

“UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE CHOTA”

Creada por Ley Nro. 29531



**“ESTUDIO COMPARATIVO DE DOS MÉTODOS DE INACTIVACIÓN DE
POLIFENOL OXIDASA EN RODAJAS DE YACÓN (*Smallanthus
Sonchifolius*)”**

TESIS

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERA AGROINDUSTRIAL**

Bach. BURGA MUÑOZ KATTIA MARILYN

CHOTA-PERÚ

2021

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

ACTA N° 002-2021/EPIA - FCA/UNACH

Siendo las 11:05 horas, del día 19 de marzo de 2021, en video conferencia del aplicativo Meet Google <https://meet.google.com/dxh-zwkb-jna>, los miembros del Jurado de Tesis titulada: "Estudio comparativo de dos métodos de inactivación de polifenol oxidasa en rodajas de yacón (*Smallanthus sonchifolius*)", integrado por:

- | | |
|--|------------|
| 1. Ms. Augusto Antonio Mechato Anastasio | Presidente |
| 2. M.Sc. José Paúl Casas Vásquez | Secretario |
| 3. Mg. Gina De La Cruz Calderón | Vocal |

Sustentada por la Bach. Kattia Marilyn Burga Muñoz, con la finalidad de obtener el Título Profesional en Ingeniería Agroindustrial.

Terminada la sustentación, con las preguntas formuladas por los integrantes del Jurado y las respuestas otorgadas por el graduando, luego de deliberar, acuerda Aprobar, la tesis, calificándola con la nota de: 12 (doce), se eleva la presente Acta al Coordinador de la Facultad de Ciencias Agrarias, a fin de que se le declare EXPEDITO para conferirle el Título Profesional.

Firmado en: Chota, 19 de marzo del 2021



Ms. Augusto Antonio Mechato Anastasio
Presidente



Mg. Gina De La Cruz Calderón
Vocal



MSc. José Paúl Casas Vásquez
Secretario

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por concederme la vida y el camino para alcanzar esta meta. A mi familia especialmente a mis padres por su amor, comprensión y por darme fuerza para seguir adelante con mi carrera profesional en todo momento; asimismo a mis hermanos por su apoyo incondicional y consejos. A la Universidad Nacional Autónoma de Chota y a mi Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial (EPIA) por brindarme los conocimientos para mi formación profesional y personal y por su intermedio al M.Sc. Chuquizuta Trigoso Tony Steven asesor de la presente tesis, quien brindó su apoyo incondicional para su ejecución, por su paciencia y el soporte cognitivo aportado; al Mg (c). Castro Santander Publio Oscar co-asesor de la presente tesis, por la ayuda incondicional y formar parte de esta investigación. Agradecer al Ing. Jimy Oblitas Cruz por brindarme la oportunidad para desarrollar las pruebas de espectrofotometría en el laboratorio de química de la Universidad Nacional de Cajamarca. A todos mis compañeros y especialmente a mis amigos y amigas que estuvieron ahí siempre en los diferentes logros y dificultades presentadas en el transcurso estudiantil.

DEDICATORIA

A Dios todo poderoso, por estar siempre en cada momento de mi vida, en cada paso que doy, por fortalecer y llenar de amor a mi corazón.

A mis queridos padres Emperatriz Muñoz Sánchez y Gerónimo Burga Vásquez por su apoyo incondicional a lo largo de mi vida; por su eterno amor, afecto, comprensión y confianza que siempre depositaron en mí.

A mis hermanos por incentivar me a seguir adelante y a todas las personas que con amor me brindaron su apoyo y fueron partícipes de mi día a día.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	9
ABSTRACT.....	10
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	11
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	15
2.1. Antecedentes.....	15
2.2. Bases teóricas.....	22
2.2.1.El yacón (<i>S. sonchifolius</i>).....	22
2.2.2.Actividad enzimática en alimentos.....	27
2.2.3.Pardeamiento enzimático.....	30
2.2.4.Métodos de inactivación enzimática en la industria de alimentos:.....	32
2.2.5.Determinación de inhibición de PFO mediante espectrofotometría.....	36
2.2.6.Análisis de imagen.....	39
2.3. Marco conceptual.....	42
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO.....	44
3.1. Ubicación.....	44
3.2. Población y muestra.....	44
3.2.1.Población.....	44
3.2.2.Muestra.....	44
3.3. Desarrollo experimental.....	44
3.4. Equipos, materiales e insumos.....	45
3.4.1.Equipos.....	45
3.4.2.Materiales.....	46
3.4.3.Reactivos e insumos.....	47
3.5. Metodología de la investigación.....	48
3.5.1.Acondicionamiento de las rodajas de yacón.....	48
3.5.2.Determinación de propiedades físico-químicas pre y post tratadas.....	48
3.5.3.Diseño experimental.....	50

