanthus sonchifolius*)

| Recolecta (2021) | Coordenadas UTM | | Altitud (m s.n.m) | Departamento, Provincia, Distrito |
|---------------------|-----------------|-------------|----------------------|-----------------------------------|
| | Norte | Este | | |
| Octubre | 8918040.236 | 0372919.726 | 2898 | Huánuco, Cochabamba, Churubamba |
| Diciembre | 9376263.433 | 773422.944 | 424 | Amazonas, Bagua, Bagua |

3.3 Materiales y equipos

3.3.1 Materiales de laboratorio

- Columna HPLC amino: LiChro CART® 250 - 4,6 Purospher® STAR NH₂ 5 µm
- Cubetas de cuarzo para el espectrofotómetro
- Filtros de membrana para jeringa (nylon 0.22 µm)
- Micropipetas de volúmenes: 20-200 µL, 100-1000 µL, 500-5000 µL
- Papel filtro N°4 (Marca: Whatman)

3.3.2 Reactivos y solventes

- Acetonitrilo P.A. para cromatografía líquida (Marca: Supelco)
- Ácido gálico P.A. (Marca: Sigma Aldrich)
- Ácido 3,5 Dinitrosalisílico (DNS) P.A (Marca: Sigma Aldrich)
- Ácido sulfúrico 95 – 97 % P.A. (Marca: Fermont)
- Agua destilada
- Agua grado HPLC
- Bisulfito de sodio anhidro (Marca: Sigma Aldrich)
- Carbonato de sodio (1N) (Marca: JT Baker)
- Estándares de glucosa, kestosa, nistosa, glucosa, fructosa (Marca: Sigma Aldrich)
- Etanol P.A. (Marca: Fermont)
- Hidróxido de sodio en pellets (Marca: JT Baker)
- Reactivo de Folin Ciocalteu (2N) (Marca: Sigma Aldrich)
- Reactivo de DPPH (radical-difenil-1-picrilhidrazil) (Marca: Sigma Aldrich)
- Tartrato de potasio y sodio (Marca: Sigma Aldrich)
- Vanilina (Marca: CDH)

3.3.3 Equipos

- Agitador magnético con temperatura (MS-H280)
- Balanza analítica (Ohaus, modelo Px224)
- Baño María (Daiman scientific)
- Campana extractora del laboratorio
- Conductímetro (EC800)
- Cromatógrafo de fase líquida de alta resolución con detector de índice de refracción (HPLC-RID) (Marca: Thermo scientific, modelo ultimate 3000)
- Cromatógrafo líquido de ultra-alta performance acoplado a espectrómetro de masas (LC-MS MS).
- Detector de índice de refracción (Thermo scientific, Refractomax 521)
- Espectrofotómetro UV -VISIBLE (Genesis)
- Estufa (VWR)
- Potenciómetro (Schott Instruments 074220)
- Refrigeradora (Electrolux, modelo ERD90G2HP1)

3.4 Elaboración del jarabe de yacón por el INDDA

Las raíces de yacón de ambas procedencias, se trasladaron hasta las instalaciones del INDDA, preservando la cadena de frío en todo momento. El proceso de elaboración del jarabe, inicia con la etapa de lavado, escobillado y desinfección, mediante la frotación y sumersión de las raíces en hipoclorito al 0.05% por 10 minutos, para proceder con el pelado profundo utilizando un pelador. Seguidamente, se sumergieron las raíces de yacón peladas, en una solución que contiene ácido ascórbico y ácido cítrico, a razón de 1 g de ácido ascórbico con 1 g de ácido cítrico en 2 L de agua por cada kg de yacón. Se realizó la etapa del trozado, prensado con máquina y filtrado en tela de tocuyo. Finalmente, se concentró al vacío con temperaturas entre 55 - 65 °C con una presión entre -600 a - 700 mmHg por una hora, obteniéndose un jarabe con 73 – 78 °Brix y se procedió a filtrar nuevamente, envasar, enfriar y almacenar. Se muestra el flujograma en el Anexo 1.

3.5 Preparación del extracto del jarabe de yacón

El jarabe de yacón entregado por el INDDA, se trasvasó a envases de vidrio ámbar de 2 mL de capacidad, aproximadamente, se utilizó 74 frascos, para reducir el riesgo de contaminación, se trabajó dentro de una cabina de flujo laminar, previamente expuesta a radiación UV, ver Figura 4. Para el desarrollo de las pruebas aceleradas, se distribuyeron los frascos en tres estufas a temperaturas de 45, 65 y 85 °C respectivamente. Al finalizar el tratamiento térmico en las muestras, se extrajeron los metabolitos activos, utilizando el solvente etanol al 70% para todos los métodos; acto seguido, se procedió a agitar por 5 minutos para todos los métodos. Finalmente, se filtraron obteniendo extractos al 10 % (peso de jarabe/volumen de solvente) en los cuales se realizaron los análisis respectivos.

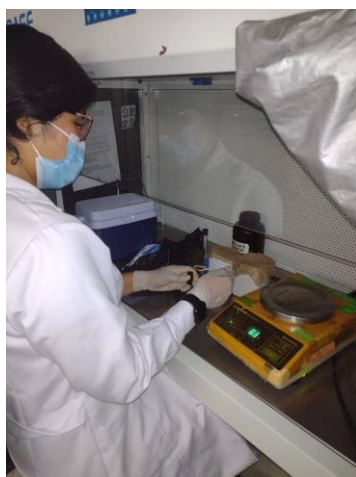


Figura 5. Trasvase de las muestras de jarabes de yacón de ambas procedencias hacia frascos ámbar manteniendo las condiciones de esterilidad y oscuridad.

3.6 Métodos de análisis

Se realizaron pruebas preliminares a los jarabes de yacón de ambas procedencias, Huánuco y Amazonas, con la finalidad de evaluar el jarabe con mayor contenido de FOS, fructosa y glucosa; para ello se realizaron las pruebas aceleradas a temperatura ambiente, 45 y 65 °C en un periodo de tiempo de 18 horas. Tras la obtención del jarabe objetivo, se llevaron a cabo, las pruebas definitivas en el jarabe elegido, en las cuales se evaluaron los efectos de las temperaturas de 45, 65 y 85 °C, durante un tiempo de siete días, en cada uno de los indicadores de calidad.

3.6.1 Análisis para la caracterización fisicoquímica del jarabe

a) Sólidos solubles (°Brix)

Se determinó los grados brix mediante refractometría, la cual consiste en la propiedad intrínseca de las sustancias al desviar los haces de luz que intentan atravesar su superficie a una temperatura determinada. AOAC 931.12 (2005).

b) pH

Se determinó el pH mediante un potenciómetro el cual registra la concentración de protones dentro de la solución a una temperatura determinada. AOAC 981.12 (2005)

3.6.2 Determinación de fructooligosacáridos y azúcares reductores por HPLC-RID

La cuantificación de la variación en las cantidades de FOS (kestosa, nistosa), fructosa, glucosa en el jarabe de yacón, se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución con detector de índice de refracción (HPLC-RID). Se realizó la curva de calibración de cada estándar, preparando un stock y realizando diluciones con agua ultrapura como solvente. Las muestras previamente tratadas se inyectaron, y luego se obtuvieron los cromatogramas correspondientes, donde se cuantificó cada analito. En primera instancia, se realizaron los análisis para los jarabes de ambas procedencias, para seleccionar el jarabe de mayor contenido de FOS y posteriormente, realizar el análisis con las pruebas aceleradas del jarabe seleccionado. El procedimiento según Foitzich (2013) con algunas modificaciones, se encuentra detallado en el Anexo 2.

3.6.3 Determinación de azúcares reductores por el método DNS

La determinación del contenido de azúcares reductores se realizó por el método colorimétrico del ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS) según Miller *et al.*, (1959) con algunas modificaciones. Consiste en la reacción de óxido - reducción, en un medio alcalino del DNS con los azúcares reductores. El DNS reacciona con el grupo reductor de la glucosa y fructosa para formar un compuesto rojo - marrón que tiene máxima absorción a 540 nm. El procedimiento rectificado por Mescua (2017) con algunas modificaciones, se encuentra detallado en el Anexo 3. Se obtuvieron las curvas de calibración para los estándares glucosa y fructosa que se observan en el Anexo 8.

3.6.4 Determinación de la capacidad antioxidante

La determinación de la capacidad antioxidante se realizó usando el método de inhibición de los radicales 2,2'-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), desarrollado por Blois (1958) con modificaciones, basado en la decoloración de un azul violeta característico del radical DPPH que tiene un electrón desapareado, frente a un compuesto antioxidante que dona su electrón y se vuelve a su forma reducida de hidrazina mostrando un color claro inicial (Alam, Bristi and Rafiqzaman, 2013). El procedimiento se encuentra en el Anexo 6.

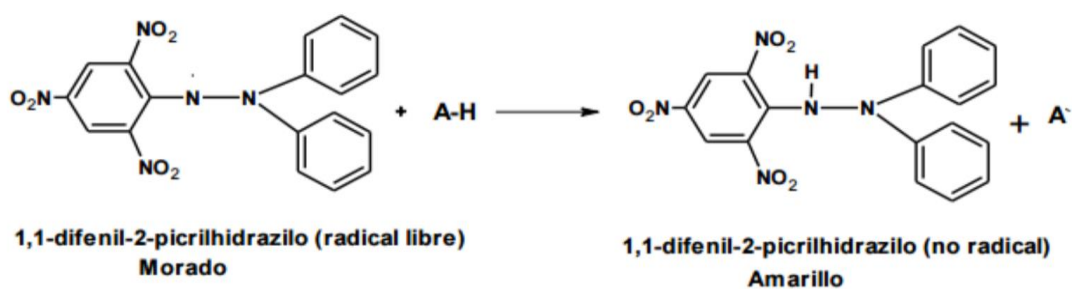


Figura 6. Reducción del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo con su característico cambio de color
FUENTE: Adaptado de (Molyneux, 2004)

3.6.5 Caracterización química de compuestos por LC-MS

El análisis LC-MS, se realizó con un sistema UHPLC con una fuente de ionización (ESI) según Cabanillas *et al.*, (2021), con algunas modificaciones. La fase móvil utilizada fue agua con 0.1% ácido fórmico (A) y acetonitrilo con 0.1% ácido fórmico (B); la gradiente empleada consistió: (0-1) min 10% B; (19-21) min 100% B; (21.1-24) min 10% B, en una columna para azúcares C18 (150 x 2.1 mm, 1.6 μ m) y con un flujo 0.25 mL/min manteniendo una temperatura de 40 °C con un volumen de inyección de 3 μ L. Las condiciones del MS fueron las siguientes: modo de ionización negativo a una temperatura del capilar a 280 °C y una temperatura del calentador de gas a 350 °C. Los compuestos fueron supuestamente identificados en base a su peso molecular y por comparación con los datos publicados.

3.7 Diseño experimental para la estimación del tiempo de vida

Para estimar el tiempo de vida útil del jarabe de yacón se tomaron los siguientes indicadores de calidad:

- Concentración de los fructooligosacáridos (kestosa y nistosa)
- Concentración de los azúcares reductores
- Capacidad antioxidante

Se realizaron ensayos preliminares a los jarabes de ambas procedencias, para determinar concentraciones de kestosa, nistosa, fructosa y glucosa. El día inicial se dispensaron 15 frascos ámbar con jarabe en cada estufa. Después de las pruebas aceleradas, se extrajeron 2 frascos de cada estufa por día. Los ensayos se realizaron por cuadruplicado para cada indicador de calidad (FOS, azúcares reductores y antioxidantes) durante una semana. El diseño experimental se puede observar con mayor detalle en la Figura 6.

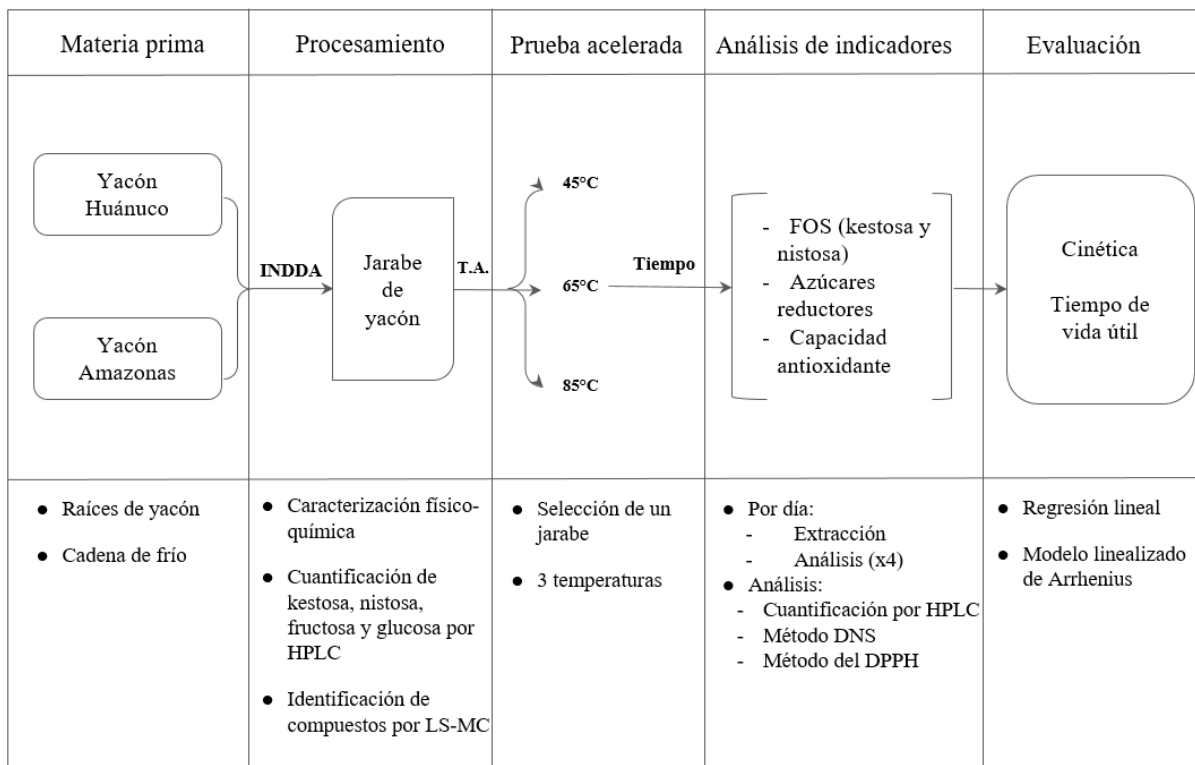


Figura 7. Esquema del diseño experimental.

3.8 Análisis cinético

El comportamiento cinético se determina mediante ecuaciones que describen un modelo cinético, pudiendo ser, de orden cero o primer orden porque siguen una distribución lineal o exponencial respectivamente (ecuación 1 y 2), para cada indicador de calidad, FOS, y capacidad antioxidante, estas ecuaciones son validadas a una temperatura determinada.

$$A = A_0 - k_0t \quad \dots\dots \text{ecuación (1)}$$

$$\ln(A/A_0) = -k_1t \quad \dots\dots \text{ecuación (2)}$$

La constante de velocidad es estimada a partir de un análisis de regresión lineal. La relación entre la temperatura y la constante, se le atribuye a la ecuación de Arrhenius, ecuación 3.

$$\ln(k) = \ln(k_0) + \left[\frac{E_a}{R_T} \left(\frac{1}{T_0} - \frac{1}{T} \right) \right] \quad \dots\dots \quad \text{ecuación (3)}$$

Dónde: E_a es la energía de activación expresada en kJ/mol, R_T es la constante universal de los gases con un valor de 8.3145 J/mol K, T_0 es la temperatura de referencia en Kelvin y T es la temperatura absoluta (Le *et al.*, 2022).

3.8.1 Determinación del orden de reacción (n)

Se realiza mediante la tabulación de los datos calculados de la regresión lineal para obtener las ecuaciones de tendencia, de las cuales, se emplearon las variables, pendientes, intercepto y coeficiente de correlación para determinar el orden de reacción (Avery, 2009).

3.8.2 Determinación de la constante de velocidad de reacción (k)

Mediante el modelo de Arrhenius, se describe matemáticamente el efecto que producen las temperaturas a los indicadores evaluados. La constante de velocidad de reacción (k) fue determinada por la pendiente de las ecuaciones, y es empleada para obtener los valores de la variación del $\ln(k)$ versus $1/T(k)$ lo que permite predecir el tiempo de vida útil (Atkins & Jones, 2013).

3.9 Análisis estadístico

Los datos recabados durante las pruebas aceleradas de cada indicador de calidad, se presentaron como el promedio \pm desviaciones estándar por cuadruplicado. Se realizó el análisis de varianzas (ANOVA), y las comparaciones múltiples se evaluaron con la prueba Fisher a un nivel de significancia de $p < 0,05$, los cálculos estadísticos se realizaron con el software Minitab 19. Se ejecutó la prueba de confiabilidad de las pruebas aceleradas de vida útil. Se realizó un análisis de correlación lineal simple y se ajustaron los valores al modelo linealizado de Arrhenius para estimar la vida útil de cada indicador de calidad y el análisis de gráficas factoriales. Los ensayos cromatográficos se realizaron por triplicado, las áreas de los picos promediados se usaron para calcular las concentraciones de los analitos.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Caracterización del jarabe de yacón

Las características generales de los jarabes de yacón procedentes de Huánuco y Amazonas, se presentan en la Tabla 4. Se evalúan parámetros como el pH, sólidos solubles, densidad y peso.

Tabla 4: Caracterización de los jarabes de yacón procedentes de Huánuco y Amazonas

| Características | Jarabe de Huánuco | Jarabe de Amazonas |
|--------------------------|-------------------|--------------------|
| Peso (kg) | 1.32 | 1.26 |
| pH | 5.27 | 5.27 |
| Sólidos solubles (°Brix) | 70.5 | 72.5 |
| Densidad (g/mL) | 1.413 | 1.397 |

El procesamiento de las raíces de yacón de ambas procedencias, hasta la obtención de jarabes se realizó dentro de las instalaciones del INDDA. En la parte final del proceso, se concentró al vacío y se obtuvo como resultados, jarabes con una concentración de sólidos solubles entre 70 -78 °Brix y un pH entre 4.78 - 5.45 a una temperatura entre 55 a 65 °C. Según indican Silva *et al.*, (2018), valores de pH similares corresponden a la etapa donde se sumergen las raíces en una solución de ácido ascórbico y ácido cítrico, con la finalidad de inactivar enzimas que provocan el pardeamiento enzimático del yacón cuando es materia prima. En la presente investigación, se obtuvo un pH superior a 4, el cual es un valor recomendado por el autor, lo que nos indica una buena conservación de los FOS en la etapa de vida en anaquel, prolongando el tiempo de vida útil.

Manrique *et al.*, (2005), afirman que la solución antioxidante de ácido ascórbico junto con el ácido cítrico, reducen el pardeamiento al disminuir la acidez del medio, que se traduce, como una inhibición de las principales enzimas del tipo oxidasas, durante el proceso de la obtención del jugo y del jarabe de yacón; sin embargo, el efecto negativo de la acidez, es el incremento de la velocidad de conversión de los FOS hacia azúcares simples durante el almacenamiento.

Algunos autores como Ramos *et al.*, (2019), sostienen que las raíces de yacón tienen un aumento de la cantidad de sólidos solubles en una relación directa con el incremento de los azúcares reductores, debido al fraccionamiento de los enlaces entre las moléculas de oligofruktosas por la hidrólisis, producto del tiempo en almacenamiento. Lo mencionado anteriormente, podría explicar el mayor valor de sólidos solubles del jarabe de Amazonas respecto al jarabe de Huánuco. Por otro lado, la densidad normalmente señala la concentración de azúcares totales y el nivel de saturación de estos en el jarabe (Fukami *et al.*, 2019), por lo que, se podría decir que la concentración de azúcares en el jarabe de Huánuco es mayor que en el jarabe de Amazonas.

4.2 Caracterización química de los compuestos por LC-MS de jarabes de yacón de ambas procedencias

La caracterización de los metabolitos que contienen los jarabes de yacón de ambas procedencias, Huánuco y Amazonas, se realizaron mediante la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS). Los compuestos identificados se muestran desde la Tabla 5 hasta la Tabla 9. Los cromatogramas de ambos jarabes se muestran en el Anexo 10.

Se observa en la Tabla 5, el resumen de los azúcares presentes en ambos jarabes de yacón (*análisis cualitativo*). Asimismo, se observa sacarosa, FOS de diferentes grados de polimerización, los de menor grado kestosa y nistosa. Al mismo tiempo los tipos de inulina con diferentes grados de polimerización.

En la investigación de Dionisio *et al.*, (2018) se precisa que los FOS en las diferentes etapas del proceso de obtención del jarabe de yacón, muestran variaciones en las concentraciones entre cada una de las etapas, debido a que, los azúcares con mayor grado de polimerización se descomponen en moléculas de menor peso molecular, esto demuestra que son susceptibles a los cambios de temperatura, exposición a la luz, etc.

En la Tabla 6 se contempla la presencia de isómeros de los compuestos fenólicos que comparten ambos jarabes. En el estudio de Pacheco *et al.*, (2019) realizado en el Ecuador, realizaron la caracterización de los compuestos fenólicos de los siguientes alimentos yacón, mashua, camote y olluco; mediante la cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas con ionización electrospray y detección de diodo array (HPLC-DAD-ESI/MS); se identificaron nueve compuestos no flavonoides como los derivados del ácido hidroxicinámico en el yacón.

Tabla 5: Perfil ILC-MS de los azúcares encontrados en los jarabes de yacón de la procedencia Huánuco y Amazonas

| N° | Identificación | ² TR (min) Huánuco | TR. (min) Amazonas | ³ MS-ESI ⁻ Huánuco | MS-ESI ⁻ Amazonas | Masa nominal | Fórmula molecular | Error (ppm) Huánuco | Error (ppm) Amazonas |
|----|---|----------------------------------|-----------------------|---|---------------------------------|--------------|---|------------------------|-------------------------|
| 1 | DP8 inulina-tipo fructooligosacárido | 1.84 | 1.86 | 1359.4307 [M+FA-H] | 1359.4307 [M+FA-H] | 1314 | C ₄₈ H ₈₂ O ₄₁ | -0.15 | 0.30 |
| 2 | DP7 inulina-tipo fructooligosacárido | 1.85 | 1.87 | 1197.3777 [M+FA-H] | 1197.3777 [M+FA-H] | 1152 | C ₄₂ H ₇₂ O ₃₆ | 0.21 | 0.21 |
| 3 | DP6 inulina-tipo fructooligosacárido | 1.86 | 1.88 | 1035.3250 [M+FA-H] | 1035.3246 [M+FA-H] | 990 | C ₃₆ H ₆₂ O ₃₂ | 0.44 | -0.03 |
| 4 | 1F- Fructofuranosilnistosa | 1.87 | 1.88 | 873.2723 [M+FA-H] | 873.2722 [M+FA-H] | 828 | C ₃₀ H ₅₂ O ₂₆ | 0.63 | 0.50 |
| 5 | Nistosa | 1.89 | 1.90 | 711.2197 [M+FA-H] | 711.2194 [M+FA-H] | 666 | C ₂₄ H ₄₂ O ₂₁ | 0.99 | 0.64 |
| 6 | 1-Kestosa | 1.90 | 1.90 | 549.1670 [M+FA-H] | 549.1668 [M+FA-H] | 504 | C ₁₈ H ₃₂ O ₁₆ | 1.55 | 1.22 |
| 7 | Sacarosa | 1.91 | 1.93 | 341.1086 | 341.1085 | 342 | C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ | 2.35 | 2.00 |

¹LS-MS: Cromatografía líquida de ultra - alta performance acoplado a espectrómetro de masas, ²TR: Tiempo de retención, ³MS-ESI: Espectrometría de masas con ionización electrospray.

Tabla 6: Perfil 1LC-MS de los compuestos fenólicos encontrados en los jarabes de yacón de la procedencia Huánuco y Amazonas

| N° | Identificación | 2TR (min) Huánuco | TR (min) Amazonas | 3MS- ESI- Huánuco | MS-ESI- Amazonas | Masa nominal | Fórmula molecular | Error (ppm) Huánuco | Error (ppm) Amazonas |
|----|--|----------------------|----------------------|-------------------------|---------------------|-----------------|---|---------------------------|----------------------------|
| 1 | Ácido cafeoil-2,7-anhidro- D-glicero-β-D m-galacto-oct-2-ulopiranosónico (isómero 1) | 4.32 | 4.31 | 397.0774 | 397.0778 | 398 | C ₁₇ H ₁₈ O ₁₁ | 2.07 | 3.08 |
| 2 | Ácido cafeoil-2,7-anhidro- D-glicero-β-D -galacto-oct-2-ulopiranosónico (isómero 2) | 5.54 | 5.57 | 397.0774 | 397.0778 | 398 | C ₁₇ H ₁₈ O ₁₁ | 2.15 | 3.08 |
| 3 | Ácido cafeoilquínico (isómero 2) | 8.54 | 8.56 | 353.0878 | 353.0881 | - | C ₁₆ H ₁₈ O ₉ | 3.00 | 3.69 |
| 4 | Ácido dicafeoilglucárico (isómero 1) | 10.30 | 10.30 | 533.0939 | 533.0941 | 534 | C ₂₄ H ₂₂ O ₁₄ | 2.53 | 2.77 |
| 5 | Ácido 4,5-di-O-cafeoil-2,7- anhidro-D -glicero-β-D-galacto-oct-2-ulopiranosónico | 10.90 | 10.91 | 559.1097 | 559.1096 | 560 | C ₂₆ H ₂₄ O ₁₄ | 2.70 | 2.48 |
| 6 | Ácido dicafeoilglucárico (isómero 2) | 11.00 | 10.98 | 533.0941 | 533.0940 | 534 | C ₂₄ H ₂₂ O ₁₄ | 2.64 | 2.64 |
| 7 | Ácido dicafeoilglucárico (isómero 3) | 11.31 | 11.25 | 533.0939 | 533.0939 | 534 | C ₂₄ H ₂₂ O ₁₄ | 2.77 | 2.52 |
| 8 | Ácido 3,4-di-O-cafeoilquínico | 11.92 | 11.92 | 515.1196 | 515.1196 | 516 | C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂ | 2.27 | 2.38 |
| 9 | Ácido 3,5-di-O-cafeoilquínico | 12.28 | 12.37 | 515.1197 | 515.1195 | 516 | C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂ | 2.50 | 2.15 |
| 10 | Ácido tricafeoilglucárico | 12.55 | 12.55 | 695.1256 | 695.1256 | 696 | C ₃₃ H ₂₈ O ₁₇ | 1.92 | 1.92 |
| 11 | Ácido dicafeoilglucárico (isómero 4) | 12.50 | 12.56 | 533.0937 | 533.0937 | 534 | C ₂₄ H ₂₂ O ₁₄ | 2.19 | 2.08 |
| 12 | Ácido cafeoilquínico (isómero 1) | - | 4.96 | - | 533.0881 | - | C ₁₆ H ₁₈ O ₉ | - | 3.86 |

¹LS-MS: Cromatografía líquida de ultra - alta performance acoplado a espectrómetro de masas, ²TR: Tiempo de retención, ³MS-ESI-: Espectrometría de masas con ionización electrospray.

Se evidencia en la Tabla 6, que en los compuestos fenólicos el predominio de compuestos derivados del ácido caféico, coincide con lo reportado por Padilla-González *et al.*, (2020), quienes identificaron estructuralmente los isómeros del ácido caféico, localizados en las distintas partes del yacón, hojas, raíces, tallos y flores. Por lo que, se le atribuye una gran diversidad de compuestos fenólicos en la familia de las Asteráceas.

Se prueba la presencia de ácidos orgánicos en los jarabes de yacón de ambas procedencias, Huánuco y Amazonas (Tabla 7), cabe mencionar, la importancia que tienen respecto a los compuestos convencionales, por lo que, el producto brinda un valor nutricional más alto (Popa *et al.*, 2019). Así mismo, en la tabla se señala la presencia de tres ácidos orgánicos en el jarabe de Huánuco y el jarabe de Amazonas contiene un ácido orgánico adicional (ácido quínico). Desde otro punto de vista, es pertinente indicar que otros vegetales como el brócoli, también contiene ácidos orgánicos incluido el ácido quínico como lo reportan Shi *et al.*, (2019).

Tabla 7: Perfil ¹LC-MS de los ácidos orgánicos encontrados en los jarabes de yacón de la procedencia Huánuco y Amazonas

| Nº | Identificación | ² TR (min) Huánuco | TR (min) Amazonas | ³ MS-ESI ⁻ Huánuco | MS-ESI ⁻ Amazonas | Masa nominal | Fórmula molecular | Error (ppm) Huánuco | Error (ppm) Amazonas |
|----|-----------------|-------------------------------|-------------------|--|------------------------------|--------------|---|---------------------|----------------------|
| 1 | Ácido quínico | - | 1.94 | - | 191.0553 | 192 | C ₇ H ₁₂ O ₆ | - | 1.70 |
| 2 | Ácido ascórbico | 2.09 | 2.09 | 175.0241 | 175.0240 | 176 | C ₆ H ₈ O ₆ | 2.43 | 1.92 |
| 3 | Ácido málico | 2.11 | 2.11 | 133.0133 | 133.0133 | 134 | C ₄ H ₆ O ₅ | 1.28 | 1.05 |
| 4 | Ácido cítrico | 2.72 | 2.74 | 191.0193 | 191.0193 | 192 | C ₆ H ₈ O ₇ | 3.36 | 3.36 |

¹LS-MS: Cromatografía líquida de ultra - alta performance acoplado a espectrómetro de masas, ²TR: Tiempo de retención, ³MS-ESI⁻: Espectrometría de masas con ionización electrospray.

Los ácidos orgánicos anteriormente indicados, forman parte de estructuras más complejas en las plantas, tales como los taninos o la lignina, que aportan estabilidad a la estructura vegetal. Se liberan en las raíces por exudación o descomposición de la materia orgánica. De igual forma, el conjunto de ácidos orgánicos es usado por las plantas, como químicos con potencial alelopático, que activan el sistema de defensa de la planta como pesticidas naturales, interviniendo directa e indirectamente en el ecosistema (Anaya Lang *et al.*, 2019).

Se registra en la Tabla 8 la presencia del aminoácido arginina y su derivado fructosil piroglutamato. Los aminoácidos tales como la arginina, fenilalanina, triptófano y tirosina

están presentes en las rutas de síntesis para el desenvolvimiento metabólico de las plantas, formando parte de estructuras mayores, tales como, los compuestos fenólicos u otras estructuras. Es importante conocer que el compuesto piroglutamato, derivado del ácido glutámico, es comercializado como suplemento dietético (Guillena Townley, 2000). Sin embargo, visto desde otro ángulo, es preciso señalar que algunos aminoácidos junto con ciertos compuestos fenólicos convergen en reacciones de condensación o polimerización, causando el inicio del pardeamiento enzimático (Jiménez, 2017).

Tabla 8: Perfil 1LC-MS del aminoácido y su derivado encontrados en los jarabes de yacón de la procedencia Huánuco y Amazonas

| N° | Identificación | ² TR (min) Huánuco | TR (min) Amazonas | ³ MS-ESI Huánuco | MS-ESI Amazonas | Masa nominal | Fórmula molecular | Error (ppm) Huánuco | Error (ppm) Amazonas |
|----|---------------------------|----------------------------------|----------------------|--------------------------------|--------------------|--------------|--|------------------------|-------------------------|
| 1 | Arginina | 1.73 | 1.70 | 173.1037 | 173.1038 | 174 | C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂ | 2.36 | 2.99 |
| 2 | N-Fructosil piroglutamato | 2.11 | - | 290.0879 | - | 291 | C ₁₁ H ₁₇ NO ₈ | 2.92 | - |

¹LS-MS: Cromatografía líquida de ultra - alta performance acoplado a espectrómetro de masas, ²TR: Tiempo de retención, ³MS-ESI-: Espectrometría de masas con ionización electrospray

En la Tabla 9 se aprecia el compuesto fituberina que es un metabolito secundario poco común de encontrarlo, pertenece al grupo de las fitoalexinas procedentes de los fenoles (Muñiz Amaya, 2018). Su principal acción, la defensa de las plantas, brindando resistencia a enfermedades, por las sustancias tóxicas que segregan, solo cuándo, la planta se siente amenazada o es atacada por algún patógeno. En este proceso se desencadenan señales que liberan mucopolisacáridos y ciertas proteínas, que persisten aun en los frutos de las plantas (Andrade M., 2018).

Tabla 9: Perfil 1LC-MS de fituberina encontrado en el jarabe de yacón de Amazonas y Huánuco

| Identificación | Procedencia | ² TR (min) | ³ MS-ESI | Masa nominal | Fórmula molecular | Error (ppm) |
|----------------|-------------|-----------------------|---------------------|--------------|--|-------------|
| Fituberina | Huánuco | 17.80 | 293.1757 | 294 | C ₁₇ H ₂₆ O ₄ | 3.15 |
| | Amazonas | 17.94 | 293.1757 | 294 | C ₁₇ H ₂₆ O ₄ | 3.05 |

¹LS-MS: Cromatografía líquida de ultra - alta performance acoplado a espectrómetro de masas, ²TR: Tiempo de retención, ³MS-ESI-: Espectrometría de masas con ionización electrospray

En general, los tratamientos con temperaturas provocan una reducción de los compuestos en las plantas y sus derivados, inclusive en su crecimiento normal (Khan *et al.*, 2020). Todas las fitoalexinas son, en su inmensa mayoría, compuestos fenólicos que se utilizan en la industria por sus beneficios en los cultivos (Garavito, 2018).

4.3 Determinación de los estándares de kestosa, nistosa, fructosa y glucosa por HPLC-RID

Las condiciones cromatográficas, están compuestas por la fase móvil, una mezcla de acetonitrilo: agua en una proporción de (70:30 v/v) para los FOS y la proporción (80:20 v/v) para fructosa y glucosa; en una columna amino (Star NH₂, 5 µm); tasa de flujo 1 mL/min, volumen de inyección 10 µL, temperatura de la columna 35°C. Se realizaron 10 corridas de cada estándar para determinar los puntos que sirvieron para generar la curva estándar con exactitud. Las curvas estándares de los patrones por HPLC-RID se encuentran detalladas en el Anexo 7.

En el siguiente cromatograma para los estándares de kestosa y nistosa (Figura 8) se muestran un tiempo de retención de 10.13 y 13.19 min respectivamente. En la Figura 9, el tiempo de retención para fructosa 7.07 min y para glucosa 8.40 min.

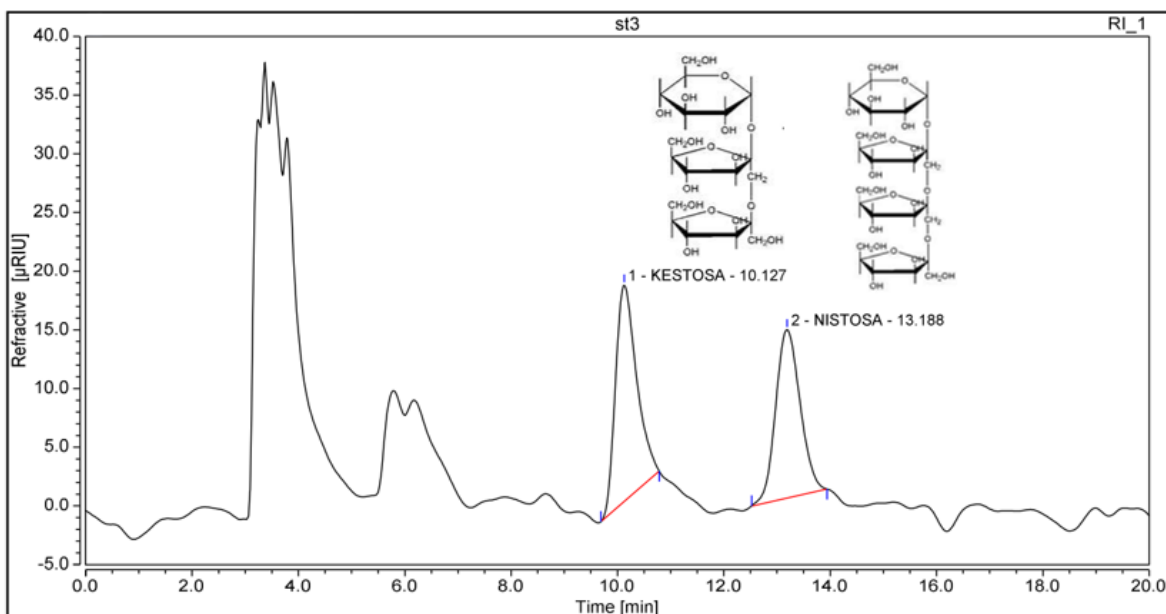


Figura 8. Cromatogramas de los estándares de kestosa y nistosa por HPLC-RID.

La investigación de Dos Santos Lima *et al.*, (2019), cuyo objetivo fue validar el método para determinar nistosa y kestosa, en jugo de uvas y en vino, en condiciones analíticas, columna amino, fase móvil acetonitrilo y etanol, en gradiente, a una temperatura del RID de 35°C. Se obtuvieron tiempos de retención de los productos que evaluaban, para kestosa 4.38 y nistosa 7.95, lo que difiere con los tiempos de retención para los mismos compuestos en el presente estudio.

González *et al.*, (2018), cuantificaron FOS en muestras de helado prebióticos preparadas, mediante cromatografía líquida, obteniendo tiempos de retención entre 17.2 y 21 min para kestosa y entre 15.6 y 19 min para nistosa, con temperatura de columna desde 70 a 90 °C, con fase móvil de agua, tasa de flujo 0.35 mL/min. Son valores superiores a los encontrados en el presente estudio. Por lo señalado, el tiempo de retención característico va a depender de las condiciones analíticas para una exacta reproducibilidad en el HPLC-RID.

Otros autores como Veena *et al.*, (2018), mencionan que los tiempos de retención para fructosa y glucosa de 4.16 y 4.83 minutos respectivamente para sus estándares. Lo cual indica que el método utilizado en cada extracción influye en los tiempos de retención.

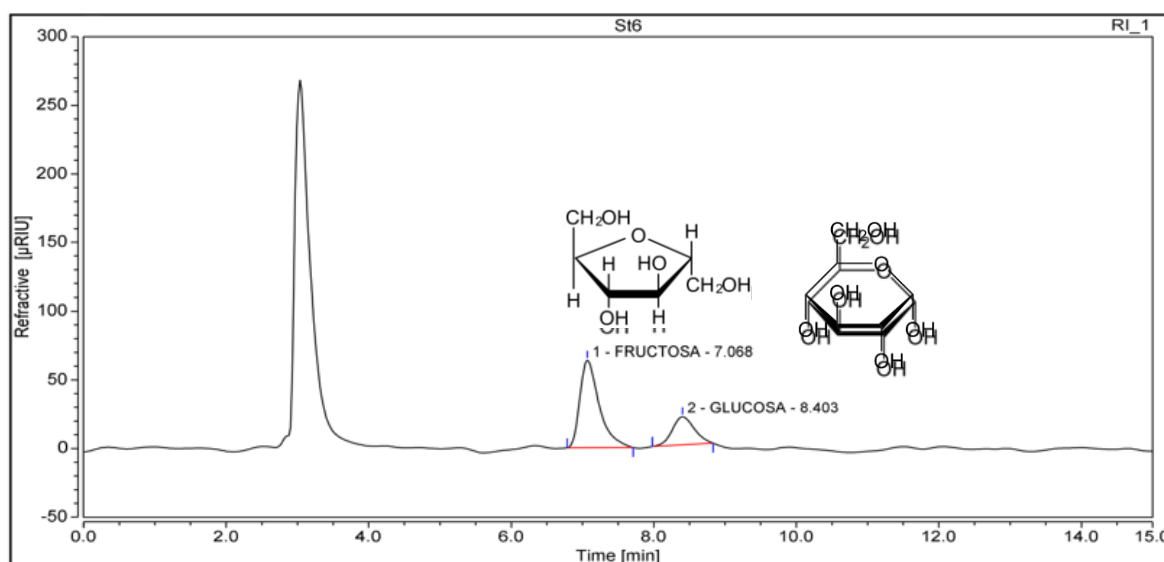


Figura 9. Cromatogramas de los estándares de fructosa y glucosa por HPLC.

En la Tabla 10 se resume los tiempos de retención de diferentes estudios que determinan el tiempo de retención por cromatografía líquida de alta performance (HPLC) que permite la comparación con los metabolitos en estudio.

Tabla 10: Tiempos de retención de los fructanos y azúcares simples para diferentes productos

| Metabolito | ¹ TR | País, Producto | Autor, año | Equipo |
|-----------------|-------------------|-----------------------------|--------------------------------|--|
| Kestosa | 10.13 | Perú, Jarabe de yacón | Presente estudio | HPLC-RID (Columna Amino) |
| Nistosa | 13.19 | | | |
| Kestosa | 4.38 | Brasil, Vino de uva | Dos Santos Lima et al., (2019) | HPLC-RID (Columna C ₁₈) |
| Nistosa | 7.95 | | | |
| Kestosa | Entre 17,2 y 21,0 | Colombia, Helado prebiótico | González et al., (2018) | HPLC-RID (Columna Sugar Pak) |
| Nistosa | Entre 15,6 y 19,0 | | | |
| Fructosa | 4.16 | India, Jarabe de palma | Veena et al. (2018) | HPLC-RID (Columna Amino) |
| Glucosa | 4.83 | | | |
| Fructosa | 7.07 | Perú, Jarabe de yacón | Presente estudio | HPLC-RID (Columna Amino) |
| Glucosa | 8.40 | | | |

¹TR: Tiempo de retención.

4.4 Cuantificación de kestosa, nistosa, fructosa y glucosa a tres temperaturas diferentes por HPLC-RID del jarabe de yacón procedente de Huánuco.

En la Tabla 11 se muestra resultados de la cuantificación de los azúcares del jarabe de yacón procedente de Huánuco, por HPLC-RID, expuestos a tres temperaturas diferentes, temperatura ambiente (24.6 – 25.8 °C), 45 y 65 °C, en diferentes intervalos de tiempo, durante 18 horas. Los resultados se expresan en g/100g. Se observa una disminución en las concentraciones de los azúcares, respecto al tiempo de exposición al calor, sobre todo a partir de 10 horas en adelante, a excepción de glucosa; probablemente debido a una degradación de los complejos moleculares con mayor peso molecular, además, otros autores indican que el jarabe de agave, después de la exposición a temperaturas mayores a 50 °C, por un tiempo, aumenta el contenido de fructosa y glucosa, aproximadamente, en 93% del total de sólidos solubles (Willems & Low, 2012). Lo que evidencia la influencia de la temperatura en el proceso. Sin embargo, González-Montemayor *et al.*, (2022), menciona que jarabes de agave, por efectos de las temperaturas menor a los 50 °C, hidrolizan los enlaces en los azúcares de mayor grado y los complejos de inulina, provocando fragmentación y, consecuentemente, una disminución en el grado de polimerización de los azúcares, hasta obtener FOS de menor grado de polimerización o monosacáridos. Mientras que González-Montemayor *et al.*,

(2020) sugieren que por exposición a tratamiento térmico mayor de 70 °C la fructosa, sacarosa y los FOS llegan a su concentración máxima para después reducirse.

El estudio de Le *et al.*, (2022), muestra que a mayores temperaturas de proceso de un jarabe el tiempo de vida de la kestosa es mayor, en comparación a la nistosa, por ende, sus concentraciones son mayores. En el mismo estudio se obtiene una mayor concentración de fructosa respecto a glucosa, lo cual tiene similitud con la presente investigación.