3.5.4. Determinar la actividad de polifenol oxidasa en rodajas de yacón mediante espectrofotometría y visión por computadora.....	52
3.6. Análisis estadístico	55
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	56
4.1. Caracterización físico-químicas del yacón antes y después del tratamiento de escaldado y acidificado	56
4.2. Actividad de polifenol oxidasa en rodajas de yacón mediante espectrofotometría	60
4.3. Actividad de polifenol oxidasa en rodajas de yacón mediante visión por computadora (CIELab*).....	68
4.4. Resultados de la optimización de múltiples respuestas de los tratamientos de escaldado y acidificado	73
4.5. Gráfico de comparación de Tukey para la inhibición de PFO	77
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	79
5.1. Conclusiones.....	79
5.2. Recomendaciones.....	80
CAPÍTULO VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
CAPÍTULO VII. ANEXOS	94

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Taxonomía del yacón.	23
Tabla 2 Composición química del yacón.	25
Tabla 3 Lista de equipos de investigación.	46
Tabla 4 Lista de materiales utilizados.	46
Tabla 5 Lista de reactivos e insumos.	47
Tabla 6 Matriz de diseño experimental para tratamiento de escaldado.	51
Tabla 7 Matriz de diseño experimental para tratamiento de acidificado.	52
Tabla 8 Detalles de la construcción del sistema de adquisición de imágenes.	54
Tabla 9 Caracterización físico-química del yacón.	56
Tabla 10 Caracterización físico-química del yacón escaldado a 75 °C por 5 min.	58
Tabla 11 Caracterización físico-química del yacón acidificado con concentración de ácido cítrico de 0,7% y tiempo de 12 min.	60
Tabla 12 Inhibición de PFO con el tratamiento de escaldado.	61
Tabla 13 Valor óptimo maximizado del % de inhibición para las variables temperatura y tiempo.	63
Tabla 14 Inhibición de PFO con el tratamiento de acidificado.	64
Tabla 15 Valor óptimo maximizado del % de inhibición para las variables concentración de ácido cítrico y tiempo.	67
Tabla 16 Índice de color L*, a* y b* para el tratamiento de escaldado.	68
Tabla 17 Índice de color L*, a* y b* para el tratamiento de acidificado.	71
Tabla 18 Valor óptimo de maximización de múltiples respuestas (temperatura y tiempo).	74
Tabla 19 Valor óptimo de maximización de múltiples respuestas (concentración de ácido cítrico y tiempo).	75

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Yacón variedad anaranjada.	24
Figura 2 Fases de la transformación enzimática de compuestos fenoles a polímeros coloreados.	29
Figura 3 Espectro electromagnético.	38
Figura 4 Espacio de Color CIE-L*a*b*.	42
Figura 5 Diagrama de flujo de obtención de resultados.	45
Figura 6 Diagrama de Pareto para el tratamiento de escaldado.	62
Figura 7 Superficie de respuesta estimada para el % de inhibición a diferentes temperaturas y tiempos.	62
Figura 8 Diagrama de Pareto para el tratamiento de acidificado.	66
Figura 9 Superficie de respuesta estimada para el % de inhibición a diferentes concentraciones de ácido cítrico y tiempos.	67
Figura 10 Superficie de respuesta L* a* y b* (temperatura y tiempo).	70
Figura 11 Superficie de respuesta L* a* y b* (concentración de ácido cítrico y tiempo). ..	73
Figura 12 Superficie de respuesta de la deseabilidad y optimización de respuestas.	75
Figura 13 Superficie de respuesta de la deseabilidad y optimización de múltiples respuestas.	77
Figura 14 Comparación de Tukey para la inhibición de PFO.	78

RESUMEN

El objetivo de esta tesis fue comparar la eficiencia de los métodos de inactivación de polifenol oxidasa (PFO): escaldado y acidificado mediante el porcentaje de inhibición de PFO y color CIEL*a*b* en rodajas de yacón (*Smallanthus Sonchifolius*). Las raíces provenientes de la comunidad de Chororco, Chota-Cajamarca, fueron seleccionadas y clasificadas en cuanto a color, tamaño y ausencia de daños mecánicos o biológicos, a continuación, se realizó la limpieza y desinfección con hipoclorito de sodio a 150 ppm. Las raíces de yacón utilizadas tuvieron como valores iniciales 9,4 ±0,36 de sólidos solubles totales (°Brix); 6,03 ±0,46 de pH; 0,28 ±0,06 acidez (ácido cítrico) y 90,91 ±0,65% de contenido de humedad. Para la presente investigación se utilizó el modelo 3^K con tres puntos centrales; las variables para el tratamiento de escaldado fueron temperatura (65, 75 y 85 °C) y tiempo (5, 10, 15 minutos) y para el tratamiento de acidificado fueron la concentración de ácido cítrico (0,3; 0,5 y 0,7% de ácido cítrico) y tiempo de (6, 9 y 12 minutos). Para determinar el porcentaje de inhibición de polifenol oxidasa se utilizó el método por espectrofotometría utilizando como sustrato catecol al 1% y para el análisis de color se utilizó el método de visión por computadora. De acuerdo a los resultados obtenidos, el tratamiento 5 mediante escaldado presentó una mayor eficiencia al inhibir un mayor porcentaje de PFO en 75,85% aplicando temperatura de 75 °C por un tiempo de 5 minutos, el análisis estadístico demostró que la variable tiempo tuvo un efecto significativo en la inhibición de la PFO. El tratamiento 10 de escaldado con una temperatura de 75 °C por un tiempo de 10 minutos obtuvo mejores valores con respecto a los índices L*=85,09; a*=-2,51 y b*=12,79. En cuanto a la caracterización físico-química ambos tratamientos de inhibición mostraron disminución en cuanto al pH, °Brix, acidez (valores de ácido cítrico) y un aumento en cuanto al contenido de humedad.