Tabla 11: Concentraciones de fructanos y azúcares simples (g/100g) a tres temperaturas en un intervalo de tiempo del jarabe procedente de Huánuco.

| Tiempo horas de expo | Kestosa | | | Nistosa | | | Fructosa | | | Glucosa | | |
|----------------------|--------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|-------------------|-------------------|
| | ¹ TA ^{A B} | 45°C ^B | 65°C ^A | TA ^{A B} | 45°C ^B | 65°C ^A | TA ^{A B} | 45°C ^B | 65°C ^A | TA ^A | 45°C ^A | 65°C ^A |
| 0 h | 9,555 ± 0,012a | 8,255 ± 0,012a | 9,182 ± 0,059a | 8,372 ± 0,048a | 6,487 ± 0,056a | 9,860 ± 0,050a | 6,708 ± 0,100a | 6,253 ± 0,050a | 7,563 ± 0,051a | 3,523 ± 1,206a | 3,185 ± 0,054b | 2,464 ± 0,051e |
| 2 h | 9,150 ± 0,012b | 7,936 ± 0,013b | 8,997 ± 0,086b | 8,224 ± 0,059b | 6,279 ± 0,055b | 9,044 ± 0,050b | 6,464 ± 0,050b | 6,065 ± 0,107b | 6,902 ± 0,100b | 3,495 ± 0,501b | 3,081 ± 0,201b | 2,605 ± 0,110 d |
| 6 h | 8,470 ± 0,010c | 7,893 ± 0,012c | 8,976 ± 0,080b | 6,018 ± 0,077c | 5,664 ± 0,051c | 8,183 ± 0,037c | 6,443 ± 0,051b | 5,445 ± 0,050c | 6,802 ± 0,100b,c | 3,464 ± 1,012b | 3,005 ± 0,104c | 2,826 ± 0,075 c |
| 10 h | 7,466 ± 0,013d | 7,555 ± 0,013d | 8,907 ± 0,048b | 5,965 ± 0,079c | 5,452 ± 0,050d | 6,799 ± 0,046d | 5,661 ± 0,050c | 5,263 ± 0,051d | 6,786 ± 0,054c | 3,297 ± 1,131c | 2,726 ± 0,037 d | 3,004 ± 0,011b |
| 14 h | 7,376 ± 0,012e | 7,272 ± 0,013e | 8,539 ± 0,116c | 5,234 ± 0,063d | 4,654 ± 0,050e | 6,648 ± 0,050e | 5,389 ± 0,055d | 5,219 ± 0,101d | 6,485 ± 0,054d | 3,178 ± 0,053d | 2,317 ± 0,101e | 3,026 ± 0,101b |
| 18 h | 6,695 ± 0,012f | 7,036 ± 0,012f | 8,422 ± 0,058c | 4,734 ± 0,073e | 4,324 ± 0,052f | 5,656 ± 0,050f | 5,305 ± 0,100d | 4,780 ± 0,053e | 6,181 ± 0,053e | 2,374 ± 0,052 e | 3,534 ± 0,051a | 3,312 ± 0,100a |

Cada valor se expresa como la media ± desviación estándar (n=3). Letras diferentes en la misma columna indican ser estadísticamente diferentes (p <0.05) según la prueba de comparación de Fisher (LSD). A, B Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes según la prueba de comparación por pares de Tukey. 1TA: Temperatura ambiente (25.2 °C)

4.5 Cuantificación de kestosa, nistosa, fructosa y glucosa a 65 °C por HPLC-RID del jarabe de yacón procedente del Amazonas.

En la Tabla 12 se muestran los resultados a una temperatura de 65 °C, podemos observar que la ketosa y nistosa disminuyen significativamente mientras que la glucosa presenta un aumento en su concentración. La influencia de una mayor temperatura permite mostrar una máxima actividad y cambios significativos en los niveles de concentración de monosacáridos (Singh & Singh, 2022). También, otros autores Wienberg *et al.*, (2022), aluden que los jarabes a temperaturas de 25 y 65 °C muestran estabilidad de los FOS de la conversión de azúcares de mayor grado de polimerización a los de menor., coincidiendo con lo reportado en la tabla 12. A hora bien, se infiere que hay una relación inversamente proporcional entre el contenido de los FOS y los monosacáridos mencionados. Zevallos & Acosta, (2016) muestran una tendencia similar al evaluar el efecto de la temperatura y el tiempo sobre el contenido de azúcares en el jarabe de yacón.

Tabla 12: Concentraciones de kestosa, nistosa, fructosa y glucosa (g/100g) a una temperatura 65 °C en un intervalo de tiempo

| Tiempo de exposición (horas) | Temperatura 65 °C | | | |
|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| | Kestosa (g/100g) ^C | Nistosa (g/100g) ^C | Fructosa (g/100g) ^A | Glucosa (g/100g) ^B |
| 0 | 6,799 ± 0,100 ^a | 5,424 ± 0,052 ^a | 12,866 ± 0,051 ^a | 7,496 ± 0,100 ^d |
| 2 | 6,407 ± 0,100 ^b | 5,409 ± 0,100 ^a | 12,683 ± 0,054 ^c | 7,328 ± 0,052 ^e |
| 6 | 4,926 ± 0,101 ^e | 5,230 ± 0,050 ^b | 12,674 ± 0,052 ^c | 7,758 ± 0,050 ^c |
| 12 | 5,088 ± 0,055 ^d | 5,025 ± 0,101 ^c | 12,790 ± 0,055 ^b | 8,288 ± 0,100 ^a |
| 18 | 5,445 ± 0,050 ^c | 4,590 ± 0,055 ^d | 12,365 ± 0,051 ^d | 8,109 ± 0,100 ^b |

Cada valor se expresa como la media ± desviación estándar (n=3). Letras diferentes en la misma columna indican ser estadísticamente diferentes (p <0.05) según la prueba de comparación de Fisher (LSD). A,B Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes según la prueba de comparación por pares de Tukey.

Igualmente, a mayores temperaturas se puede notar cambios significativos en las concentraciones, la hidrólisis de los FOS se va llevando a cabo con mayor velocidad, la completa degradación por el tiempo de exposición a una mayor temperatura. En la Tabla 12, se muestra los resultados de las concentraciones del jarabe de Amazonas obtenidas a una temperatura de 65 °C, se evidencia un aumento del monosacárido glucosa a razón de una disminución de los FOS y fructosa, similar situación se presenta en la purificación de FOS

(Cao *et al.*, 2022). Se puede decir que las raíces de yacón de diferentes procedencias, tienen distintas condiciones ecofisiológicas, por lo cual, el contenido de fructanos varían respecto a las localidades y al morfotipo de la raíz (Castro *et al.*, 2017; Campos *et al.*, 2012); a su vez, guardan relación con el contenido y el tipo de FOS en el jarabe de yacón según el presente estudio. Así, las características morfológicas y el contenido de los metabolitos, son consecuencia, tanto de factores genéticos como de las condiciones edafoclimáticas (suelo, fotoperiodo, temperatura, altura, precipitaciones, entre otros (Lancetti *et al.*, 2020; Pacheco *et al.*, 2019). Por lo mencionado, las condiciones de origen de la raíz modifican el producto final (jarabe de yacón), por esta razón, se explica las diferencias en la prueba acelerada a 65 °C, entre los jarabes procedentes de Huánuco y Amazonas.

En regiones con altitudes mayores a 2400 m s.n.m., el periodo del cultivo dura entre 10 a 12 meses; mientras que, en regiones menores de 1600 m s.n.m., es entre 7 y 8 meses (Saéñz *et al.*, 2016). Para el presente estudio, la cosecha en Huánuco (2898 m s.n.m.) se realizó en el mes de septiembre; a diferencia de Amazonas (424 m s.n.m.) realizado en mes de diciembre, hecho que tiene un impacto en los valores de sólidos solubles en la raíz. En la Tabla 13 se muestra la relación inversa del contenido de FOS y monosacáridos entre las raíces procedentes de Huánuco y Amazonas.

Tabla 13: Concentraciones de kestosa, nistosa, fructosa y glucosa de los jarabes

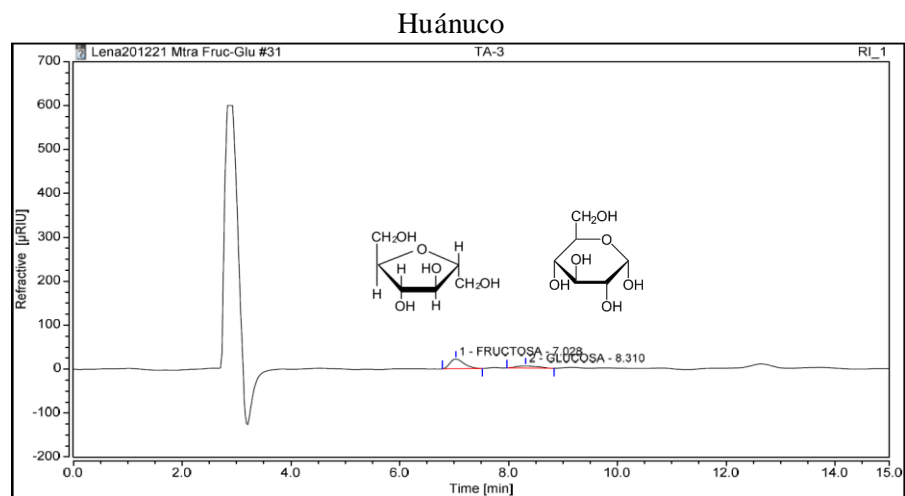
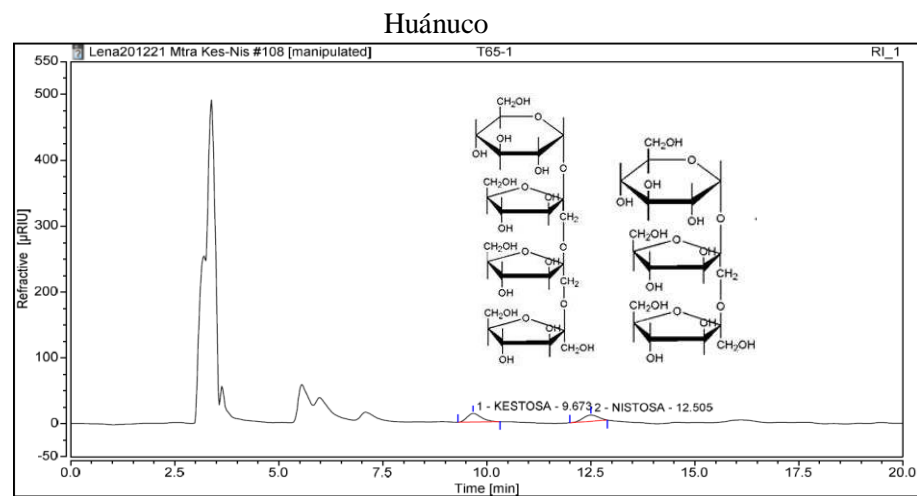
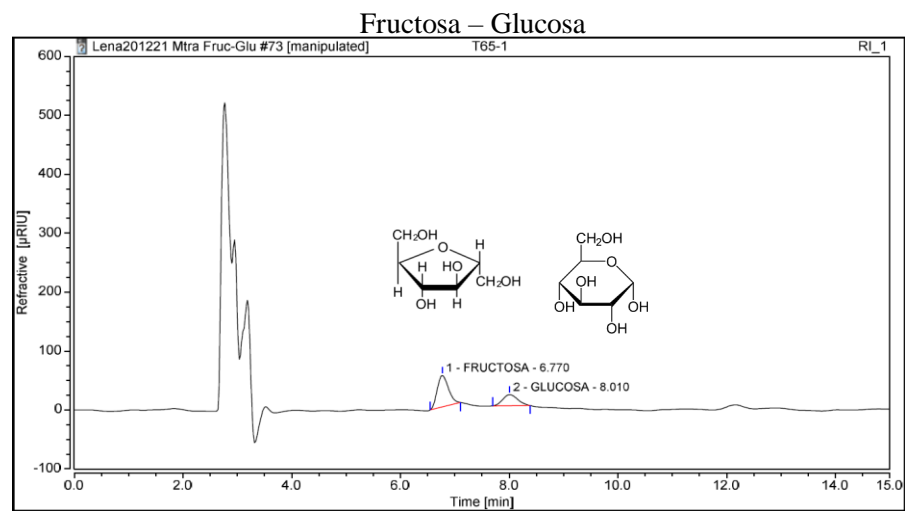
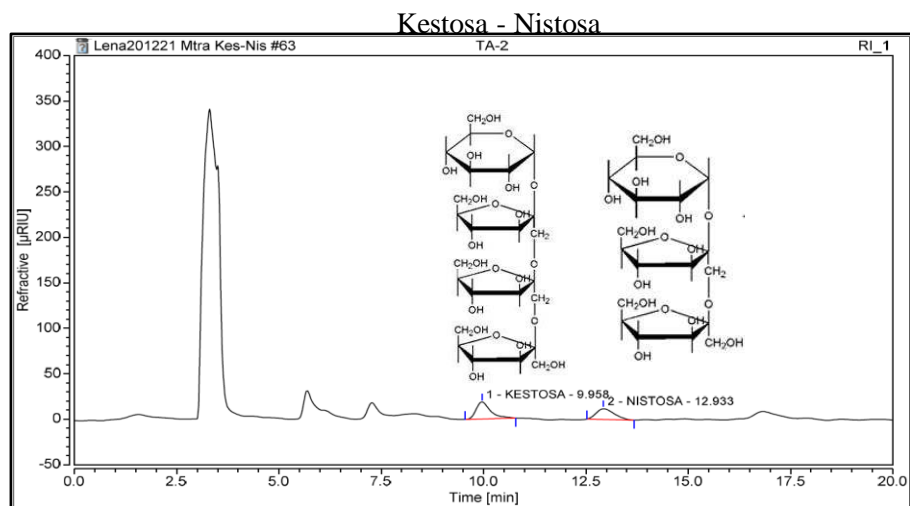
| Azúcares del jarabe de yacón g/100g | Procedencia | |
|--|--------------------------|---------------------------|
| | Huánuco | Amazonas |
| Kestosa ^{A, B} | 9,555±0,095 ^a | 6,799±0,103 ^c |
| Nistosa ^{A, B} | 8,372±0,182 ^b | 5,424±0,096 ^d |
| Fructosa ^A | 6,708±0,093 ^c | 12,866±0,105 ^a |
| Glucosa ^B | 3,523±0,096 ^d | 7,496±0,088 ^b |

Prueba a temperatura 65 °C. Cada valor se expresa como la media ± desviación estándar (n=3). Letras diferentes en la misma columna indican ser estadísticamente diferentes (p <0.05) según la prueba de comparación de Fisher (LSD). A,B Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes según la prueba de comparación por pares de Tukey.

Silva *et al.*, (2018), indican que, independientemente a la época de cosecha, las raíces cultivadas a 837 m s.n.m., muestran un mayor promedio en el contenido de sólidos solubles de bajo peso molecular; en comparación a los producidos a 113 m s.n.m, cuyo contenido de

sólidos solubles de bajo peso molecular es menor, por consiguiente, a mayor estrés hídrico (temperatura), se producen mayores reservas de fructanos, concordando con lo hallado en el jarabe de yacón. En cambio, (Roberfroid, 2004) menciona, que debido a la alta temperaturas ambientales a dicha altitud (878 m s.n.m.), lo que provoca una baja tasa de fotorespiración de las raíces, lo que induce un bajo consumo de los fructanos de reserva por lo cual, probablemente influye en el jarabe de yacón.

El tiempo de exposición a la temperatura, genera un cambio en la concentración de los fructanos en sus diferentes grados de polimerización de diversos alimentos fuentes de FOS. En la investigación de Cardelle-Cobas *et al.*, (2009), se evaluaron las concentraciones de los FOS en muestras de cebollas y ajos deshidratados bajo un tiempo de almacenamiento, a una temperatura de 50 °C por 12 días, obteniendo una disminución a diferencia de temperatura ambiente; de la misma forma se presencia en la presente investigación en el comportamiento cinético de los fructanos, fructosa y glucosa.



Amazonas

Amazonas

Figura 10. Cromatogramas con los contenidos de kestosa, nistosa, fructosa y glucosa presente en los jarabes de yacón de Huánuco y Amazonas.

En el cromatograma dado en la Figura 10, se observa que el jarabe procedente de Huánuco tiene las mayores concentraciones de FOS, en comparación al de Amazonas, por tal motivo, se tomó el jarabe de Huánuco para realizar las pruebas definitivas.

4.6 Variación en el contenido de los indicadores de calidad por las pruebas aceleradas

4.6.1 Contenido de kestosa y nistosa

En la Tabla 14, se muestran las variaciones, en el tiempo, de las concentraciones de kestosa y nistosa a temperatura ambiente (T.A.), 45 y 65 °C. Se obtuvieron registros del contenido hasta las 18 horas. Donde se observan las variaciones del contenido de FOS durante las pruebas aceleradas. Se observa en el tiempo de exposición térmica, las concentraciones de FOS sufren una reducción progresiva. A partir del tercer día, a 45 °C, la concentración de FOS ya no es detectable. Lo que evidencia la labilidad de la kestosa y nistosa a 45 °C, respecto al tiempo de exposición Similar caso se observa en Carranza *et al.*, (2015), donde los fructanos del agave sufren hidrólisis en el proceso hacia jarabe.

Tabla 14: Concentración de kestosa (g/100g) a ¹TA, 45°, 65°C en un intervalo de tiempo

| Tiempo de exposición (horas) | Kestosa (g/100g) | | |
|------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | TA ^A | 45°C ^A | 65°C ^A |
| 0 | 9.555 ± 0,050 ^a | 8.255 ± 0,100 ^a | 9.182 ± 0,100 ^a |
| 2 | 9.150 ± 0,051 ^b | 7.936 ± 0,053 ^b | 8.997 ± 0,053 ^b |
| 6 | 8.470 ± 0,052 ^c | 7.893 ± 0,100 ^c | 8.976 ± 0,100 ^c |
| 10 | 7.466 ± 0,050 ^d | 7.555 ± 0,000 ^d | 8.907 ± 0,000 ^d |
| 14 | 7.376 ± 0,050 ^d | 7.272 ± 0,050 ^d | 8.539 ± 0,050 ^d |
| 18 | 6.695 ± 0,056 ^e | 7.036 ± 0,000 ^d | 8.422 ± 0,000 ^d |

Cada valor se expresa como la media ± desviación estándar (n=3). Letras diferentes en la misma columna indican ser estadísticamente diferentes (p <0.05) según la prueba de comparación de Fisher (LSD). A, B Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes según la prueba de comparación por pares de Tukey. 1TA: Temperatura ambiente (25.2 °C).

Al observar la Tabla 15, los cambios de temperatura, pH y otros agentes externos, afectan las reacciones no enzimática y enzimática e interfieren en las reacciones moleculares, teniendo como consecuencia la inhibición parcial o total (Santos *et al.*, 2020). Lo que puede explicar lo acontecido en la presente investigación.

Tabla 15: Concentración de nistosa (g/100g) a ¹TA, 45° y 65 °C en un intervalo de tiempo

| Tiempo de exposición (horas) | Nistosa (g/100g) | | |
|------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | TA ^A | 45°C ^A | 65°C ^A |
| 0 | 8.372 ± 0,050 ^a | 6.487 ± 0,100 ^a | 9.860 ± 0,100 ^a |
| 2 | 8.224 ± 0,051 ^b | 6.279 ± 0,053 ^b | 9.044 ± 0,053 ^b |
| 6 | 6.018 ± 0,052 ^c | 5.664 ± 0,100 ^c | 8.183 ± 0,100 ^c |
| 10 | 5.965 ± 0,050 ^d | 5.452 ± 0,000 ^d | 6.799 ± 0,000 ^d |
| 14 | 5.234 ± 0,050 ^d | 4.654 ± 0,050 ^d | 6.648 ± 0,050 ^d |
| 18 | 4.734 ± 0,056 ^e | 4.324 ± 0,000 ^d | 5.656 ± 0,000 ^d |

Cada valor se expresa como la media ± desviación estándar (n=3). Letras diferentes en la misma columna indican ser estadísticamente diferentes (p <0.05) según la prueba de comparación de Fisher (LSD). A, B Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes según la prueba de comparación por pares de Tukey. ¹TA: Temperatura ambiente (25.2 °C).

Los FOS de bajo peso molecular, específicamente la kestosa y nistosa, han sido estudiados por Matusek *et al.*, (2008), a diferentes temperaturas, pH y tiempo de exposición al calor. En comparación al presente estudio, a temperaturas mayores a 60 °C y con intervalos de tiempo entre 1 y 3 horas, los fructanos de bajo peso molecular (1 y 2 grado de polimeración), aumentando la cantidad de dímeros por los procesos de hidrolisis, mientras que existe una mezcla de FOS de diferentes pesos moleculares. En paralelo a nuestro estudio, en cierto momento, decrece la cantidad de FOS de mayor peso para incrementarse la cantidad de los monómeros como la glucosa y fructosa.

Sin embargo, González-Montemayor *et al.*, (2020) mencionan que el jarabe de agave es un producto que se ve afectado por las temperaturas superiores a 70°C en la calidad de los FOS de bajo peso molecular, así tienden a aumentar ligeramente para posteriormente descender, lo que coincide en el comportamiento observado en la presente investigación.

4.6.2 Capacidad antioxidante

Se empleó la curva de calibración de la inhibición del radical DPPH por el estándar ácido gálico se puede ver en el Anexo 5. La Tabla 16 muestra la relación entre el porcentaje de inhibición del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) con las concentraciones de

polifenoles obtenidas a temperatura ambiente del jarabe de yacón procedente de Huánuco. Se evidencia la tendencia en la Figura 11.

Tabla 16: Absorbancia promedio y el (%) inhibición del DPPH del extracto de jarabe de yacón de Huánuco a ¹TA.

| Tiempo (días) | Concentración a TA (mg AG/mL) | Absorbancia $\pm s$ | Inhibición del DPPH (%) |
|---------------|-------------------------------|-----------------------------------|-------------------------|
| 0 | 99,15 | 0,0473 \pm 0,005 ^b | 89,79 |
| 1 | 114,31 | 0,0505 \pm 0,010 ^b | 89,15 |
| 3 | 128,37 | 0,0558 \pm 0,050 ^{a,b} | 88,30 |
| 9 | 150,63 | 0,0648 \pm 0,050 ^a | 85,96 |

Cada valor se expresa como la media \pm desviación estándar (n=3). Letras diferentes en la misma columna indican ser estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) según la prueba de comparación de Fisher (LSD). ¹TA: Temperatura ambiente (25.2 °C).

Otros jarabes, como el jarabe de arce y la miel de abejas reportados por Eggleston *et al.*, (2020); presentan un 19 % de inhibición del radical DPPH, en comparación al jarabe de sorgo con un máximo de 37 % de inhibición de manera similar la extracción, igualmente, el presente estudio el jarabe de yacón cuenta con un 89.79 % de inhibición a temperatura ambiente.

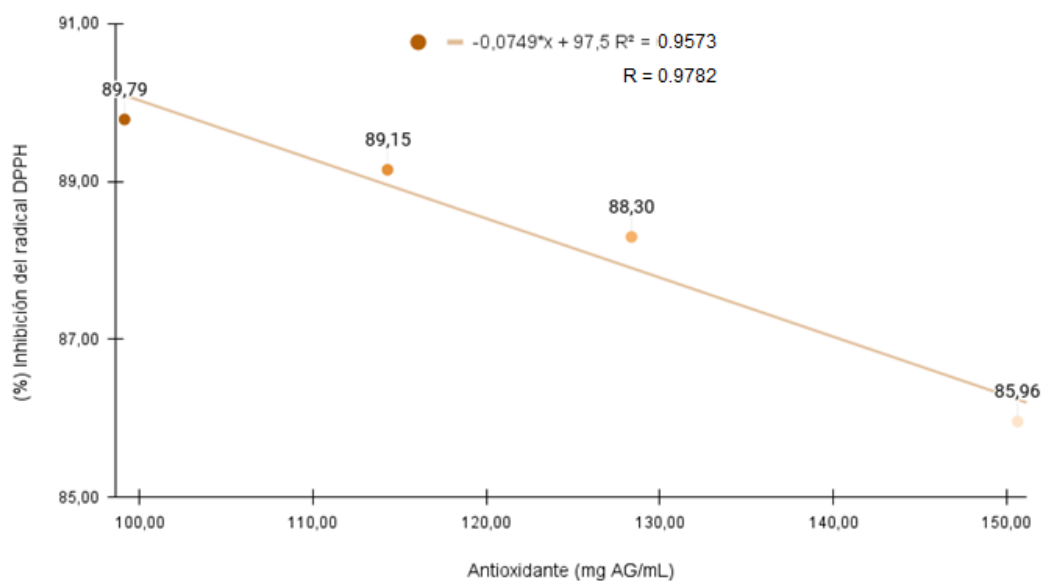


Figura 11. Variación del % de inhibición del radical DPPH a TA en un intervalo de tiempo. ¹TA: Temperatura ambiente (25.2 °C).

En la Tabla 17 se muestra el porcentaje de inhibición del radical DPPH para concentraciones obtenidas a 45 °C del jarabe de yacón procedente de Huánuco respecto al tiempo. Se evidencia la tendencia en la Figura 12.

Tabla 17: Absorbancia promedio y el (%) inhibición del DPPH del extracto de jarabe de yacón de Huánuco a temperatura de 45°C durante 6 días.

| Tiempo (días) | Concentración a 45 °C (mg AG/mL) | Absorbancia \pm s | Inhibición del DPPH (%) |
|---------------|----------------------------------|---------------------------------|-------------------------|
| 1 | 239,55 | 0,1303 \pm 0,005 ^a | 72.34 |
| 2 | 231,34 | 0,1290 \pm 0,010 ^a | 72.95 |
| 3 | 229,85 | 0,1245 \pm 0,016 ^a | 73.40 |
| 4 | 226,87 | 0,1210 \pm 0,015 ^a | 74.26 |
| 5 | 223,88 | 0,1190 \pm 0,053 ^a | 74.68 |
| 6 | 223,13 | 0,1088 \pm 0,006 ^a | 75.26 |

Cada valor se expresa como la media \pm desviación estándar (n=3). Letras diferentes en la misma columna indican ser estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) según la prueba de comparación de Fisher (LSD).

Molaveisi *et al.*, (2019), determinaron que el porcentaje de la actividad antioxidante de la miel, después de un tratamiento de temperatura 45, 55 y 65 °C aumenta en el transcurso de 12 días con un % inhibición mínima de 55 % para una temperatura de 45 °C, el cual, concuerda con el presente estudio, demostrando que la temperatura y el tiempo tienen influencia en el porcentaje de inhibición del radical.

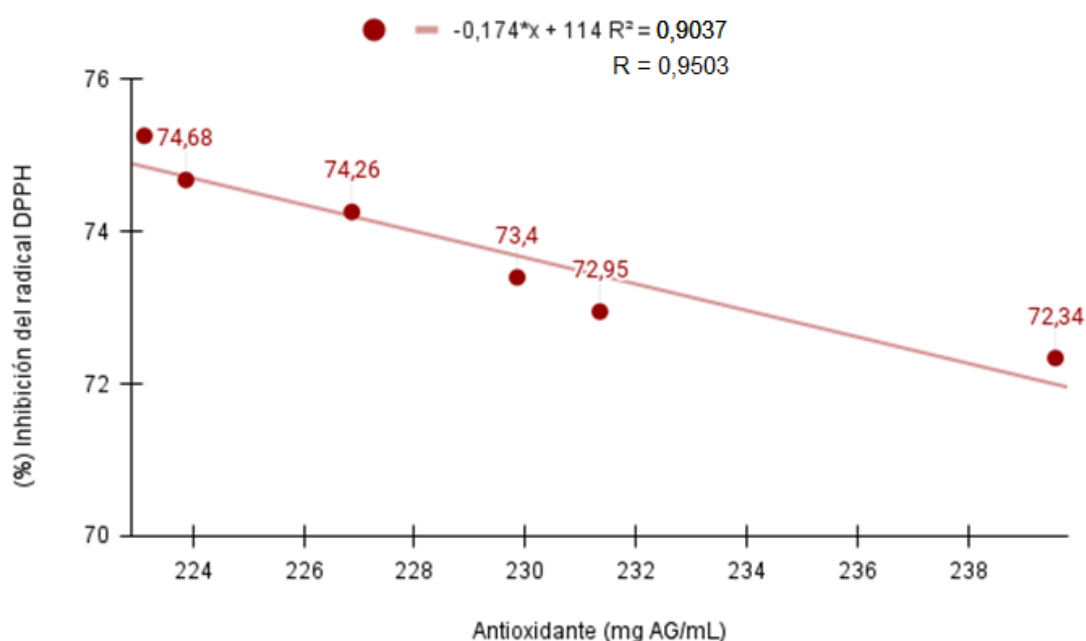


Figura 12. Variación del % de inhibición del radical DPPH a 45 °C en un intervalo de tiempo.

En las Figuras 12 y 13, son los ensayos a temperaturas de 45 y 65 °C se muestra los coeficientes de correlación de 0.903 y 0.908 respectivamente, caso similar, se muestra en el estudio de Molaveisi *et al.*, (2019), en el cual, se indican que la miel es incubada durante 10 días a temperaturas de 45, 55 y 65 °C obteniendo coeficientes de correlación (R^2) desde 0.802 para 65 °C a 0.996 para 45 °C, lo que demuestra que el coeficiente de correlación del jarabe de yacón obtenido muestra una tendencia lineal.

En la tabla 18, se evidencia la tendencia descendente de la concentración del jarabe de yacón a 65 °C graficada en la Figura 13, mostrando a una concentración nula a una inhibición de 68.30%. En el estudio de Lavelli & Giovanelli (2003), en el cual producto de tomate son sometidos a temperaturas de almacenamiento de 30, 40 y 50 °C obtuvieron aumentos y posteriormente la disminución en las concentraciones en el transcurso de 90 días: respecto a la actividad antioxidante obtuvo un aumento en el tiempo de 90 días, lo que refuerza lo encontrado en el presente estudio.

Tabla 18: Absorbancia promedio y el (%) inhibición del DPPH del extracto de jarabe de yacón Huánuco a temperatura de 65 °C durante 5 días.

| Tiempo (días) | Concentración a 65 °C (mg/mL) | Absorbancia promedio | Inhibición del DPPH (%) |
|---------------|-------------------------------|-----------------------------|-------------------------|
| 1 | 209,01 | 0,4350 ± 0,051 ^a | 12.69 |
| 2 | 193,38 | 0,4040 ± 0,010 ^a | 14.04 |
| 3 | 141,03 | 0,2403 ± 0,010 ^b | 48.94 |
| 4 | 18,72 | 0,1703 ± 0,010 ^c | 63.83 |
| 5 | 0,00 | 0,1493 ± 0,006 ^c | 68.30 |

Cada valor se expresa como la media ± desviación estándar (n=3). Letras diferentes en la misma columna indican ser estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) según la prueba de comparación de Fisher (LSD).

Como se puede observar en la Tabla 18, los porcentajes de inhibición del radical DPPH para concentraciones obtenidas a 65 °C en el jarabe de yacón procedente de Huánuco. En el quinto día a una concentración no detectable se obtiene 68.30 % de inhibición. Por lo que, se presume que la sinergia de otros analitos presentes es detectada y muestran el efecto de inhibición.

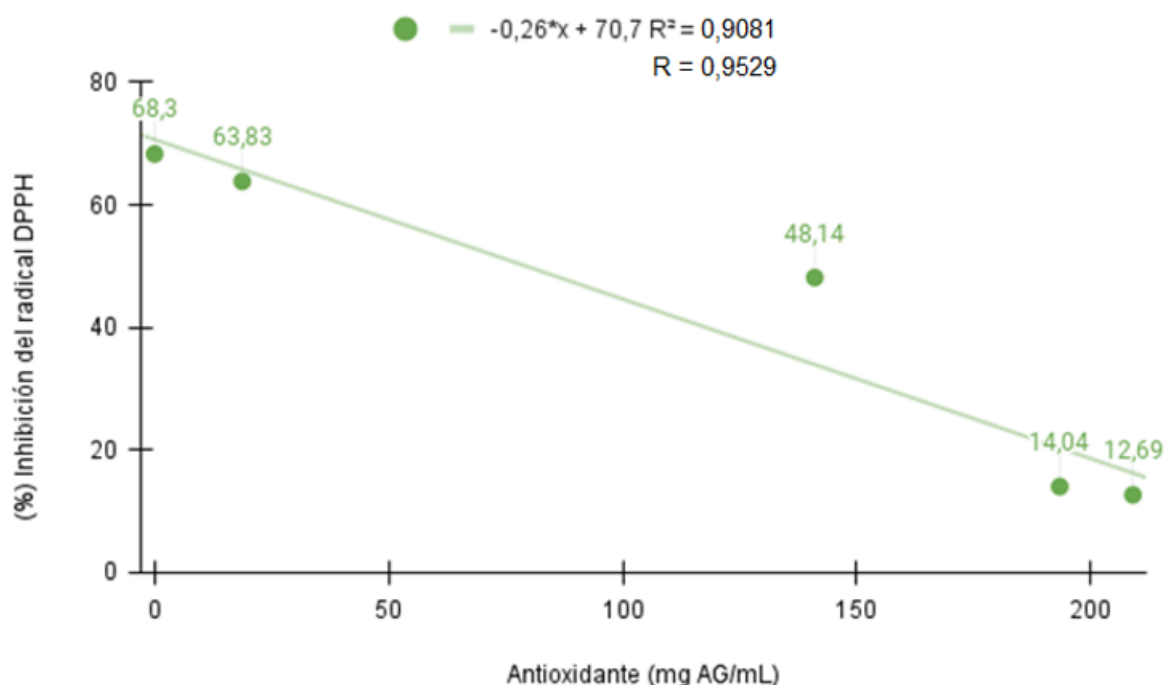


Figura 13. Variación del % de inhibición del radical DPPH a 65°C en un intervalo de tiempo.

La Figura 13 muestra la variación de las concentraciones del jarabe de yacón (Huánuco) en la prueba de inhibición del radical DPPH durante la prueba acelerada con temperaturas de 45, y 65 °C. Se demuestra que, a temperaturas mayores de 45 °C, el cambio que sufren las moléculas provoca un aumento de la inhibición del radical DPPH (Anese *et al.*, 1999).

4.6.3 Glucosa y fructosa

Tabla 19: Contenido de azúcares simples (g/100g) a tres temperaturas en un intervalo de tiempo.

| Tiempo de exposición (días) | Temperaturas | | |
|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | 45 °C ^A | 65 °C ^A | 85 °C ^B |
| 1 | 22,185 ± 0,051 ^f | 21,164 ± 0,050 ^d | 11,751 ± 0,051 ^b |
| 2 | 22,606 ± 0,050 ^e | 24,429 ± 0,053 ^e | 11,778 ± 0,057 ^a |
| 3 | 23,300 ± 0,050 ^d | 24,946 ± 0,056 ^c | 15,152 ± 0,056 ^c |
| 4 | 24,320 ± 0,100 ^c | 26,007 ± 0,050 ^a | 15,363 ± 0,099 ^d |
| 5 | 24,538 ± 0,057 ^b | 26,252 ± 0,050 ^b | 21,164 ± 0,053 ^e |
| 6 | 25,055 ± 0,050 ^a | 26,388 ± 0,051 ^b | 22,280 ± 0,053 ^f |

Cada valor se expresa como la media ± desviación estándar (n=3). Letras diferentes en la misma columna indican ser estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) según la prueba de comparación de Fisher (LSD). A,B Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes según la prueba de comparación por pares de Tukey.

Al examinar la Tabla 19 se muestra las concentraciones en g/100g de azúcares reductores

obtenidas de los análisis realizados al extracto hidro - alcohólico del jarabe de Huánuco, durante seis días a temperaturas de tratamiento (45, 65, y 85 °C).

Las muestras en los respectivos tratamientos térmicos de la Tabla 19 del jarabe de yacón, son inferiores en comparación al contenido de azúcares reductores de un jarabe de glucosa que contiene 90.9 g/100g (128.75g/L), por tratarse de un jarabe netamente de glucosa en crudo sin ningún tratamiento (Djalal *et al.*, 2019), mostró una mayor concentración de azúcares reductores con respecto al jarabe de yacón. En otros productos como el jarabe de agave se muestra en su composición una mayor concentración de azúcares reductores (Willems & Low, 2012).

4.7 Determinación del orden de reacción

Mediante un análisis de correlación lineal simple se evalúan los valores de cada indicador de calidad versus el tiempo de exposición, obteniendo resultados de ajuste de orden cero para los análisis de azúcares simples, para los análisis del contenido de los FOS, kestosa y nistosa, las ecuaciones se ajustaron al orden cero. La razón de esta diferencia puede ser atribuida a la labilidad de los FOS, los compuestos antioxidantes, al tener una mayor tasa de degradación en las mismas condiciones de los tratamientos de las tres temperaturas (Chaudhry *et al.*, 2018). En las Tablas 20 y 21 se ordenan las variables y valores respectivos de cada temperatura y el orden de reacción al que se ajustan.

Tabla 20: Determinación del orden de reacción de los FOS (kestosa y nistosa) evaluados en las pruebas aceleradas por tres temperaturas.

| Temperatura | Variables | Kestosa | | Nistosa | |
|-----------------|----------------------------|---------|---------|---------|---------|
| | | Orden 0 | Orden 1 | Orden 0 | Orden 1 |
| ¹ TA | Pendiente | -0,589 | -0,073 | -0,778 | -0,120 |
| | Intercepto | 10,181 | 2,341 | 9,146 | 2,259 |
| | Coeficiente R ² | 0,9717 | 0,9721 | 0,906 | 0,930 |
| | Linealidad | Orden 1 | | Orden 1 | |
| 45°C | Pendiente | -0,241 | -0,032 | -0,454 | -0,085 |
| | Intercepto | 8,501 | 2,145 | 7,067 | 1,986 |
| | Coeficiente R ² | 0,979 | 0,977 | 0,975 | 0,965 |
| | Linealidad | Orden 0 | | Orden 0 | |
| 65°C | Pendiente | -0,150 | -0,017 | -0,845 | -0,111 |
| | Intercepto | 9,361 | 2,238 | 10,657 | 2,412 |
| | Coeficiente R ² | 0,914 | 0,910 | 0,977 | 0,977 |

| Linealidad | Orden 0 | Orden 0 |
|------------|---------|---------|
|------------|---------|---------|

¹TA: Temperatura ambiente (25.2 °C).

Los fructooligosacáridos estudiados kestosa y nistosa, se ajustan mejor a los modelos de reacción de orden cero con valores del coeficiente de correlación para kestosa (0,9717 a 0,979), y nistosa (0,975 a 0,977). Esto demuestra que los FOS se degradaron linealmente. Análogamente, otros estudios han reportado que los modelos de reacción de orden cero predicen cambios en la vida en anaquel (Choosuk *et al.*, 2022). Ver Anexo 11.

Tabla 21: Determinación del orden de reacción de cada indicador de calidad evaluados en las pruebas aceleradas por tres temperaturas

| Temperatura | Variables | Capacidad Antioxidante | | Azúcares Reductores | |
|-------------|-----------------------------|------------------------|---------|---------------------|---------|
| | | Orden 0 | Orden 1 | Orden 0 | Orden 1 |
| | | Linealidad | | Orden 1 | |
| 45 °C | Pendiente | 0,961 | 0,013 | 0,646 | 0,028 |
| | Intercepto | 70,845 | 4,262 | 21,371 | 3,064 |
| | Coefficiente R ² | 0,953 | 0,956 | 0,979 | 0,975 |
| | Linealidad | | Orden 1 | | Orden 0 |
| 65 °C | Pendiente | 15,1 | 0,649 | 1,041 | 0,044 |
| | Intercepto | -18,595 | 0,756 | 21,132 | 3,052 |
| | Coefficiente R ² | 0,922 | 0,932 | 0,864 | 0,850 |
| | Linealidad | | Orden 1 | | Orden 0 |
| 85 °C | Pendiente | -55,951 | 0,562 | 2,099 | 0,136 |
| | Intercepto | 59,482 | 2,625 | 9,081 | 2,287 |
| | Coefficiente R ² | 0,979 | 0,876 | 0,917 | 0,947 |
| | Linealidad | | Orden 0 | | Orden 1 |

Los indicadores de calidad estudiados capacidad antioxidante y azúcares reductores, se ajustan mejor a los modelos de reacción de primer orden y orden cero respectivamente, con valores del coeficiente de correlación de la capacidad antioxidante (0,932 a 0,956), y azúcares reductores (0,864 a 0,979). Lo que demuestra que los azúcares reductores se degradaron linealmente. Asimismo, de forma semejante, otras investigaciones han reportado que los modelos de reacción de orden cero y primer orden predicen cambios en la vida en anaquel (Zhang *et al.*, 2021).

Otros indicadores de calidad estudiados fueron la capacidad antioxidante y los azúcares reductores, que tuvieron un orden de reacción cero y uno respectivamente.

La relación brindada por el modelo cinético matemático linealizado de Arrhenius para los indicadores de calidad, es una herramienta muy útil para alimentos procesados, empleando los valores de la variable cinética de la constante de la velocidad (k), encontrados previamente como la pendiente de las ecuaciones, en la relación entre la inversa de la temperatura expresada en kelvin versus el logaritmo neperiano de k.

Se encuentra resumido en la Tabla 22, con una tendencia de variación del $\ln(k)$ versus $1/T(k)$ para el indicador de calidad del contenido de los FOS. Mediante este modelo se llega a linealizar los valores obtenidos a un cálculo para la predicción del tiempo de vida, cada reacción tiene su propia velocidad y cinética.

Tabla 22: Constante de la velocidad de reacción (k) y tiempo de vida media para los indicadores de calidad a tres temperaturas.

| Indicadores Calidad | Temperatura (°C) | Cte. Reacción (k) (días) | Tiempo vida media (t1/2)(días) | 1/°T (°K) | Ln Cte. Reacción (k) |
|------------------------|------------------|--------------------------|--------------------------------|-----------|----------------------|
| Kestosa | ¹ TA | 0,589 | 1,176 | 0,0034 | -0,529 |
| | 45 °C | 0,241 | 2,879 | 0,0031 | -1,424 |
| | 65 °C | 0,150 | 4,627 | 0,0030 | -1,899 |
| Nistosa | TA | 0,778 | 0,892 | 0,0034 | -0,252 |
| | 45 °C | 0,454 | 1,526 | 0,0031 | -0,789 |
| | 65 °C | 0,845 | 0,820 | 0,0030 | -0,168 |
| Azúcares reductores | 45 °C | 0,646 | 1,073 | 0,0031 | -0,437 |
| | 65 °C | 1,041 | 0,666 | 0,0030 | -0,040 |
| | 85 °C | 2,099 | 0,330 | 0,0028 | -0,742 |
| Capacidad Antioxidante | 45 °C | 0,013 | 53,732 | 0,0031 | -4,351 |
| | 65 °C | 0,648 | 1,069 | 0,0030 | -0,434 |
| | 85 °C | 0,562 | 1,234 | 0,0028 | -0,576 |

¹TA: Temperatura ambiente (25.2 °C), 2K: Kelvin.

En términos de predicción de la vida útil en la Tabla 23, se muestran el tiempo de vida útil predictivo en días se utilizaron la ecuación de Arrhenius para describir la constante de velocidad de reacción que depende de la temperatura y que es muy aplicable a los productos

alimenticios, calculando la energía de activación. Las ecuaciones de Arrhenius, el tiempo de vida media y el coeficiente de correlación de cada indicador de calidad se puede ver en el Anexo 12.

Actualmente, la modelización cinética nos permite cuantificar estas variables y velocidades de reacción. En efecto, resulta conveniente predecir reacciones y mantener la calidad del producto (Marques *et al.*, 2023). En este estudio, los indicadores de calidad se ajustaron a modelos cinéticos mediante las ecuaciones de Arrhenius, empleadas para determinar el tiempo de vida. (Anexo 13).