Palabras claves: Inhibición, PFO, color.

ABSTRACT

The objective of this thesis was to compare the efficiency of the methods of inactivation of polyphenol oxidase (PFO): scalded and acidified by the percentage of inhibition of PFO and CIEL*a*b* color in yacon slices (*Smallanthus Sonchifolius*). The roots from the community of Chororco, Chota-Cajamarca, were selected and classified in terms of color, size and absence of mechanical or biological damage, then cleaned and disinfected with sodium hypochlorite at 150 ppm. The yacon roots used had as initial values 9,4 ±0,36 of total soluble solids (°Brix); 6,03 ±0,46 of pH; 0,28 ±0,06 acidity (citric acid) and 90,91 ±0,65% of moisture content. For the present investigation we used the 3K model with three central points; the variables for the treatment of scald were temperature (65, 75 and 85 °C) and time (5, 10, 15 minutes) and for the treatment of acidified were the concentration of citric acid (0,3; 0,5 and 0,7% citric acid) and time (6, 9 and 12 minutes). To determine the percentage of inhibition of polyphenol oxidase, the spectrophotometry method was used using 1% catechol substrate and for color analysis the computer vision method was used. According to the results obtained, treatment 5 by scalding presented a greater efficiency by inhibiting a higher percentage of PFO in 75,85% applying temperature of 75 °C for a time of 5 minutes, Statistical analysis showed that the time variable had a significant effect on PFO inhibition. The 10 scald treatment with a temperature of 75 °C for a time of 10 minutes obtained better values with respect to the indices L*=85,09; a*=-2,51 and b*=12,79. In terms of physico-chemical characterization, both inhibition treatments showed a decrease in pH, °Brix, acidity (citric acid values) and an increase in moisture content.

Keywords: Inhibition, PFO, color.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, las nuevas tendencias de consumo están dirigidas a productos funcionales y/o nutracéuticos que proporcionan beneficios para la salud y previenen el riesgo de enfermedades englobando tanto a nutrientes aislados suplementos y dietas específicas SIICEX (2012), evidenciando que el 10,8% de personas mayores de 15 años consumen al menos cinco porciones de frutas al día INEI (2017), conllevando a una creciente demanda de alimentos mínimamente procesados que presenten beneficios para la salud y en presentaciones unipersonales de fácil consumo. Algunos de los principales productos peruanos con funciones nutraceúticas se destacan la uña de gato, maca y el yacón (SIICEX, 2012).

En el Perú, se siembra y cultiva una raíz tuberosa conocida como yacón (*Smallanthus sonchifolius*). Ha sido domesticada en los Andes hace varios siglos desde la época preincaica principalmente en las zonas fronterizas de Ecuador, Perú y norte de Bolivia Cadena (2011). El yacón adopta distintas formas como: tuberosas, fusiformes, ovaladas y alargadas; el sabor dulce de la pulpa se debe principalmente al alto contenido de fructooligosacáridos (FOS) denominado inulina y azúcares simples (Hernández, 2009; Cadena, 2011; Polanco, 2011).

La popularidad del yacón, por ser un alimento de consumo en fresco con propiedades medicinales, ha despertado fuerte interés como tratamiento de: diabetes y sobrepeso, debido a su acción hipoglicemiante como agente prebiótico y a su vez contribuye un mínimo porcentaje de calorías al organismo debido a sus compuestos químicos como la inulina y los oligofructanos (Cadena, 2011); Bocanegra y Espinoza (2013), el yacón en su composición presenta compuestos químicos que provocan reacciones oxidativas, y al ser sometidas a procesos de industrialización afectan la calidad del producto procesado.

El procesamiento mínimo de frutas, en especial el yacón, el principal inconveniente es el pardeamiento enzimático, ocasionado por los substratos fenólicos, la polifenol oxidasa (PFO) y el oxígeno molecular (O_2) que se mezclan bajo condiciones apropiadas de pH, temperatura y actividad de agua provocando una vida útil corta (Artés et al., 1998). Esta reacción es originada cuando la enzima polifenol oxidasa cataliza la oxidación de distintos compuestos fenólicos y como consecuencia son las apariciones de pigmentos oscuros no deseables en las propiedades organolépticas (sabor y textura), además, el desprendimiento de olores negativos y bajo valor nutricional en frutas y vegetales en la actividad industrial (Sellés, 2007; Suárez et al. 2009; Denoya et al. 2012).