Tabla 23: Variables para determinar el tiempo de vida útil predictivo en el jarabe de yacón de procedencia Huánuco.

| Indicador de calidad | ¹ R | ² Ea (kJ/mol) | ³ k | días |
|---|----------------|--------------------------|----------------|--------|
| Kestosa | 0.981 | 6,925 | 0.683 | 7 |
| Nistosa | 0.851 | 75,217 | 1.031 | 7 |
| Capacidad antioxidante | 0,752 | 23,603 | 7,403 | 133 |
| Azúcares reductores | 0,979 | 29,879 | 0,235 | 21 |
| Tiempo de vida útil predictivo basado en el contenido de sus principales compuestos funcionales | | | | 7 días |

¹R: Coeficiente de correlación, ²Ea: Energía de activación, ³k: Constante de velocidad.

Según los resultados obtenidos por el modelo de Arrhenius, fueron detectados como la principal fuente de degradación a los FOS, por lo cual, se tiene como el tiempo de vida predictivo en base a los indicadores con coeficientes de determinación igual o cercanos a la unidad, como kestosa, nistosa, azúcares simples y la capacidad antioxidante, el tiempo de 7 días teniendo como indicador determinante los fructooligosacáridos.

Se observa en el Anexo 10, el desarrollo del análisis de varianza para los sacáridos en el estudio. Las diferencias significativas se encontraron con un valor - P menor a 0,05. Tanto para kestosa, nistosa y fructosa muestran diferencias significativas demostrando que los factores afectan los cambios en las concentraciones.

Se realizó el análisis de varianzas obteniendo como factores a la temperatura y el tiempo, indican que los índices de calidad kestosa, nistosa y fructosa tienen diferencias significativas, en tanto la glucosa no las muestra. En un estudio similar sobre el tiempo de vida del jarabe de remolacha, se realizó un análisis de ANOVA para determinar si existe diferencias

significativas entre dos grupos de datos (Goyal *et al.*, 2022), muestra el uso adecuado del ANOVA para ensayos de vida útil.

El análisis de varianzas por análisis balanceados teniendo como factores a la temperatura y el tiempo, indican que los índices de capacidad antioxidante y azúcares reductores tienen diferencias significativas cuando el factor temperatura influye, en tanto la kestosa tiene diferencias significativas cuando el factor tiempo influye (Anexo 10).

Se desarrolla la prueba de Fisher de comparaciones múltiples que muestra diferencias significativas para el indicador capacidad antioxidante, azúcares reductores.

El análisis de varianzas por pares de la prueba de Fisher muestra que no hay diferencias significativas en las variaciones de los tres tratamientos de temperaturas (45, 65 y 85 °C) para los índices de calidad kestosa y nistosa. Hay diferencias significativas entre las temperaturas 45 y 65 °C de los índices de capacidad antioxidante y azúcares reductores frente a la temperatura de 85 °C. En la relación, la variación de la temperatura mediante un estadístico de prueba en el estudio de Cunha *et al.*, (2019) sobre los FOS producidos, el diseño experimental a una temperatura de 45-50 °C, mostró un mejor rendimiento a una temperatura por encima de los 45 °C. Los resultados obtenidos informan las diferencias significativas al emplear temperaturas. Lo que se relaciona con este estudio, por el empleo del análisis de varianzas para pruebas de vida útil.

V. CONCLUSIONES

- Se identificaron en ambos jarabes veintiséis compuestos, entre ellos seis tipos de FOS, ácidos orgánicos como el ácido cítrico, málico, ascórbico, quínico, compuestos fenólicos derivados del ácido cafeico y un aminoácido.
- Se registró diferencias en las concentraciones de kestosa y nistosa del jarabe de yacón procedente de Huánuco 9.555 g/100g y 8.372 g/100g; del jarabe procedente de Amazonas 6.799 g/100g y 5.424 g/100g respectivamente.
- El orden de reacción de los FOS y azúcares reductores son de orden cero, mientras que la capacidad antioxidante es de primer orden.
- El tiempo de vida útil predictivo del jarabe de yacón manteniendo un 25% del principio activo influyente en la salud es de 7 días. Manteniendo el efecto de todos los indicadores de calidad validados.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar pruebas aceleradas de vida útil mediante el método linealizado de Arrhenius para productos alimenticios.
- Tomar temperaturas moderadas y realizar la prueba aceleradas en intervalos cortos para compuestos lábiles
- Realizar un estudio más detallado de la tendencia anómala de algunos compuestos expuestos a temperaturas mayores a 50 °C
- Se recomienda complementar la investigación con un análisis de calidad sensorial y microbiológico.
- Realizar los análisis cinéticos para los demás metabolitos que tiene el jarabe de yacón.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Adamczak, A., Ożarowski, M., & Karpiński, T. M. (2019). Antibacterial Activity of Some Flavonoids and Organic Acids Widely Distributed in Plants. *Journal of Clinical Medicine*, 9(1), 109. <https://doi.org/10.3390/jcm9010109>
- Adriano, L. S., Dionísio, A. P., Abreu, F. A. P. D., Carioca, A. A. F., Zocolo, G. J., Wurlitzer, N. J., Pinto, C. D. O., de Oliveira, A. C., & Sampaio, H. A. D. C. (2019). Yacon syrup reduces postprandial glycemic response to breakfast: A randomized, crossover, double-blind clinical trial. *Food Research International*, 126, 108682. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108682>
- Alam, M., Bristi, N. & Rafiquzzaman, M., (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(2), pp.143-152.
- Alvarado Zamudio, G. M. (2021). Estudio de prefactibilidad para la producción y comercialización de miel natural de yacón en el mercado limeño [Tesis de grado]. Pontificia Universidad Católica del Perú.
- Anaya Lang, A. L., Espinosa García, F. J., & Reigosa Roger, M. J. (2019). *Ecología química y alelopatía: avances y perspectivas (2.a ed.)*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Andrade, J. C., Silva, A. R. P., Santos, A. T. L., Freitas, M. A., Carneiro, J. N. P., Gonçalo, M. I. P., ... & Coutinho, H. D. M. (2019). UPLC-MS-ESI-QTOF characterization and evaluation of the antibacterial and modulatory antibiotic activity of *Ziziphus joazeiro* Mart. aqueous extracts. *South African journal of botany*, 123, 105-112. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.02.001>.
- Andrade, M. (2018). Calidad poscosecha de naranjilla (*Solanum quitoense* Lam) y alternativas tecnológicas para retrasar el deterioro. Elaboración de un producto panificado enriquecido con naranjilla. [Tesis de grado] Universidad Nacional de la Plata, Argentina.

http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/71305/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- Andrewes, P. (2022). "Predicting the shelf-life of microbially-stabilised dairy products: What are the roles of stability studies, storage trials, 'accelerated' trials, and Dairy Science?," *International Dairy Journal*, 125, p. 105239. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105239>.
- Anese, M., Manzocco, L., Nicoli, M.C. & Lericci, C.R. (1999). Antioxidant properties of tomato juice as affected by heating. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79: 750–754.
- Atkins, P. & Jones, L. (2013). *Principios de química: Los caminos del descubrimiento* (5.a ed.). Editorial Médica Panamericana.
- Avery, H. (2009). *Cinetica Química Básica Y Mecanismos De Reacción* (Spanish Edition) (1.). Reverté.
- Beyer, H., & Walter, W. (1987). *Manual de química orgánica* (19.a ed.). Editorial Reverte.
- Cabanillas, B., Espichán, F., Estrada, R., Neyra, E., & Rojas, R. (2021). Metabolomic profile and discrimination of white quinoa seeds from Peru based on UHPLC-HRMS and multivariate analysis. *Journal of Cereal Science*, 101, 103307. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2021.103307>
- Campos, D., Betalleluz-Pallardel, I., Chirinos, R., Aguilar-Galvez, A., Noratto, G., & Pedreschi, R. (2012). Prebiotic effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl), a source of fructooligosaccharides and phenolic compounds with antioxidant activity. *Food Chemistry*, 135(3), 1592-1599. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.088>
- Caunii, A., Butu, M., Rodino, S., Motoc, M., Negrea, A., Samfira, I., & Butnariu, M. (2015). Isolation and separation of inulin from *Phalaris arundinacea* roots. *Revista de chimie*, 66(4), 472-476.
- Cao, Weilei et al. (2022) 'From sucrose to Fructo-oligosaccharides: Production and purification of Fructo-oligosaccharides by an integrated enzymatic catalysis and membrane separation process', *Separation and Purification Technology*, 288, p. 120678. doi:10.1016/j.seppur.2022.120678.

- Cardelle-Cobas, A., Costo, R., Corzo, N., & Villamiel, M. (2009). Fructo-oligosaccharide changes during the storage of dehydrated commercial garlic and onion samples. *International journal of food science & technology*, 44(5), 947-952. doi:10.1111/j.1365-2621.2008.01752.x.
- Carranza, C. O., Fernandez, A. Á., Armendáriz, G. R. B., & López-Munguía, A. (2015). Processing of fructans and oligosaccharides from Agave plants. In *Processing and impact on active components in food* (pp. 121-129). Academic Press. Doi: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-404699-3.00015-9>.
- Chaudhry, M. M., Amodio, M. L., Babellahi, F., de Chiara, M. L., Amigo Rubio, J. M., & Colelli, G. (2018). Hyperspectral imaging and multivariate accelerated shelf life testing (MASLT) approach for determining shelf life of rocket leaves. *Journal of Food Engineering*, 238, 122–133. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.06.017>
- Chikkerur, J., Samanta, A. K., Kolte, A. P., Dhali, A., & Roy, S. (2020). Production of short chain fructo-oligosaccharides from inulin of chicory root using fungal endoinulinase. *Applied biochemistry and biotechnology*, 191, 695-715. Doi: <https://doi.org/10.1007/s12010-019-03215-7>.
- Choosuk, N., Meesuk, P., Renumarn, P., Phungamngoen, C., & Jakkranuhwat, N. (2022). Kinetic modeling of quality changes and shelf life prediction of dried coconut chips. *Processes*, 10(7), 1392. doi:10.3390/pr10071392.
- Contreras-Puentes, N., & Alvíz-Amador, A. (2021). Hypoglycaemic Property of Yacon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. and Hendl.) H. Robinson): A Review. *Pharmacognosy Reviews*, 14(27), 37-44. <https://doi.org/10.5530/phrev.2020.14.7>
- Correa, A. (2015). Evaluación de indicadores de deterioro de miel de diferentes especies de abejas. *Universidad Nacional de Colombia*, 140. <http://www.icta.unal.edu.co/>
- Cui, S. W. (2005). *Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications*. CRC Press. Doi: <https://doi.org/10.1201/9780203485286>.
- Cunha, J. S., Ottoni, C. A., Morales, S. A., Silva, E. S., Maiorano, A. E., & Perna, R. F. (2019). Synthesis and characterization of fructosyltransferase from *Aspergillus oryzae* IPT-301 for high fructooligosaccharides production. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 36, 657-668. Doi: <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20190362s20180572>.

- Dos Santos Lima, M., Nunes, P. C., De Lourdes De Araújo Silva, B., Da Silva Padilha, C. V., Do Bonfim, T. H. F., Stamford, T. L. M., Da Silva Vasconcelos, M. A., & de Souza Aquino, J. (2019). Determining 1-kestose, nystose and raffinose oligosaccharides in grape juices and wines using HPLC: method validation and characterization of products from Northeast Brazil. *Journal of Food Science and Technology*, 56(10), 4575–4584. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03936-x>
- da Silva, D. M. N., Lima, R. R., de Oliveira, F. L., Teixeira, L. J. Q., & Machado, L. C. A. (2018). Caracterização físico-química de raízes tuberosas de yacon produzidas em duas condições edafoclimáticas e épocas de plantio. *Horticultura Brasileira*, 36(2).
- Dar, B. N., Shah, M. A., & Mir, S. A. (2022). *Shelf Life and Food Safety*. CRC Press.
- De la Rosa, O., Flores-Gallegos, A. C., Muñiz-Marquez, D., Nobre, C., Contreras-Esquivel, J. C. & Aguilar, C. N. (2019). Fructooligosaccharides production from agro-wastes as alternative low-cost source. *Trends in Food Science & Technology*, 91, 139-146. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.06.013>
- Del Olmo, I., Blanch, M., Romero, I., Vazquez-Hernandez, M., Sanchez-Ballesta, M. T., Escribano, M. I., & Merodio, C. (2020). Involvement of oligosaccharides and sucrose-related genes on sucrose retention in strawberries from ripening to shelf-life. *Postharvest Biology and Technology*, 169, 111301. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111301>
- Dias, J. P. T. (2018). *Importância da ecofisiologia vegetal e mudanças climáticas para culturas agrícolas*. Editora da Universidade do Estado de Minas Gerais Belo Horizonte 2018, 9.
- Djalal, M., Wakiah, N., Laga, A. & Bastian, F. (2019). The effect of heating on the effectiveness of coal activated charcoal on glucose syrup purification. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 343(1), 012072. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/343/1/012072>
- Eggleston, G., Boue, S., Bett-Garber, K., Verret, C., Triplett, A. & Bechtel, P. (2020). Phenolic contents, antioxidant potential and associated colour in sweet sorghum syrups compared to other commercial syrup sweeteners. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(2), 613-623. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10673>

- Elez Garofulić, I., Kruk, V., Martić, A., Martić, I., Zorić, Z., Pedisić, S., ... & Dragović-Uzelac, V. (2020). Evaluation of polyphenolic profile and antioxidant activity of *Pistacia lentiscus* L. leaves and fruit extract obtained by optimized microwave-assisted extraction. *Foods*, 9(11), 1556. Doi: <https://doi.org/10.3390/foods9111556>.
- Escobar-Ledesma, F. R., Sánchez-Moreno, V. E., Vera, E., Ciobotă, V., Jentzsch, P. V., & Jaramillo, L. I. (2020). Extraction of Inulin from Andean Plants: An Approach to Non-Traditional Crops of Ecuador. *Molecules*, 25(21), 5067. <https://doi.org/10.3390/molecules25215067>
- Espinoza Atencia, E. (2019). Evaluación de la vida útil de los alimentos (shelf life): efecto de la temperatura. *Ciencia & Desarrollo*, (4), 90-94. <https://doi.org/10.33326/26176033.1996.4.83>
- Fonseca, L. & Berrocal, L. (2004). *Cinética química aplicada a los procesos de descomposición de los fármacos* (1. ed). San José C. R. Edit. de la Universidad de Costa Rica.
- Foitzich Molina, A. C. (2013). *Desarrollo y validación de una metodología para determinar azúcares simples en matrices orgánicas mediante HPLC- IR*. [Tesis de grado] Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile
- Fukami K. (2019). Safety Evaluation of Long—term Intake and Effects on Bone Mineral Density of Corn Syrup Solids Containing Maltobionic Acid (Maltobionic Acid Calcium Salt) in Healthy Japanese Women —A Randomized Double—blind Placebo—controlled Study. *Japanese pharmacology & therapeutics* 51(2). 112-115.
- Gaber, N. B., El-Dahy, S. I. & Shalaby, E. A. (2021). Comparison of ABTS, DPPH, permanganate, and methylene blue assays for determining antioxidant potential of successive extracts from pomegranate and guava residues. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01386-0>
- Galanakis, C. M. (2019). *Food Quality and Shelf Life* (1.a ed.). Academic Press.
- Garavito, Y. (2018). *Prueba de eficacia y control del inductor de fitoalexinas FITOMAX® sobre Monilia (Moniliophthora roreri L) en el cultivo de cacao” con MARLETTI COMPANY S.A.S en San Vicente de Chucurí*. [Tesis de grado] Universidad de Pamplona, Colombia. http://repositoriodspace.unipamplona.edu.co/jspui/bitstream/20.500.12744/2006/1/Garavito_2018_TG.pdf

- Garcia, S. N., Yang, X., Berezki, L., & Kónya, D. (2021). Aqueous Solubility of Organic Compounds for Flow Battery Applications: Symmetry and Counter Ion Design to Avoid Low-Solubility Polymorphs. *Molecules*, 26(5), 1203. <https://doi.org/10.3390/molecules26051203>
- Geissmann, T. A. (1973). *Principios de química orgánica* (2.a ed.). Editorial Reverte.
- Gimeno Creus, E. (2004). Compuestos fenólicos: Un análisis de sus beneficios para la salud. *Offarm*, 23(6), 80–84.
- Goulas, V. & Aresti, P. (2021). Physicochemical properties of carob syrup reveal d-pinitol as an index of sucrose supplementation. *Food and Environment Safety Journal*, 20(3). <https://doi.org/10.4316/fens.2021.023>
- Gomes Da Silva, M. D. F., Dionísio, A. P., Ferreira Carioca, A. A., Silveira Adriano, L., Pinto, C. O., Pinto De Abreu, F. A., Wurlitzer, N. J., Araújo, I. M., dos Santos Garruti, D., & Ferreira Pontes, D. (2017). Yacon syrup: Food applications and impact on satiety in healthy volunteers. *Food Research International*, 100, 460–467. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.035>
- González, C., & Ramírez, J. (2018). Desarrollo y validación de un método para la cuantificación de fructooligosacáridos en un helado. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy*, 6(2), 108–116. http://jppres.com/jppres/pdf/vol6/jppres17.302_6.2.108.pdf
- González-Montemayor, N. M., Flores-Gallegos, A. C., Serrato-Villegas, L. E., Ruelas-Chacón, X., López, M. G., & Rodríguez-Herrera, R. (2020). Processing temperature effect on the chemical content of concentrated aguamiel syrups obtained from two different Agave species. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(3), 1733-1743. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00421-4>
- Goyal, C., Bhatt, P., Rawat, S., Sharma, V. K., & Ahuja, M. R. (2022). Estimation of shelf-life of Balachaturbhadraka syrup containing different sweetening agents. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 15(11), 5078-5083. Doi: <https://doi.org/10.52711/0974-360x.2022.00853>.
- González-Montemayor, Á. M., Flores-Gallegos, A. C., Serrato-Villegas, L. E., Ruelas-Chacón, X., López, M. G., & Rodríguez-Herrera, R. (2020). Processing temperature

- effect on the chemical content of concentrated aguamiel syrups obtained from two different Agave species. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14, 1733-1743. doi:10.1007/s11694-020-00421-4.
- González-Montemayor, A. M., Solanilla-Duque, J. F., Flores-Gallegos, A. C., Serrato-Villegas, L. E., Morales-Castro, J., González-Herrera, S. M., & Rodríguez-Herrera, R. (2022). Temperature effect on sensory attributes, thermal and rheological properties of concentrated aguamiel syrups of two Agave species. *Measurement: Food*, 7, 100041. Doi: 10.1016/j.meafao.2022.100041.
- Graefe, S., Hermann, M., Manrique, I., Golombek, S., & Buerkert, A. (2004). Effects of post-harvest treatments on the carbohydrate composition of yacon roots in the Peruvian Andes. *Field Crops Research*, 86(2–3), 157–165. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2003.08.003>
- Guillena Townley, G. (2000). Síntesis de α -aminoácidos a partir del ácido piroglutámico y de derivados imínicos de efedrina. Universidad de Alicante Facultad de Ciencias.
- Gutierrez-Uribe, J. A., & Nollet, L. M. L. (2018). *Phenolic Compounds in Food: Characterization and Analysis (Food Analysis & Properties)* (1.a ed.). CRC Press.
- Illippangama, A. U., Jayasena, D. D., Jo, C., & Mudannayake, D. C. (2022). Inulin as a functional ingredient and their applications in meat products. *Carbohydrate Polymers*, 275, 118706. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118706>
- Imahori, Y., Kitamura, N., Kobayashi, S., Takihara, T., Ose, K., & Ueda, Y. (2010). Changes in fructooligosaccharide composition and related enzyme activities of burdock root during low-temperature storage. *Postharvest Biology and Technology*, 55(1), 15–20. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.08.002>
- Jiménez Cucaita, L. E. (2017). Escalamiento de la producción de bebidas funcionales a partir de productos vegetales no tradicionales [Tesis de especialización]. Universidad Nacional de Colombia.
- Jones, D. L. (1998). Organic acids in the rhizosphere – a critical review. *Plant and Soil*, 205(1), 25–44. <https://doi.org/10.1023/a:1004356007312>
- Khan, M. A., Asaf, S., Khan, A. L., Jan, R., Kang, S. M., Kim, K. M., & Lee, I. J. (2020). Thermotolerance effect of plant growth-promoting *Bacillus cereus* SA1 on soybean

- during heat stress. *BMC Microbiology*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01822-7>
- Khan, N., Ali, S., Zandi, P., Mehmood, A., Ullah, S., Ikram, M., ... & Babar, M. A. (2020). Role of sugars, amino acids and organic acids in improving plant abiotic stress tolerance. *Pakistan Journal of Botany*, 52(2), 355-363. Doi: [https://doi.org/10.30848/pjb2020-2\(24\)](https://doi.org/10.30848/pjb2020-2(24)).
- Kherade, M., Solanke, S., Tawar, M. & Wankhede, S. (2021). Fructooligosaccharides: A comprehensive review. *Journal of Ayurvedic and Herbal Medicine*, 7(3), 193-200. <https://doi.org/10.31254/jahm.2021.7305>
- Labuza, T. P., McNally, L., Gallagher, D., Hawkes, J. & Hurtado, F. (1972). Stability of intermediate moisture foods. 1. Lipid Oxidation. *Journal of Food Science*, 37(1), 154-159. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1972.tb03408.x>
- Labuza, T. P., Schmidl, M. K. (1985) "Accelerated Shelf Life Testing of Foods," *Food Technology*, 9(2), 57-62, 64, 134.
- Lachman, J., Fernández, E. C., Viehmannová, I., Šulc, M., & Èepková, P. (2007). Total phenolic content of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) rhizomes, leaves, and roots affected by genotype. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 35(1), 117–123. <https://doi.org/10.1080/01140670709510175>
- Lachman, J., Fernández, E. & Orsák, M. (2011). Yacon [*Smallanthus sonchifolia* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] chemical composition and use – a review. *Plant, Soil and Environment*, 49(6), 283-290. <https://doi.org/10.17221/4126-pse>
- Lago, C. C., & Noreña, C. P. Z. (2017). Thermodynamic and kinetics study of phenolics degradation and color of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) microparticles under accelerated storage conditions. *Journal of Food Science and Technology*, 54(13), 4197–4204. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2887-y>
- Lavelli, V. & Giovanelli, G. (2003) 'Evaluation of heat and oxidative damage during storage of processed tomato products. II. study of oxidative damage indices', *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(9), pp. 966–971. doi:10.1002/jsfa.1433.
- Le, H. P., Hong, D. T. N., Nguyen, T. T. L., Le, T. M. H., Koseki, S., Ho, T. B., & Ly-Nguyen, B. (2022). Thermal Stability of Fructooligosaccharides Extracted from

- Defatted Rice Bran: A Kinetic Study Using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Foods*, 11(14), 2054. <https://doi.org/10.3390/foods11142054>
- Li, J., Hu, D., Zong, W., Lv, G., Zhao, J., & Li, S. (2014). Determination of Inulin-type Fructooligosaccharides in Edible Plants by High-Performance Liquid Chromatography with Charged Aerosol Detector. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(31), 7707-7713. <https://doi.org/10.1021/jf502329n>
- Li, X. et al. (2022) 'Aqueous isomerization of glucose to fructose catalyzed by guanidinium ionic liquids', *ChemistrySelect*, 7(5). doi:10.1002/slct.202103804.
- López-Rodríguez, C. E., Castro Barón, L. T., Quito Pérez, K. T., & Bocanegra Canacúe, L. F. (2020). La internacionalización do Yacon: beneficios y oportunidades de melhoramento para o setor agrícola na Colômbia. *Revista Universidad y Empresa*, 22(38), 106. <https://doi.org/10.12804/revistas.urosario.edu.co/empresa/a.7235>
- Malik, B., & Rehman, R. U. (2021). Chicory Inulin: A Versatile Biopolymer with Nutritional and Therapeutic Properties. *Medicinal and Aromatic Plants*, 373-390. https://doi.org/10.1007/978-3-030-58975-2_16
- Manrique, I. Párraga A. & Hermann M. (2005). Jarabe de yacón: Principios y procesamiento. Google Books. https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=Isa0ST_j8gYC&oi=fn&pg=PA1&dq=procesamiento+del+yacon+&ots=p7BHuQoLYk&sig=jGafTafDNRBnst1yXIcN-zD6Y74#v=onepage&q=procesamiento%20del%20yacon&f=false
- Mansilla, R., López, C., Flores, M., & Espejo, R. (2010). Estudios de la biología reproductiva en cinco accesiones de *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) Robinson. *Ecología Aplicada*, 9(1-2), 167. <https://doi.org/10.21704/rea.v9i1-2.407>
- Marques, B. C., Perré, P., Casalinho, J., Tadini, C. C., Plana-Fattori, A., & Almeida, G. (2023). Evidence of iso-volume deformation during convective drying of yacón: an extended Van Meel model adapted to large volume reduction. *Journal of Food Engineering*, 341, 111311. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2022.111311>
- Matusek, A., Merész, P., Le, T. K. D., & Örsi, F. (2009). Effect of temperature and pH on the degradation of fructo-oligosaccharides. *European Food Research and Technology*, 228(3), 355-365.