Las reacciones de oxidación que ocasiona el pardeamiento de frutos y vegetales son de origen enzimático y van asociados a procesos de catalización principalmente por la enzima polifenol oxidasa (PFO E.C.1.10.1.1) enzima que cataliza la oxidación de fenoles a o-quinonas en presencia de oxígeno utilizando cobre como grupo prostético originando la formación de pigmentos de coloración marrón (melaninas) debido a la polimerización de las quinonas en presencia de aminoácidos y proteínas Civera (2012), esta enzima actúa durante el procesamiento y senescencia de frutas y vegetales catalizando la orto-hidroxilación de monofenoles para producir orto-difenoles y originar la oxidación de orto-difenoles a ortoquinonas provocando la pérdida de la integridad del tejido celular de las superficies de las frutas, el deterioro de las características organolépticas del producto disminuyendo su valor proteico causando grandes pérdidas económicas en la industria de frutas y vegetales (Pérez, 2003; Barranco, 2003; Bravo, 2016; Muñoz y Calderón, 2011).

Se han desarrollado diversas técnicas de inhibición o inactivación de la polifenol oxidasa, en especial el escaldado y el acidificado. El tratamiento por escaldado descritos en su metodología por Avallone et al., (2000); Mendoza y Herrera, (2012); Mostacero y Ruiz, (2014); Latorre et al., (2013) mencionan que generalmente son aplicadas a frutas y hortalizas para su conservación, este tratamiento a su vez presenta algunas desventajas

en cuanto a la pérdida de textura, color, sabor y calidad nutritiva debido al proceso de calentamiento y la formación de sabores de cocido, cierta pérdida de sólidos solubles e impacto ambiental por la demanda excesiva de agua y energía (Mostacero y Ruiz, 2014).

Asimismo, se han desarrollado el método de acidificación utilizados por Gasull y Becerra, (2006); Blanch et al., (2011); Gil et al., (2012); Bravo y Osorio, (2015); Garcia y Huarte, (2017) quienes han demostrado que dicha técnica inhibe agentes enzimáticos en pera (*cv Packam's Triumph*) y manzana (*cv. Red Delicious*); carambolo (*Averrhoa carambola L.*), banano (*cavendish*), cabo (*Physalis peruviana*) y en papa de la variedad Spunta sin embargo, Rivera et al., (2004) demostraron que la adición de ácido cítrico como agente de inhibición no muestra cambios relevantes en inactivación de polifenol oxidasa en pulpa de uva caimaroná (*Pourouma cecrepiifolia*).

Por tal motivo, la presente investigación busca responder a ¿Cuál de los dos métodos: tratamiento por escaldado o por acidificado es el más eficiente en la inactivación de la polifenol oxidasa (PFO) en rodajas de yacón (*Smallanthus sonchifolius*)?. Esta investigación se justifica en la búsqueda de alternativas de procesamiento y conservación de esta raíz tuberosa como producto mínimamente procesado, debido a que el pardeamiento enzimático y la velocidad de oxidación son muy rápidos provocando la pérdida de sus características físico-químicas y nutricionales demandadas en gran medida, debido a los beneficios de su consumo para la salud humana.

Los resultados de la presente investigación propondrán un procedimiento metodológico que no presenten peligro alguno para la salud ni afecta los atributos sensoriales de las rodajas de yacón, al darle valor agregado se contribuirá con una mejora en la promoción de dicha raíz exótica y con ello conlleva a su mejor distribución y comercialización a nivel nacional como internacional.

El objetivo de la investigación fue comparar los métodos de escaldado y acidificado, en la inactivación de la enzima polifenol oxidasa (PFO) en rodajas de yacón (*Smallanthus sonchifolius*); para ello se caracterizó físico-químicamente las muestras antes y después del tratamiento de inactivación de la enzima PFO, se aplicó los tratamientos de escaldado y acidificado en rodajas de yacón y por último, se determinó la actividad de la PFO en rodajas de yacón tratadas mediante espectrofotometría y sistema de visión computacional (SVC).

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. Inactivación de PFO mediante escaldado:

La elaboración de frutos mínimamente procesados, como en *Carica papaya* los problemas en el transcurso del proceso es la actividad de polifenol oxidasa y peroxidasa. La inactivación enzimática se realizó mediante la técnica de escaldado a una temperatura de 87 °C durante 1 minuto. Para la determinación de la actividad de la PFO se adicionó 3 mL de catecol 0,1 M y 96 mL de tampón de fosfato 0,2 M; pH 6 (sustrato) se estabilizó en baño maría a 30 °C. Al sustrato se añadió 1 mL de extracto enzimático y se realizaron 10 lecturas cada minuto en un espectrofotómetro a 425 nm, se pudo determinar que la mejor manera de inhibición fue por escaldado (Avallone et al. 2000).