- Mejía-Águila, R. A., Aguilar-Galvez, A., Chirinos, R., Pedreschi, R., & Campos, D. (2020). Vacuum impregnation of apple slices with Yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl) fructooligosaccharides to enhance the functional properties of the fruit snack. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(1), 392-401. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14654>
- Mohapatra, S., Padhy, S., Das Mohapatra, P. K. & Thatoi, H. (2018). Enhanced reducing sugar production by saccharification of lignocellulosic biomass, *Pennisetum* species through cellulase from a newly isolated *Aspergillus fumigatus*. *Bioresource Technology*, 253, 262-272. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.023>
- Molaveisi, M., Beigbabaei, A., Akbari, E., Noghabi, M. S., & Mohamadi, M. (2019). Kinetics of temperature effect on antioxidant activity, phenolic compounds and color of Iranian jujube honey. *Heliyon*, 5(1).
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakar Journal of Science and Technology*, 26(2), 212.
- Muñiz Amaya, C. B. (2018). Búsqueda de nuevos bioestimulantes para el desarrollo de plantas: ácido eláxico. Centro de Investigación en Química Aplicada. [Tesis de grado]<https://ciqa.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1025/558/1/CE%20EQA-AP%20Cesar%20Bernardo%20Mu%C3%B1iz%2030%20agos%202018.pdf>
- Muñiz-Márquez, D. B., Contreras, J. C., Rodríguez, R., Mussatto, S. I., Wong-Paz, J. E., Teixeira, J. A., & Aguilar, C. N. (2015). Influence of thermal effect on sugars composition of Mexican Agave syrup. *CyTA-Journal of Food*, 13(4), 607-612. <https://doi.org/10.1080/19476337.2015.1028452>
- Myint, P. P., Dao, T. T. P., & Kim, Y. S. (2019). Anticancer Activity of *Smallanthus sonchifolius* Methanol Extract against Human Hepatocellular Carcinoma Cells. *Molecules*, 24(17), 3054. <https://doi.org/10.3390/molecules24173054>
- Narai-Kanayama, A., Tokita, N., & Aso, K. (2007). Dependence of Fructooligosaccharide Content on Activity of Fructooligosaccharide-Metabolizing Enzymes in Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) Tuberos Roots during Storage. *Journal of Food Science*, 72(6), S381-S387. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00422.x>

- Pacheco, M. T. (2019). Obtención y caracterización de compuestos bioactivos procedentes de tubérculos andinos y de subproductos de la industria agroalimentaria. Universidad Autónoma de Madrid.
- Permanasari, A., Yulistiani, Y., Gustaji, F., Karisma, R., & Wibisono, W. (2020). Isomerization and Evaporation of Red Sorghum Hydrolyzate Sugar into Fructose Syrup through Water and Ethanol-Water as the Media. *International Journal Applied Technology Research*, 1(1), 45 - 55. <https://doi.org/10.35313/ijatr.v1i1.23>
- Popa, M. E., Mitelut, A. C., Popa, E. E., Stan, A., & Popa, V. I. (2019). Organic foods contribution to nutritional quality and value. *Trends in Food Science & Technology*, 84, 15-18. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.01.003>.
- Quina Mamani, D. (2023). Efecto de la sacarosa, maltodextrina y miel de abeja por osmodeshidratación con impregnación al vacío en la retención de vitaminas, capacidad antioxidante y color del sachatomate (*Solanum betaceum* Cav) [Tesis de grado]. Universidad Nacional José María Arguedas. https://repositorio.unajma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14168/760/Danitza_Tesis_Bachiller_2023.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Quang Trung, N., Thi Luyen, N., Duc Nam, V. & Tien Dat, N. (2018). Chemical Composition and in Vitro Biological Activities of White Mulberry Syrup during Processing and Storage. *Journal of Food and Nutrition Research*, 6(10), 660-664. <https://doi.org/10.12691/jfnr-6-10-7>
- Ramos Huallpartupa, D. J. (2019). Efecto de las condiciones ambientales sobre la conservación del contenido de inulina y fructooligosacáridos del yacón fresco (*Smallanthus sonchifolius*[Poepp. & Endl.] H. Robinson) en los andes. Universidad Nacional del Altiplano.
- Redondo-Cuenca, A., Herrera-Vázquez, S. E., Condezo-Hoyos, L., Gómez-Ordóñez, E., & Rupérez, P. (2021). Inulin extraction from common inulin-containing plant sources. *Industrial Crops and Products*, 170, 113726. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113726>
- Roberfroid, M. (2004). *Inulin-Type Fructans: Functional Food Ingredients*. Taylor & Francis Group.

- Rodríguez, P. C., Yapias, R. J. M., & Rodríguez, A. O. (2020). Tiempo de pasteurización y su respuesta en las características químicas y de capacidad antioxidante de aguamiel de *Agave americana* L. *Revista De Investigaciones Altoandinas*, 22(1), 45–57. <https://doi.org/10.18271/ria.2020.532>
- Roupar, D., Coelho, M. C., Gonçalves, D. A., Silva, S. P., Coelho, E., Silva, S., ... & Nobre, C. (2022). Evaluation of microbial-fructo-oligosaccharides metabolism by human gut microbiota fermentation as compared to commercial inulin-derived oligosaccharides. *Foods*, 11(7), 954. Doi: <https://doi.org/10.3390/foods11070954>.
- Saéñz S, Chaparro M. & Bernal L. (2016). *Yacón: Producción, transformación y beneficios*. Universidad de la Salle, Bogotá, Colombia, 81 p.
- Sáenz, S. (2019). Hay mucho que investigar en las raíces y tubérculos andinos. *Revista de Medicina Veterinaria*, 1(38), 1–9. <https://doi.org/10.19052/mv.vol1.iss38.1>
- Sales, R. A. D., Oliveira, E. C. D., Xavier, A. C., Oliveira, F. L. D., Pezzopane, J. E. M., Silva, D. M. N. D., & Berilli, S. D. S. (2021). Base temperature, cycle duration, and thermal constant for yacon culture. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 44, e52623. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v44i1.52623>
- Santos, M. B. D. L., Jacobi, S. S., Miñarro, M. D. L. C. A., Balsalobre, J. A. P., Guillén, A. A. & Gorbe, M. I. F. (2020). Kinetic characterization, thermal and pH inactivation study of peroxidase and pectin methylesterase from tomato (*Solanum betaceum*). *Food Science and Technology*, 40(suppl 1), 273-279. <https://doi.org/10.1590/fst.09419>
- Santos-Zea, L., Leal-Díaz, A. M., Jacobo-Velázquez, D. A., Rodríguez-Rodríguez, J., García-Lara, S., & Gutiérrez-Urbe, J. A. (2016). Characterization of concentrated agave saps and storage effects on browning, antioxidant capacity and amino acid content. *Journal of Food Composition and Analysis*, 45, 113-120. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.10.005>
- Saraiva, A., Carrascosa, C., Ramos, F., Raheem, D., & Raposo, A. (2022). Agave syrup: chemical analysis and nutritional profile, applications in the food industry and health impacts. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(12), 7022. Doi: <https://doi.org/10.3390/ijerph19127022>.

- 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 (CONSUDE), Lima, Perú.
- SIICEX. (2015). Ficha Comercial. SIICEX Sistema integrado de información de comercio exterior. Recuperado junio de 2022, de https://www.siicex.gob.pe/siicex/portal5ES.asp?_page_=172.17100&_portletid_=sfichaproductoinit&scriptdo=cc_fp_init&pproducto=208&pnomproducto=Yacon
- Shi, M., Hlaing, M. M., Ying, D., Ye, J., Sanguansri, L., & Augustin, M. A. (2019). New food ingredients from broccoli by-products: physical, chemical and technological properties. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(4), 1423-1432. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14111>
- Silva D, Lima R, Oliveira F, Teixeira L. & Machado L. (2018). Caracterización física y química de raíces tuberosas de yacón producidas a diferentes altitudes y épocas de siembra. *Horticultura Brasileira* 36: 199-204. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-053620180209>
- Silva, M. D. F. G. D., Dionísio, A. P., Abreu, F. A. P. D., Brito, E. S. D., Wurlitzer, N. J., Silva, L. M. A. E., Ribeiro, P. R. V., Rodrigues, S., Taniguchi, C. A. K., & Pontes, D. F. (2018). Evaluation of nutritional and chemical composition of yacon syrup using ¹H NMR and UPLC-ESI-Q-TOF-MSE. *Food Chemistry*, 245, 1239–1247. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.092>
- Singh, R. S., & Singh, T. (2022). Glutaraldehyde functionalization of halloysite nanoclay enhances immobilization efficacy of endoinulinase for fructooligosaccharides production from inulin. *Food Chemistry*, 381, 132253. doi:10.1016/j.foodchem.2022.132253.
- Siracusa, V. (2019). Microbial Degradation of Synthetic Biopolymers Waste. *Polymers*, 11(6), 1066. <https://doi.org/10.3390/polym11061066>
- Shao, Y., & Lin, A. H. M. (2018). Improvement in the quantification of reducing sugars by miniaturizing the Somogyi-Nelson assay using a microtiter plate. *Food Chemistry*, 240, 898–903. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.083>

- Torres, S. S. M. (2016). Yacón: Producción, transformación y beneficios (Spanish Edition). Ediciones Unisalle.
- Veena, K. S., Sameena, M. T., Padmakumari, A. K. P., Srinivasa, G. T. K., Nishanth, K. S., & Reshma, M. V. (2018). Development and validation of HPLC method for determination of sugars in palm sap, palm syrup, sugarcane jaggery and palm jaggery. *International Food Research Journal*, 25(2), 649–654. [http://www.ifrj.upm.edu.my/.../\(28\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/.../(28).pdf)
- Verediano, T. A., Viana, M. L., Das G.V. Tostes, M., & Costa, N. M. (2021). The Potential Prebiotic Effects of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) in Colorectal Cancer. *Current Nutrition & Food Science*, 17(2), 167–175. <https://doi.org/10.2174/1573401316999200605160433>
- Wagner, M., Kamp, L., Graeff-Hönninger, S., & Lewandowski, I. (2019). Environmental and economic performance of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) cultivated for fructooligosaccharide production. *Sustainability*, 11(17), 4581. Doi: <https://doi.org/10.3390/su11174581>.
- Willems, J.L. & Low, N.H. (2012) “Major carbohydrate, polyol, and oligosaccharide profiles of agave syrup. application of this data to authenticity analysis,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(35), pp. 8745–8754. Doi: <https://doi.org/10.1021/jf3027342>.
- Wienberg, F., Hövels, M., & Deppenmeier, U. (2022). High-yield production and purification of prebiotic inulin-type fructooligosaccharides. *AMB Express*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s13568-022-01485-9>
- Yuanita, L., Wikandari, P. R., Dprastiwi, Avandi, R. I., Sabtiawan, W. B., Sari, D. A. P., Purnama, E. R., & Maulidah, E. Y. (2021). Natural Inhibitors to Increase the Antioxidant Activity of Yacon Tubers Syrup. *Journal of Physics: Conference Series*, 1747(1), 012041. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1747/1/012041>
- Zhang, W., Luo, Z., Wang, A., Gu, X., & Lv, Z. (2021). Kinetic models applied to quality change and shelf life prediction of kiwifruits. *Lwt*, 138, 110610. doi:10.1016/j.lwt.2020.110610.
- Zevallos, A. R. R., & Acosta, R. V. (2016). Efecto de la temperatura y tiempo de concentración al vacío sobre el pardeamiento y contenido de azúcares y

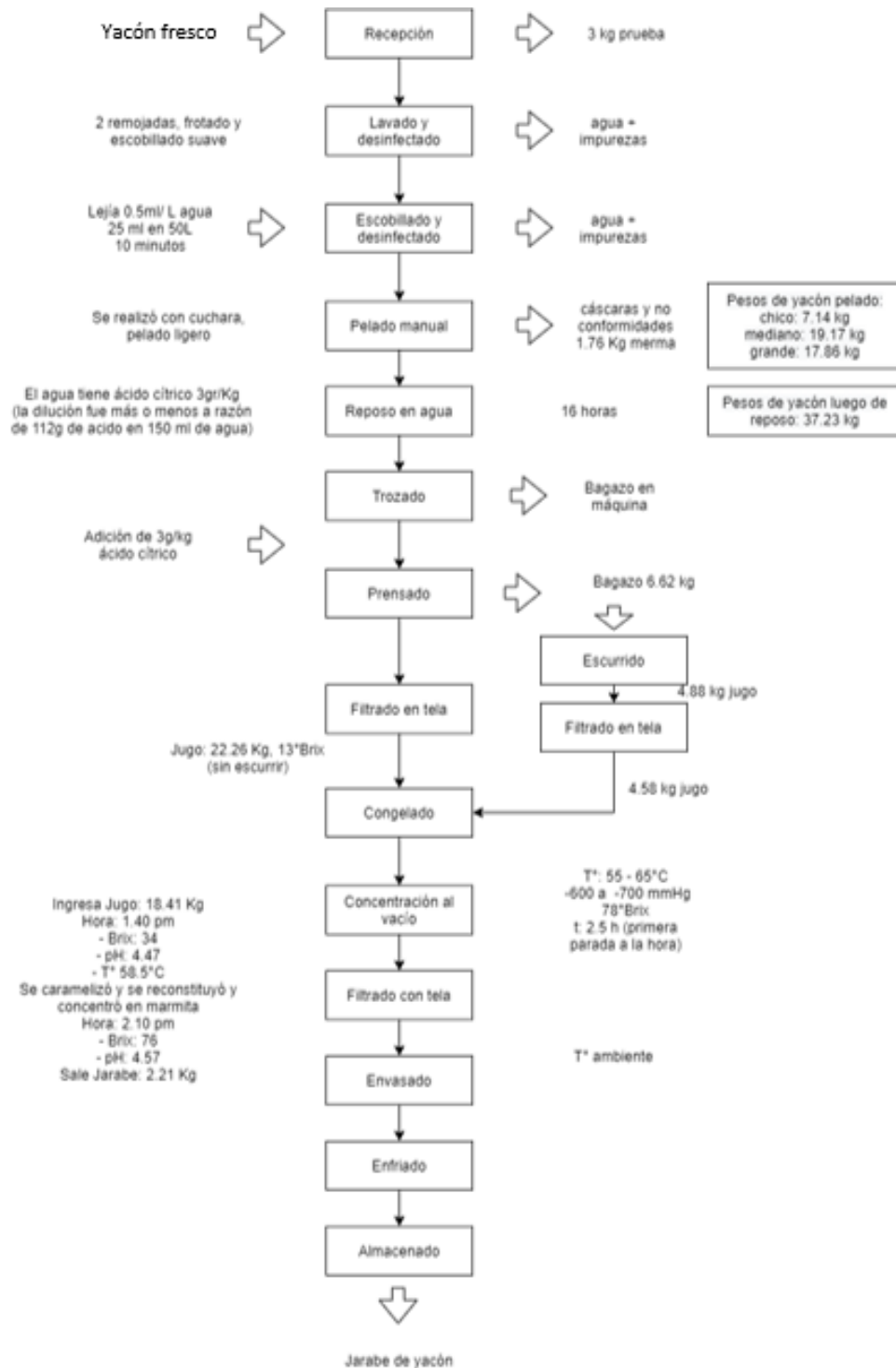
oligofruktanos en extracto de yacón (*Smallanthus sonchifolius*). Pueblo Continente, 20(1), 185-191.

Zhou, L., Liao, T., Liu, W., Zou, L., Liu, C. & Terefe, N. S. (2019). Inhibitory effects of organic acids on polyphenol oxidase: From model systems to food systems. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(21), 3594-3621. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1702500>

Zimmermann, A., Visscher, C. M., & Kaltschmitt, M. (2021). Plant-based fructans for increased animal welfare: provision processes and remaining challenges. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13(4), 2667–2685. <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01473-2>

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Flujograma de la preparación del jarabe de yacón



Anexo 2. Determinación del contenido de FOS por HPLC-RID

Preparación de los estándares de kestosa y nistosa.

Las soluciones stock de Kestosa (100 mg/mL) y Nistosa (100 mg/mL) fueron preparadas separadamente con agua ultra purificada. A partir de ellas, se prepararon 6 diferentes concentraciones (2.5, 5, 10, 15, 20 y 25 mg/mL) para la curva de calibración.

Preparación de los estándares fructosa y glucosa

Los patrones de fructosa, glucosa se preparan pesando 1,0 g de cada azúcar en un matraz aforado. Enrasar con agua grado HPLC a 25 mL, cada estándar para que quede a una concentración de 40.000 µg/mL.

Pretratamiento

Tomar un volumen de la muestra extraída con etanol al 70° con una jeringa de 3 mL de capacidad, colocar el filtro 0.22 µm micropore nylon green y filtrar en un vial de cromatografía y mantenerlo refrigerado y en oscuridad.

Curva de calibración

En un matraz aforado, verter una solución que contiene 6,25 mL de cada uno de los tres patrones de 40.000 µg/mL. Llevar al aforo (25 mL) con agua desionizada, obteniendo una mezcla de fructooligosacáridos (kestosa, nistosa), fructosa y glucosa a una concentración de 10.000 µg/mL cada azúcar. Esta mezcla de patrones fue inyectada en el cromatógrafo, se analizó 6 veces, obteniendo de ella 6 curvas de calibración.

Método de la corrida en el HPLC

Encender el equipo correctamente, colocar los viales con el extracto filtrado, colocar la columna NH₂, los solventes a utilizar. Dar las condiciones al software: Columna de HPLC amino LiChroCART Purospher STAR-NH₂ 250 x 4.6 mm, 5 µm de tamaño de partícula, fase móvil acetonitrilo/agua, 83:17 v/v, Flujo 1,2 mL/min, presión 98 PSI x 100, a temperatura 30 °C, tiempo 25 min, con una detección Índice de refracción (refractómetro diferencial). El volumen de inyección (muestras) es de 20 µl, en modo isocrático. Purgar el equipo con solventes puros. Ejecutar el método y cuantificar los analitos a través del cromatograma. Tener en cuenta que los cambios de temperatura, afectan el tiempo de retención de los analitos, y las muestras biológicas pueden poseer distintos carbohidratos, es por eso que se usa un horno columna para mantener la temperatura constante mientras dure el análisis.

Anexo 3. Determinación de la cantidad de azúcares reductores

Método Miller con la reacción del DNS

Preparación de reactivos

Solución DNS

Consiste en pesar 5.5 g NaOH y disolver en 300 mL de agua destilada, 5.0 g DNS y disolver en la anterior solución, 1 g fenol y 0,25 g de bisulfito de sodio y enrasar a 500 mL con agua destilada. Agregar la nueva disolución formada en la anterior para almacenar en un frasco ámbar y en refrigeración.

Sal Rochelle

Consiste en pesar el 40% (p/v) del tartrato de sodio y potasio, almacenar y tomar 500 μ L de muestra del sobrenadante, añadir 1 mL de agua destilada y 3 mL del reactivo DNS en tubos de tapa rosca.

Procedimiento principal

Realizar el blanco con agua destilada en lugar de la muestra, colocar 1 mL de cada muestra por cuadruplicado en los tubos de tapa rosca añadir 1 mL del reactivo DNS y 1 mL de agua destilada llevar la batería de tubos a un baño maría a 100°C por 5 minutos, transcurrido el tiempo pasar inmediatamente los tubos a un baño frío para detener la reacción, agregar 5 mL de agua destilada y homogenizar. Finalmente realizar las lecturas de absorbancia a 540 nm en un espectrofotómetro UV-VIS.