La polifenol oxidasa (PFO) y peroxidasa (POD) extraída de pulpa de guayaba (*Psidium guajava R.*) para el proceso de extracción del extracto crudo se sometió a tratamiento térmico de 60 °C, 65 °C, 70 °C, 75 °C y 80 °C durante 0 a 10 minutos; seguidamente el extracto fue preparado utilizando la solución tampón fosfato de sodio 100 mM con un pH de 6,0 a 7,0 en intervalos de 0,1; la actividad de la PFO se determinó mediante el siguiente método: 0,5 mL de PFO con 0,8 mL de tampón fosfato de sodio 100 mM, pH 6,8 y 0,5 mL de solución de catecol 10 mM, la muestra fue incubada por 30 minutos a 30 °C en baño de agua luego se adicionó 0,8 mL de solución de ácido perclórico 2 M y los tubos fueron sumergidos en baño de hielo. Los resultados obtenidos demostraron que la actividad enzimática disminuye en cuanto al aumento de tiempo y temperatura sin embargo no se alcanzó una inactivación total debido a la presencia de enzimas termo resistentes (Lima et al. 2006).

La determinación de la cinética de inactivación de peroxidasa en Papa Criolla (*Solanum tuberosum* Grupo *phureja*) y la cinética de color y textura se determinó mediante el método espectrofotométrico usando como sustrato peroxidasa que contuvo 0,05 M de solución reguladora de fosfato de potasio (pH 5,8) solución de guayacol 7,2 mM, solución de peróxido de hidrógeno 11,8 mM y 0,1 mL a una longitud de onda de 470 nm. Para la inhibición de la enzima se utilizó temperaturas de escaldado de 80 °C, 90 °C mediante agua y vapor saturado a 560 mmHg. Obteniendo como resultados coeficientes de transferencia de calor entre 214 y 230 W °C⁻¹ m⁻² mientras que para vapor saturado fueron en promedio 84,5 W °C⁻¹ m⁻² para ello la cinética de inactivación de la enzima peroxidasa se ajustó a un modelo de Lumry-Eyring y por lo general todos los procesos son dependientes de la temperatura y el tiempo (Mendoza y Herrera, 2012).

Latorre et al. (2013), en su estudio de evaluación de tratamientos térmicos para inactivación de enzimas en jugo de fique (*Furcraea gigantea* Vent.), evaluó variables de proceso como: actividad enzimática residual en polifenol oxidasa (PFO) y peroxidasa (POD) los cuales fueron sometidos a pruebas de inhibición de crecimiento micelial in vitro de *Phytophthora infestans*. Los resultados demostraron que los procesos de pasteurización a 75 °C por 4 minutos conservan sus propiedades biocidas con la disminución de actividad enzimática de polifenol oxidasa y peroxidasa (10,6 y 3,2 %).

A partir de tubérculos de papa (*Solanum tuberosum*) se determinó el efecto de la variación del escaldado sobre la actividad de la peroxidasa. Para la inactivación de la enzima se utilizó el tratamiento térmico por inmersión (temperaturas de 80, 85, 90, 95 °C por un tiempo 1': 20''); la medida de inactivación de peroxidasa se determinó espectrofotométricamente a 470 nm utilizando como sustrato guayacol y peróxido de

hidrógeno como dador de hidrógeno. Los resultados obtenidos demostraron que a temperatura de escaldado de 90 °C la inactivación es más eficaz (Mostacero y Ruiz, 2014).

Según Juárez (2015), en su investigación de elaboración de harina de yacón para la extracción de FOS con fines tecnológicos, evaluó variables de proceso como: blanqueado y secado mediante dos etapas, en la primera determinó que el mejor método de blanqueado fue por ebullición de 6 minutos y espesor de rodaja 5 mm pues la muestra fresca no tuvo cambios significantes en cuanto al contenido de FOS y azúcares reductores (99,7 y 104,6 %) del mismo modo presentó bajos niveles de actividad en peroxidasa (POD), polifenol oxidasa (PFO) y 1- hexohidrolasa (1-FEH) (2,1; 2,6 y 4,2 %). En la segunda etapa, evaluó el secado de la harina de yacón acondicionada en solución de cloruro de calcio al 1% durante 5 minutos y un secado de bandeja a 65 °C y obtuvo los parámetros de color ($L^* = 58,4$; $a^* = 1,8$; $b^* = 21,9$), contenido de FOS (49,2%), y sin actividad residual 1-FEH.

2.1.2 Inactivación de la PFO mediante acidificado

La caracterización de oxidasa y polifenol oxidasa en la pulpa de uva caimaroná (*Pourouma cecrepiifolia*) se realizó en estado de madurez 100 % color morado de corteza. Para la determinación de la actividad de peroxidasa (POD) se utilizó 25 uL de extracto enzimático previamente diluido 1 a 20 con 975 uL de guayacol 40 mm y H₂O₂ 5,0 en buffer de fosfatos 200 mm pH (6,0) y la lectura de absorbancia con respecto al tiempo a 470 nm a 37 °C; para la determinación de actividad en PFO se mezcló 100 uL de extracto enzimático sobre 900 uL de L-Dopa 7,0 mm en buffer fosfatos de 200 mm pH (7,0) y lectura de absorbancia a 475 nm a 45 °C. Los resultados demostraron una caracterización para PFO pH óptimo (7,0) temperatura 45 °C y K_m de 0,42 mm con L-Dopa como sustrato mientras que para peroxidasa el

pH óptimo (6,0) temperatura óptima 37 °C y valores de K_m de 2,0 mm para guayacol y 0,72 mm para H_2O_2 . De los inhibidores empleados en tres dosis (0,1; 1,0; 10,0 mm) se obtuvo como el más óptimo el ácido ascórbico seguido por bisulfito de sodio demostrando que a 0,1 mm de ácido cítrico tiene un efecto activante en POD y en PFO no muestra cambios respecto a la muestra. Concluyeron que estas enzimas pueden ser inactivadas por tratamientos de escaldado a 80 °C o temperaturas superiores a 10 minutos con la adición de ácido ascórbico y bisulfito de sodio (Rivera et al., 2004).

La PFO de pera (*cv Packam's Triumph*) y manzana (*cv. Red Delicious*) se extrajeron y se caracterizaron mediante un espectrofotómetro Shimadzu UV 160-A, de doble haz, con control de temperatura, equipado con celdas de cuarzo de 1 cm de camino óptico y catecol como sustrato. El pH óptimo y la temperatura óptima fueron 6,5 y 25 °C para pera, 7 y 30 °C para manzana, utilizando 50 mm de catecol en buffer fosfato como sustrato. Los valores obtenidos para KM fueron 13,24 mm (pera) y 232,80 mm (manzana), mientras que los valores obtenidos para V_{max} fueron 1590 U/mL E (pera) y 5464 U/mL E (manzana), utilizando 50 mm de catecol como sustrato. El inhibidor más efectivo fue el ácido ascórbico, la inactivación térmica de PFO sigue una cinética de primer orden (Gasull y Becerra, 2006).

Se aisló PFO en manzana (*Malus domestica cv Bramley's Seedling*), con una purificación de 75,7 veces y 26,5% de recuperación por precipitación utilizando sulfato de amonio cromatografía en fenil sacarosa, cromatografía de intercambio iónico y cromatografía en hidroxapatita. La extracción del extracto puro lo realizaron mediante centrifugación a 280 nm de absorbancia; la actividad de la polifenol oxidasa resultante de los sustratos más efectivos fueron 4-metilcatecol y pirogalol a pH 6,5 y temperatura óptima de 30 °C; las soluciones de sustrato se prepararon en 0,1 mM.

ácido cítrico – 0,2 M tampón de fosfato disódico, pH 6,5 a 3 niveles diferentes concentraciones (10 mm; 2,5 mm; 1 mm), el efecto inhibidor fue preparado en 3 concentraciones (10 mm; 1 mm; 0,1 mm) en catecol 50 mm (pH 7) resultando el más eficaz el metabisulfito de sodio y ácido ascórbico. Llegando a la conclusión de que la PFO es una catecolasa y tiene mayor especificidad de sustrato hacia 4-metilcatecol (Ni Eidhin et al. 2006).

Usaron frutos de carambolo (*Averrhoa carambola L.*), en estado de madurez 5, se estudió la actividad de peroxidasa y polifenol oxidasa en rodajas de 5 mm de espesor cortado durante su almacenamiento en atmósfera modificada para el procesado de frutas mínimamente procesadas. El carambolo fue sometido a tratamiento químico con solución de ácido ascórbico 500 ppm como antioxidante y solución de ácido cítrico 1000 ppm como preservante. Se escurrió, y se empacó en atmósfera modificada, utilizando MAPAX 210: CO₂ 5 - 40% Molar, O₂ 5 – 25 %Molar, N₂ Balance en bolsas de polietileno de baja densidad (PEBD) de 70 micras manteniendo ambas muestras en condiciones de 7 °C y 90% HR. Para la determinación de la PFO, se preparó 3,0 mL de catecol 0,07 M la lectura se realizó en un espectrofotómetro UV-VIS con arreglo de diodos Hewlett Packard modelo HP-8453 a una longitud de onda de 420 nm se utilizó 0,035 mL de extracto enzimático y la lectura se realizó por absorbancia cada 5 segundos por 6 minutos. La inactividad de la enzima se relacionó al proceso de respiración con un cambio significativo en la concentración de CO₂, la acidez y la disminución del pH, factores que inciden sobre la actividad de la enzima permitiendo así la reducción del pardeamiento enzimático. Los resultados demostraron que la actividad de peroxidasa aumenta en relación al oxígeno presente en el empaque a granel y atmósfera modificada caso que no sucedió en la polifenol oxidasa mostrando aumento de actividad para ambos empaques (Blach et al. 2011).