Curva de calibración

Consiste en pesar 0.3 g de glucosa y aforar en una fiola con 50 mL de agua para obtener una concentración de la solución de 6 mg/mL. Realizar diluciones sucesivas con concentraciones en el rango (0.05 mg/mL - 0.30 mg/mL).

Anexo 4. Determinación de la capacidad antioxidante

Método de inhibición del radical libre 1,1-difenil-2-picril hidrazilo (DPPH)

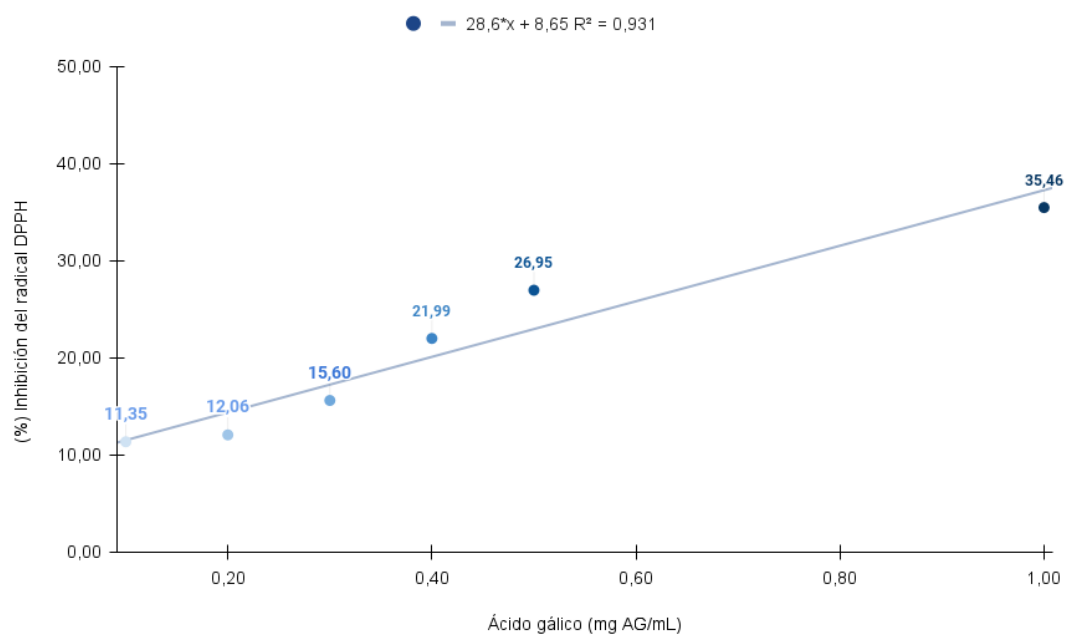
Preparación de reactivos

- Solución DPPH: Preparar una solución a una concentración de 0.11829 mg/mL en etanol.
- Solución patrón ácido gálico: 6.26 mg/mL en etanol.

Procedimiento principal

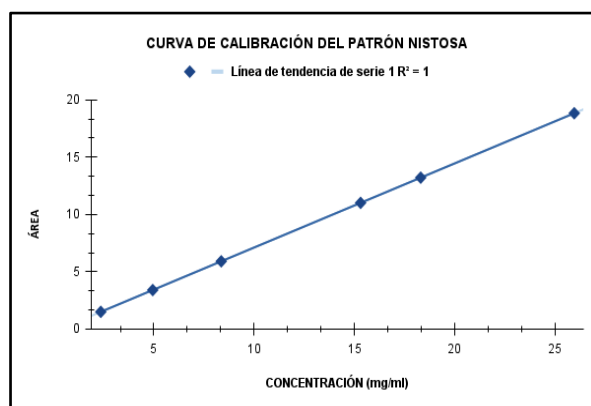
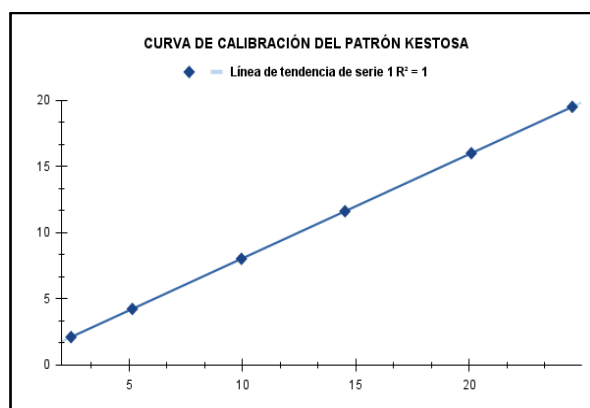
Filtrar los extractos preparados al 10 por ciento y tomar alícuotas de 2 mL para el ensayo añadir 0.8 mL del reactivo DPPH y agitar vigorosamente en un vortex. Dejar en reposo por 30 minutos al abrigo de la luz. Finalmente realizar las lecturas de absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro UV-VIS.

Anexo 5. Curva de calibración de la inhibición del radical DPPH por el estándar ácido gálico.

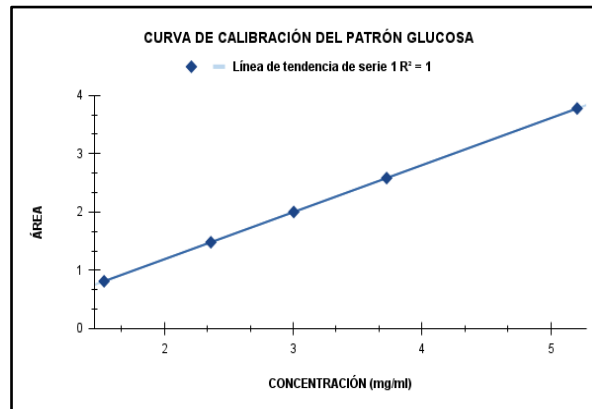
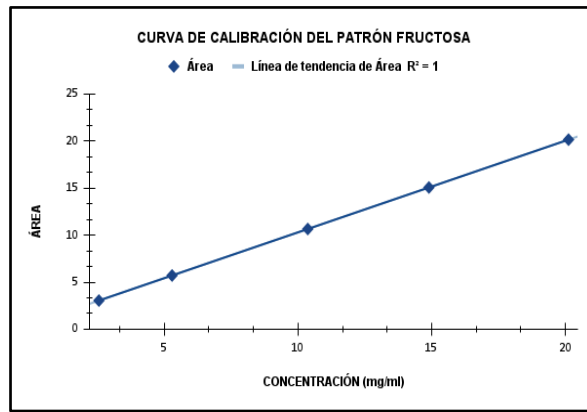


Curva de calibración de la inhibición del radical DPPH por el estándar ácido gálico.

Anexo 6. Curvas estándares de los patrones por HPLC

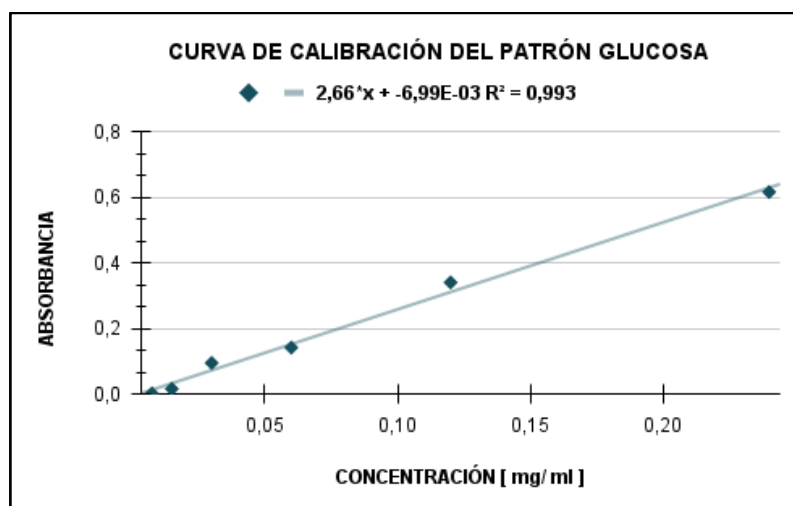


Curvas de calibración de los patrones kestosa y nistosa por HPLC.

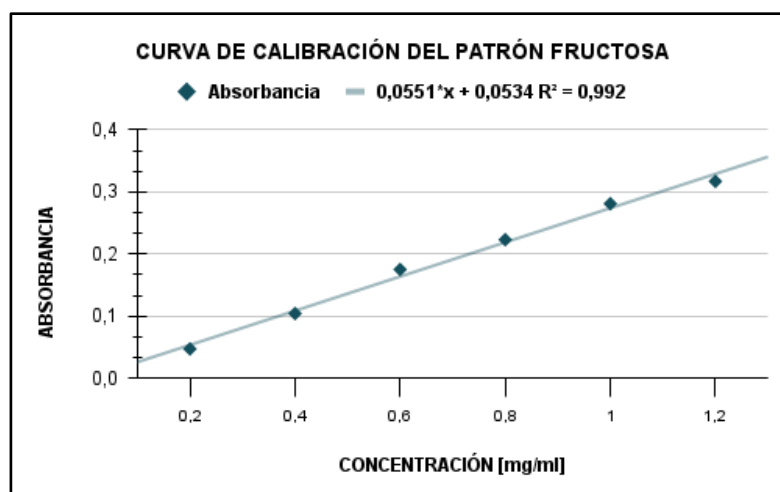


Curvas de calibración de los patrones fructosa y glucosa por HPLC.

Anexo 7. Curvas estándares de los patrones por método del DNS



Curva de calibración del patrón glucosa



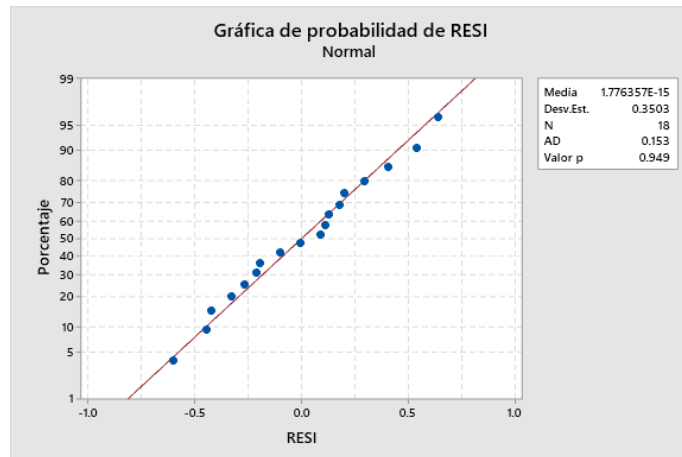
Curva de calibración del patrón fructosa

Anexo 8. Pruebas de normalidad e igualdad de varianzas

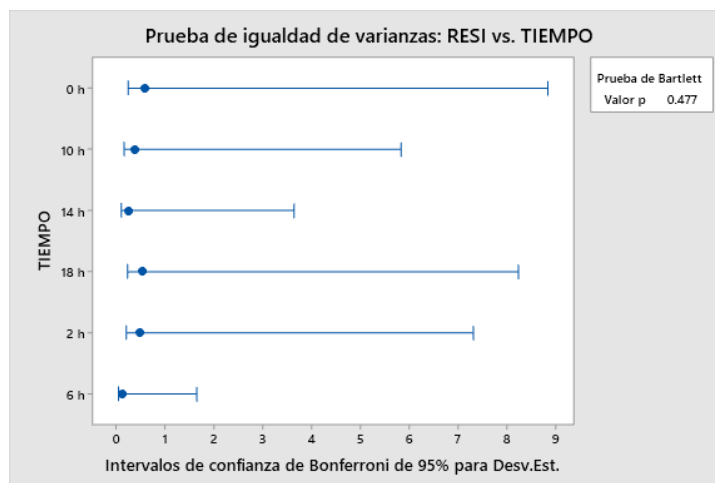
Kestosa

Aplicando los supuestos de normalidad y linealidad:

- Normalidad: Mediante el estadístico Anderson Darling, al ser p - valor $0.153 > 0.05$ se acepta la hipótesis nula los datos se ajustan a una distribución normal.



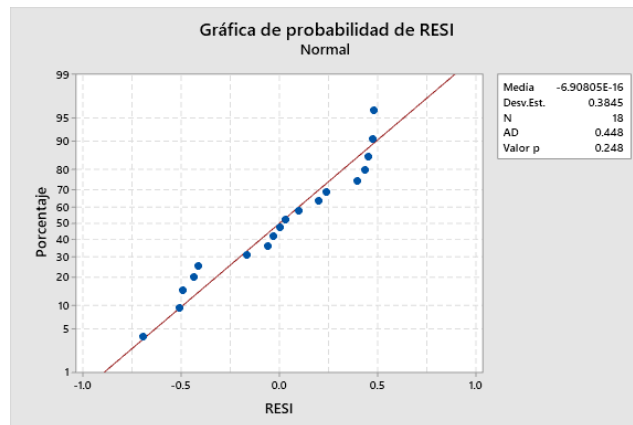
- Homogeneidad de varianzas: Al tener p- valor $0.477 > 0.05$ se acepta la hipótesis nula los datos cumplen con una homogeneidad de varianzas.



Los valores-p para el tiempo y las isotermas son menores a 0.05, lo que indica que se aprueba la hipótesis alternativa, que existen diferencias entre los tiempos y las isotermas.

Nistosa

- Normalidad: Mediante el estadístico Anderson Darling, al ser p- valor $0.448 > 0.05$ se acepta la hipótesis nula los datos se ajustan a una distribución normal.



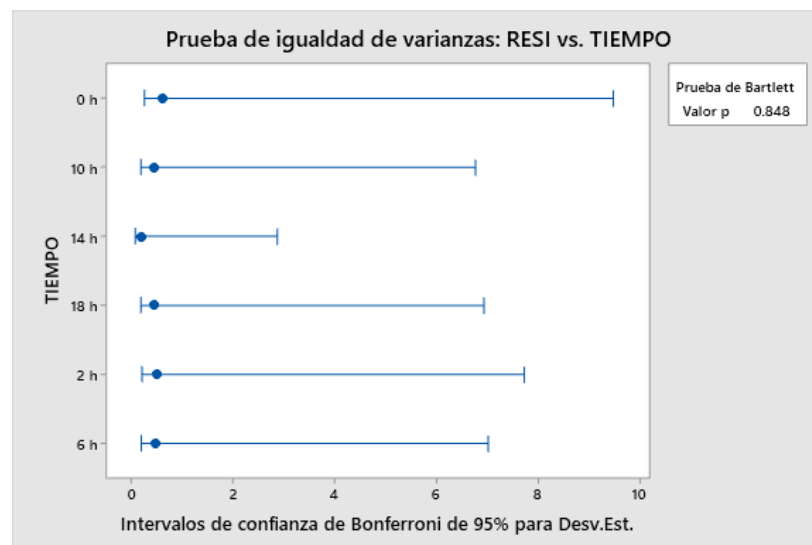
- Homogeneidad de varianzas:

Hipótesis nula: Todas las varianzas son iguales

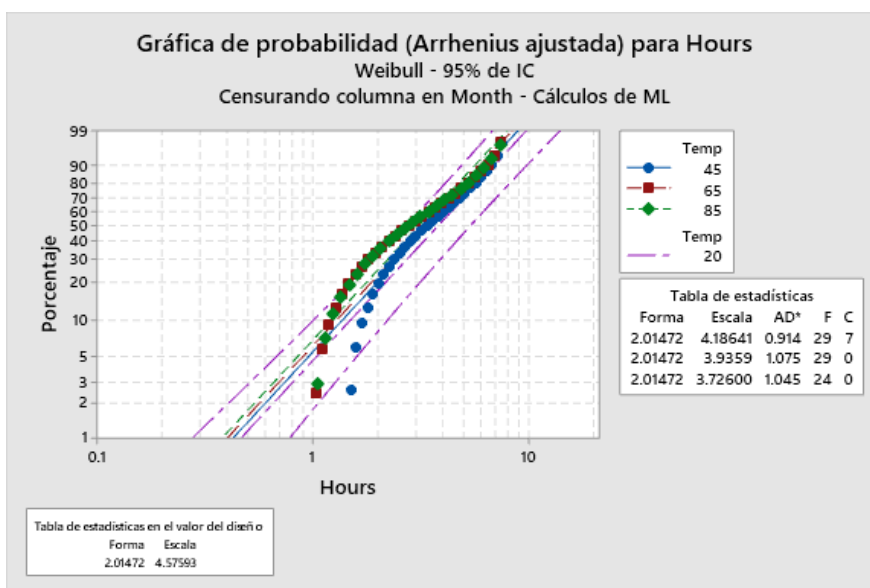
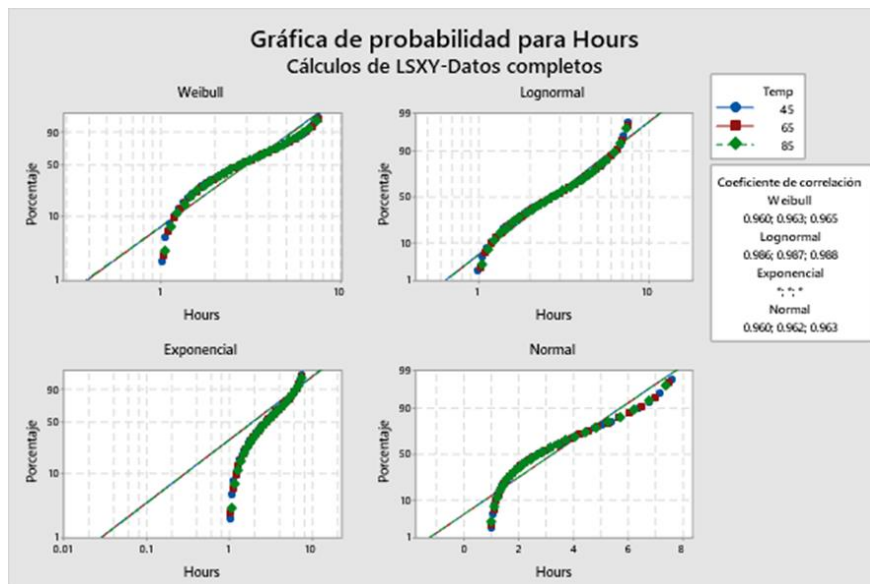
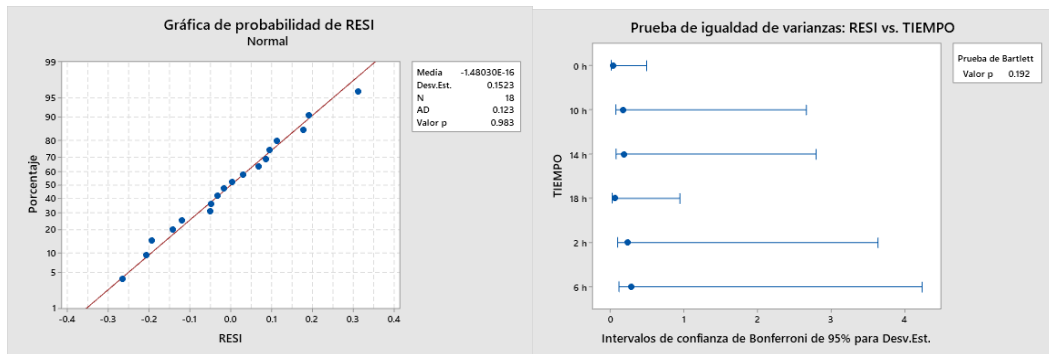
Hipótesis alterna: Por lo menos una varianza es diferente

Nivel de significancia $\alpha = 0.05$. Se utiliza el método de Bartlett. Este método es exacto sólo para datos normales.

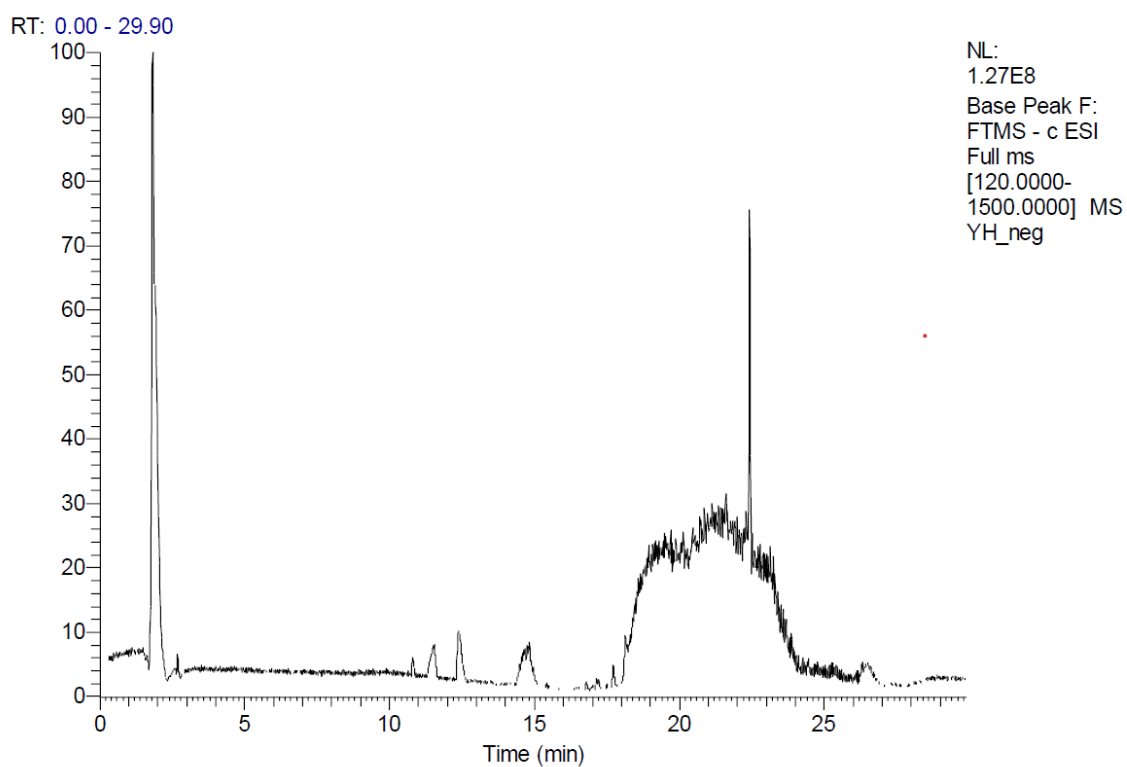
Al tener p- valor $0.848 > 0.05$ se acepta la hipótesis nula los datos cumplen con una homogeneidad de varianzas.