Según Lupaca et al., (2011), en su trabajo de investigación, elaboraron una conserva de jarabe de yacón, evaluando variables de proceso como: temperatura y tiempo de blanqueado, concentración de ácido cítrico, temperatura de pasteurizado y grado de concentración de jarabe, los cuales fueron sometidos a un modelo estadístico de Placket Burman. Los resultados, demostraron que las variables de proceso: temperatura de pasteurizado y concentración de ácido cítrico influyeron en el pH, del mismo modo, la concentración de jarabe y la temperatura de ebullición a los °Brix. Para el análisis organoléptico, el jarabe de mayor aceptación en cuanto a su color y sabor fue elaborada con una temperatura de blanqueado de 69 °C, tiempo de 7,5 minutos, una concentración de ácido cítrico de 0,29%, la concentración del jarabe a 8,94 °Brix, temperatura de ebullición de 84,98 °C y de pasteurizado a 83,47 °C.

Gil et al. (2012), en su estudio de inhibición de la polifenol oxidasa extraída del banano (*cavendish*) causantes de cambios de color indeseables en frutas y vegetales frescos por medio de algunos derivados del isoespintanol y ácido ascórbico, los compuestos sintetizados fueron caracterizados por espectroscopia de resonancia magnética, (RNM) y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC- MS) y la capacidad antioxidante evaluada por ABTS, FRAP obtuvo como resultado que la actividad de PFO fue 102,93 unidades de actividad, la mayor inhibición se logró a 1500 ppm de ácido ascórbico (92%).

La PFO presente en batata (*Ipomoea batatas Lam.*) en las variedades coloradas y blancas se evaluó mediante tratamiento térmico a 75, 80 y 85 °C con tiempos de 30, 60, 90, 120, 150 y 180 segundos en agua destilada con contenido de 0,5% ácido cítrico y 1% ácido ascórbico, regulando pH y control de oxidación. La evaluación del efecto-temperatura del extracto la actividad de la enzima PFO disminuyó en 0,0347

$\Delta\text{UAbs min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína (variación de unidades de absorbancia por minuto por gramos de proteína) en la variedad colorada $0,0177 \Delta\text{UAbs min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína en la variedad blanca. Se determinó la actividad enzimática de PFO con un espectrofotómetro Genesys 20 a 420 nm y 30 °C utilizando 0,5 mL de extracto enzimático, 1 mL de solución de catecol al 1% y 2 mL de buffer fosfato 0,2 M, que actúa como regulador del pH a neutro. Los resultados obtenidos demostraron que a temperaturas de escaldado de 85 °C y 180 segundos la actividad enzimática de PFO disminuyó el 86,8% en la batata variedad colorada y el 86,17% en la variedad blanca (Arrazola et al. 2016).

La PFO extraída y caracterizada físico-químicamente de la grosella espinosa del cabo (*Physalis peruviana*) una fruta exótica, la purificación de PFO se determinó mediante sistema difásico acuoso (ATPS) utilizando como sustrato Ácido clorogénico, 4-metilcatecol y catecol siendo el sustrato más activo el ácido clorogénico en condiciones de pH de 5,0 y 20 °C ($K_m = 0,56 \pm 0,07 \text{ mm}$ y $V_{max} = 53,15 \pm 2,03 \text{ UPPO} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) los valores de K_m y V_{max} de la enzima se calcularon por el Modelo matemático de Michaelis-Menten utilizando los STATGRAPHICS Centurion XVI. Software de la versión 16.0.07, el inhibidor más potente fue el ácido ascórbico concluyendo que a medida que la fruta va madurando la actividad de la PFO va disminuyendo (Bravo y Osorio, 2016).

El estudio realizado en papa de la variedad Spunta sobre el contenido de sólidos totales, color y calidad microbiológica como producto mínimamente procesado mediante tratamiento con agentes antioxidantes con mayor concentración de ácido ascórbico y ácido cítrico mantuvieron el color, aumentaron el contenido de fenoles totales y no afectaron la calidad microbiológica. Se determinó la actividad de la polifenol oxidasa utilizando 5 g de papa picada mezclada con buffer fosfato de sodio

0,1 M; se centrifugó la muestra a 11000 rpm durante 1 minuto seguidamente se filtró y centrifugó nuevamente a 5000 rpm por 15 minutos luego al sobrenadante se le agregó catecol al 0,1%; se procedió a leer la absorbancia a 410 nm por intervalos de 5 segundos por 1 minuto. Para determinar el color se utilizó un colorímetro Minolta modelo CR300 utilizando la representación en tres coordenadas CIE 1976 L* a* b*. Obteniendo como resultados que la papa sometida a soluciones ácido ascórbico y ácido cítrico pueden mejorar su calidad nutricional y no repercuten en el color ni la calidad microbiológica (García y Huarte, 2017).