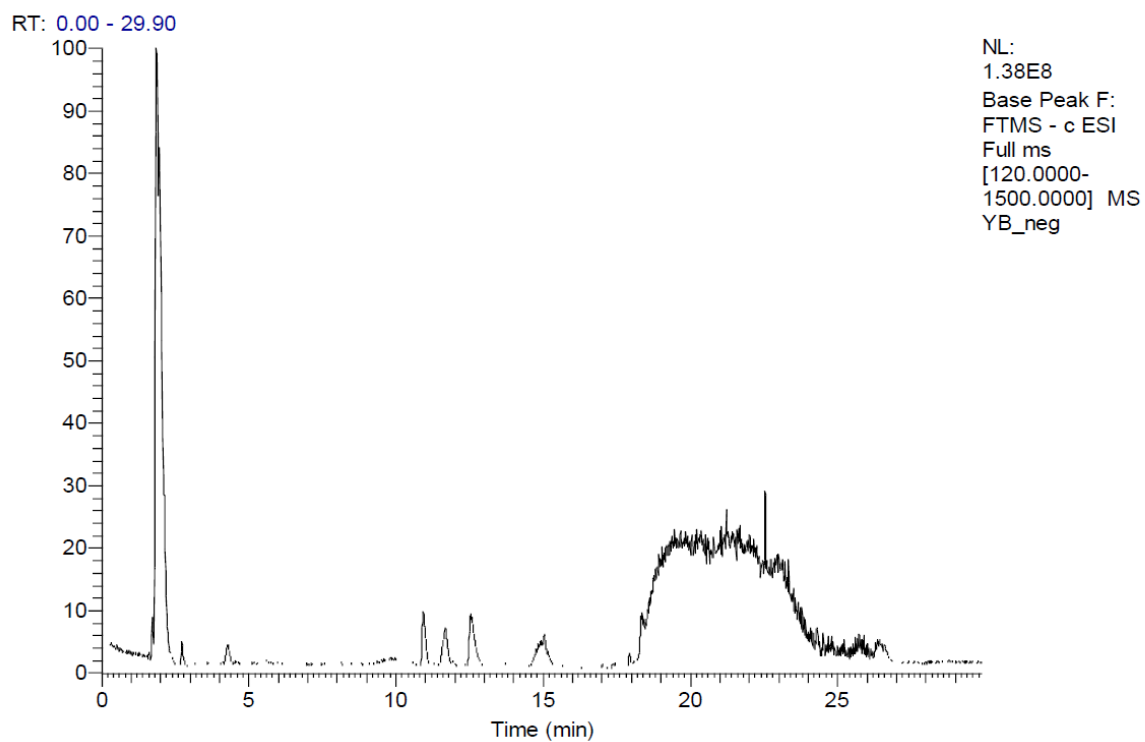
Fructosa



Anexo 9. Cromatogramas LC-MS de los jarabes de yacón de ambas procedencias



Cromatograma TIC en modo ESI negativo del jarabe de yacón de procedencia Huánuco



Cromatograma TIC en modo ESI negativo del jarabe de yacón de procedencia Amazonas

Anexo 10. Análisis estadístico

Análisis de varianza para los sacáridos bajo dos factores para la prueba preliminar

| Índice calidad | Factores | Suma de cuadrados | G.L. | Cuadrado medio | Valor - F | Valor - P |
|-----------------------|-----------------|--------------------------|-------------|-----------------------|------------------|------------------|
| Kestosa | Temperatura | 2,123 | 2 | 1,062 | 10,16 | 0,004 |
| | Tiempo | 2,822 | 5 | 0,564 | 5,40 | 0,012 |
| Nistosa | Temperatura | 7,472 | 2 | 3,736 | 29,71 | 0,000 |
| | Tiempo | 12,861 | 5 | 2,572 | 20,45 | 0,000 |
| Fructosa | Temperatura | 2,516 | 2 | 1,258 | 63,66 | 0,000 |
| | Tiempo | 2,056 | 5 | 0,411 | 20,80 | 0,000 |
| Glucosa | Temperatura | 0,007 | 2 | 0,004 | 0,02 | 0,984 |
| | Tiempo | 0,051 | 2 | 0,025 | 0,12 | 0,894 |

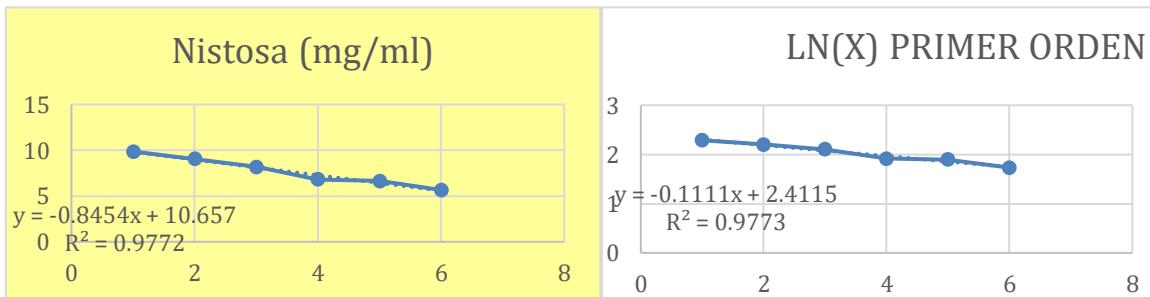
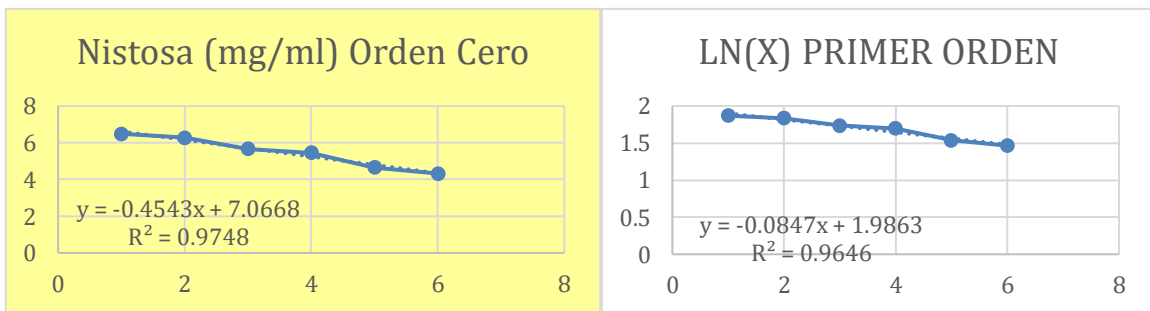
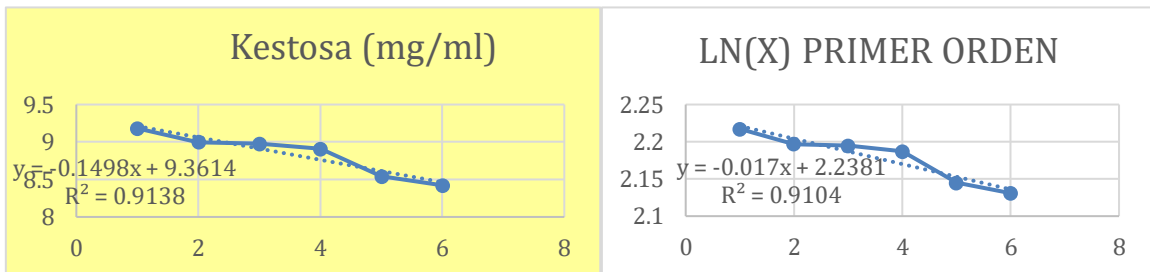
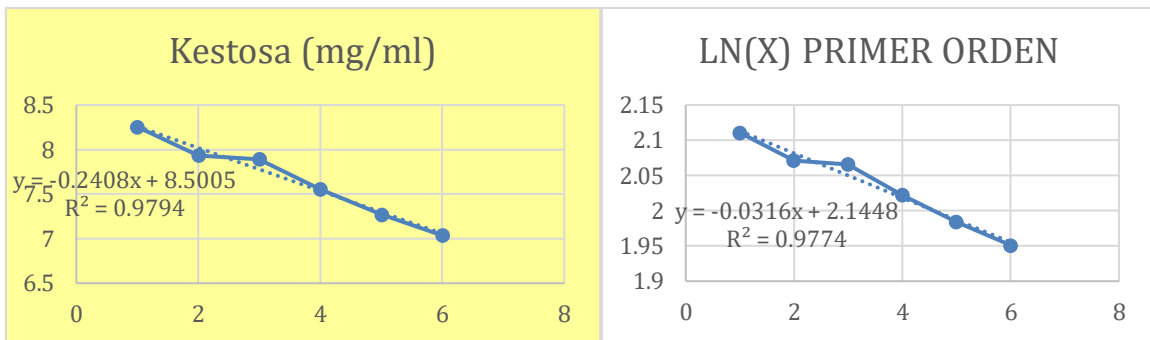
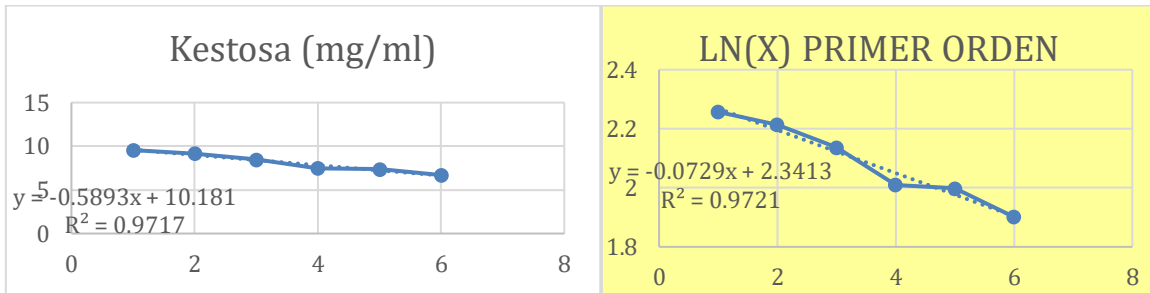
Análisis de varianza para los indicadores de calidad bajo tres temperaturas en un intervalo de tiempo para las pruebas definitivas.

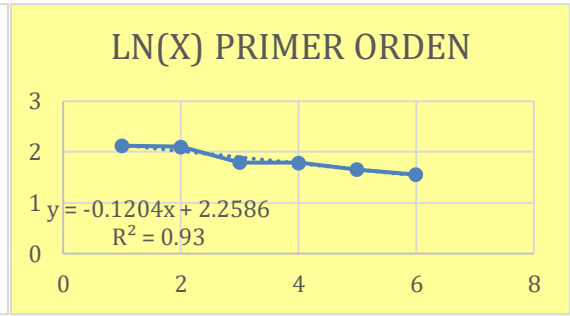
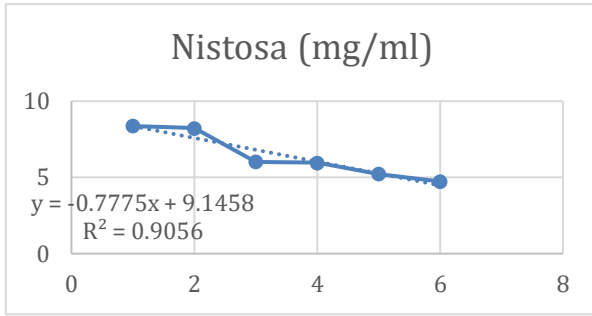
| Índice calidad | Factores | Suma de cuadrados | G.L. | Cuadrado medio | Valor - F | Valor - P |
|------------------------|-----------------|--------------------------|-------------|-----------------------|------------------|------------------|
| Kestosa | Temperatura | 2,498 | 1 | 2,498 | 6,41 | 0,065 |
| | Tiempo | 9,952 | 4 | 2,488 | 6,39 | 0,050 |
| Nistosa | Temperatura | 2,102 | 1 | 2,102 | 2,92 | 0,163 |
| | Tiempo | 4,927 | 4 | 1,232 | 1,71 | 0,308 |
| Capacidad antioxidante | Temperatura | 680320 | 2 | 340160 | 28,64 | 0,000 |
| | Tiempo | 123663 | 5 | 24733 | 2,08 | 0,151 |
| Azúcares reductores | Temperatura | 117,998 | 2 | 58,999 | 7,75 | 0,009 |
| | Tiempo | 2,250 | 5 | 0,450 | 0,06 | 0,997 |

Prueba Fisher de comparaciones múltiples para los indicadores de calidad bajo tres temperaturas en un intervalo de tiempo para las pruebas definitivas.

| Índice calidad | Temperatura | Media | Agrupación | Contraste | Valor-P | Sig. |
|------------------------|-------------|--------|------------|-------------|---------|------|
| Kestosa | T.A. | 1,550 | A | T.A.-45°C | 0,224 | No |
| | 45 °C | 0,551 | A | | | |
| Nistosa | T.A. | 1,009 | A | T.A.-45°C | 0,180 | No |
| | 45 °C | 0,092 | A | | | |
| Capacidad antioxidante | 45 °C | 144,35 | A | 65 °C-45 °C | 0,000 | Si |
| | 65 °C | 63,2 | A | 85 °C-45 °C | | |
| | 85 °C | -302,6 | B | 85 °C-65 °C | | |
| Azúcares reductores | 45 °C | 16,30 | A | 65 °C-45 °C | 0,001 | Si |
| | 65 °C | 17,17 | A | 85 °C-45 °C | | |
| | 85 °C | 11,36 | B | 85 °C-65 °C | | |

Anexo 11. Gráficos para analizar el orden de reacción

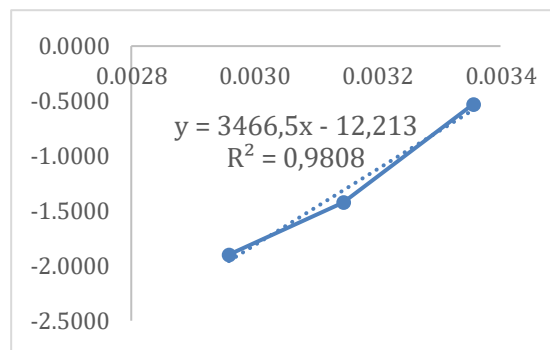




Anexo 12. Variables cinéticas

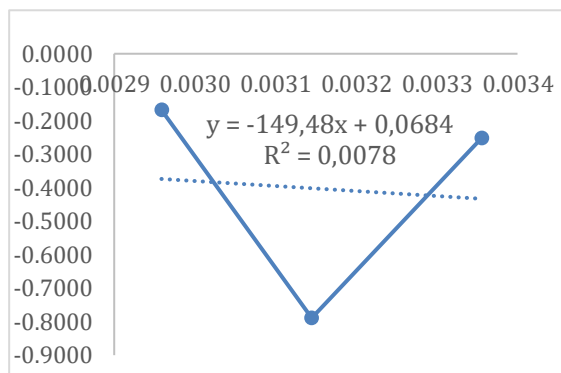
- Kestosa

| Temperatura (°C) | Velocidad de degradación (k) | Tiempo de vida media (t1/2) en días | 1/°T (°K) | LN (k) |
|------------------|------------------------------|-------------------------------------|-----------|---------|
| 25 | 0.5893 | 1.1762 | 0.0034 | -0.5288 |
| 45 | 0.2408 | 2.8785 | 0.0031 | -1.4238 |
| 65 | 0.1498 | 4.6272 | 0.0030 | -1.8985 |



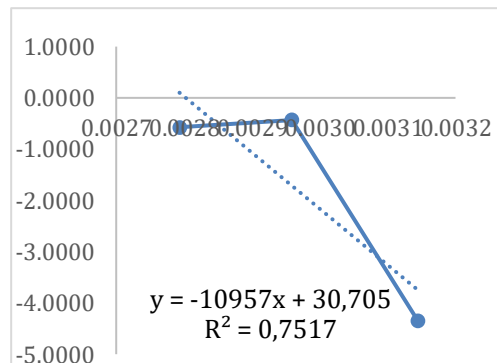
- Nistosa

| Temperatura (°C) | Velocidad de degradación (k) | Tiempo de vida media (t1/2) en días | 1/°T (°K) | LN (k) |
|------------------|------------------------------|-------------------------------------|-----------|---------|
| 25 | 0.7775 | 0.8915 | 0.0034 | -0.2517 |
| 45 | 0.4543 | 1.5257 | 0.0031 | -0.7890 |
| 65 | 0.8454 | 0.8199 | 0.0030 | -0.1679 |



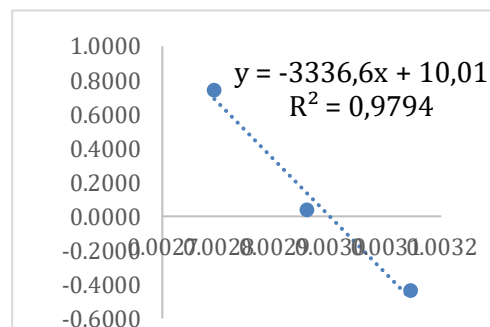
- Capacidad antioxidante

| Temperatura (°C) | Velocidad de degradación (k) | Tiempo de vida media (t1/2) en días | 1/°T (°K) | LN (k) |
|------------------|------------------------------|-------------------------------------|-----------|---------|
| 45 | 0.0129 | 53.7323 | 0.0031 | -4.3505 |
| 65 | 0.6482 | 1.0693 | 0.0030 | -0.4336 |
| 85 | 0.5619 | 1.2336 | 0.0028 | -0.5764 |



- Azúcares reductores

| Temperatura (°C) | Velocidad de degradación (k) | Tiempo de vida media (t1/2) en días | 1/°T (°K) | LN (k) |
|------------------|------------------------------|-------------------------------------|-----------|---------|
| 45 | 0.6462 | 1.0727 | 0.0031 | -0.4366 |
| 65 | 1.0407 | 0.6660 | 0.0030 | 0.0399 |
| 85 | 2.0991 | 0.3302 | 0.0028 | 0.7415 |



Anexo 13. Galería de fotos



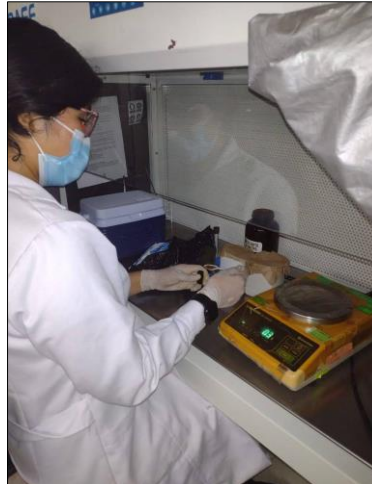
Obtención de las raíces de yacón



Traslado de las raíces en cadena de frío



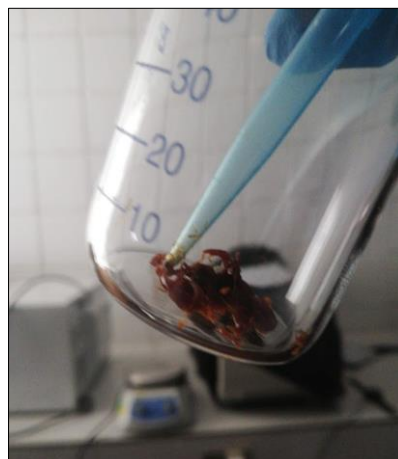
Llegada de las raíces al INDDDA



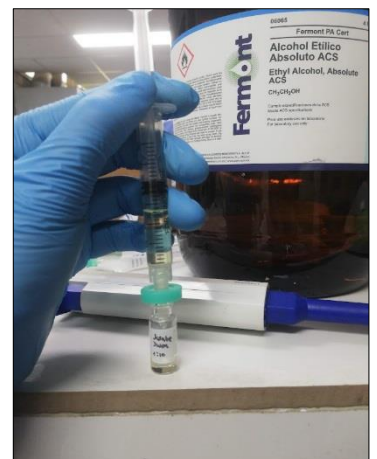
Envasado del jarabe de yacón



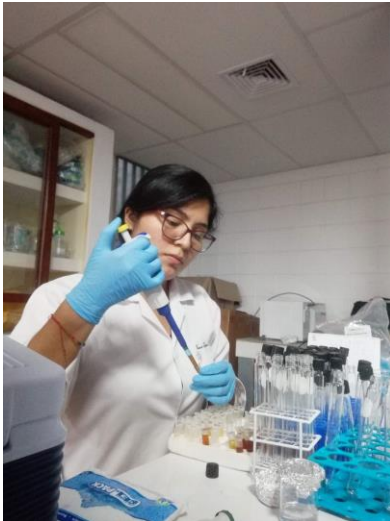
Tratamiento de temperaturas de las muestras



Muestra después del tratamiento



Desarrollo del ensayo



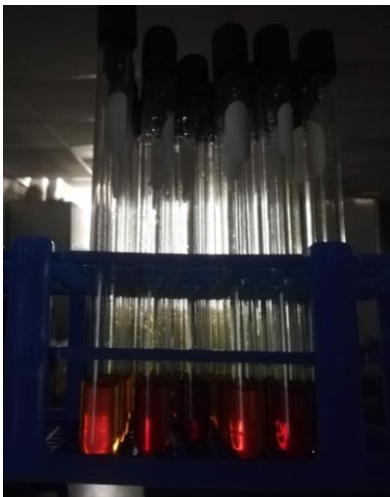
Ensayo de azúcares totales



Ensayo del DPPH



Ensayo de FOS



Tubos después del ensayo de la capacidad antioxidante



Lectura en el UV-VIS