2.2. Bases teóricas

2.2.1. El yacón (*S. sonchifolius*)

2.2.1.1. Descripción botánica

La raíz producida por *S. sonchifolius* es conocida como “yacón”, es consumida como una raíz fresca por tener características particulares, el sabor dulce de esta planta se debe al alto contenido de fructooligosacáridos (FOS) este tipo de azúcar es beneficiosa para la salud humana, esta planta tiene una altura aproximada de 1,5 a 3 metros, sus tallos son de forma cilíndricos sub angulares y en su madurez obtienen una forma hueca ramificada; su sistema radicular está compuesta por 4 a 23 raíces carnosas aproximadamente y su tamaño puede alcanzar hasta los 25 cm de longitud y 10 cm de diámetro (Cadena, 2011; Seminario et al. 2003).

Tabla 1*Taxonomía del yacón.*

Descripción botánica del yacón	
SUPER REINO	Eucaryotes
REINO	Plantae
SUB REINO	Embryophyta
PHYLUM	Trachophyta
DIVISIÓN	Magnoliopsida
CLASE	Magnoliopsida
ORDEN	Asterales
FAMILIA	Asteraceae
GÉNERO	<i>Smallanthus</i>
ESPECIE	<i>Sonchifolius</i>

Nota: Aruquipa (2017).

2.2.1.2. Variedad de cultivares

Debido a que existe poca variación en la parte aérea de las plantas los cultivares de yacón se diferencian por el color de la cáscara y la pulpa de la raíz; la pulpa puede ser de color cremoso, anaranjado, rojizo morado o con jaspeados morados, pero los más comunes son los cultivares de pulpa anaranjada y cremosa, no se conoce el número de cultivares, pero se estima que podrían ser entre 20 y 30 (Manrique et al. 2004).

Esta raíz tiene una epidermis delgada unida a la pulpa del rizoma, el color de la pulpa varía del rojizo al marrón pudiendo distinguir colores como crema, amarillo o naranja y en algunos casos puede incluir en su estructura vetas en la piel de color púrpura, morada y rojiza (Zarate, 2016).

Figura 1

Yacón variedad anaranjada.



Nota: Manrique et al. (2004)

2.2.1.3. Composición química

La composición química del yacón principalmente en raíces frescas contienen 69 a 83 % de humedad; 0,4 a 2,2% de proteínas y 20 a 22 % de azúcares y las raíces secas contienen de 4 a 7% de cenizas, 6 a 7% de proteínas; 0,4 a 1,3% de grasa; 4 a 6% de fibra y 65 a 77% de azúcares totales, los azúcares presentes más importantes son los fructanos, sin embargo, el 29% en materia seca está representada por azúcares como glucosa, fructosa y sacarosa (Cadena, 2011).

Aruquipa (2017) menciona que el 90% del peso de las raíces está constituido por carbohidratos de los cuales un 50 y 70% son FOS; estas raíces constituyen una gran cantidad de potasio, compuestos fenólicos derivados del ácido caféico, sustancias antioxidantes como el ácido clorogénico y triptófano, además contienen fitoalexinas con actividad fungicida.

Tabla 2*Composición química del yacón.*

Yacón (<i>S. sonchifolius</i>)	
Composición por 100g de raíz fresca	
Agua (g)	85 – 90
Oligofructosa (g)	6 – 12
Azúcares simples (g)	1,5 – 4
Proteínas (g)	0,1 – 0,5
Potasio (mg)	185 – 295
Calcio (mg)	6 – 13
Calorías (kcal)	12 – 22

Nota: Aruquipa (2017).

2.2.1.4. Propiedades nutricionales

El yacón es un recurso vegetal valorado por sus propiedades nutraceuticas y medicinales despertando el interés por su uso en el tratamiento de diabetes atribuyéndole una acción hipoglicemante; así como también su raíz es considerada un alimento prebiótico e hipocalórico por el contenido de FOS. La raíz se consume cruda, los FOS que contiene pueden ser metabolizados por el tracto digestivo humano al no elevar la producción de glucosa en la sangre y su contribución de calorías en el organismo es mínima, por esta razón esta raíz puede ser consumida como suplemento en la dieta alimenticia de personas diabéticas y con sobrepeso (Arnao et al. 2011; Manrique y Hermann, 2003).

2.2.1.5. Beneficios del yacón

Aruquipa (2017) menciona al yacón como una raíz agradable al paladar que contiene muchos beneficios al ser consumida resultando sus bondades en el tratamiento de diabetes, colesterol, cáncer de colon, mejora el funcionamiento de la flora intestinal, osteoporosis, caries dental, estreñimiento debido al

contenido de prebióticos que tienen la capacidad de inhibir la proliferación de bacterias dañinas en el colon produciendo toxinas y sustancias cancerígenas dañinas.

Cadena (2011) señala que el yacón contiene una cantidad elevada de FOS que son azúcares no metabolizadas por la vía digestiva humana, pues el sabor neutro del yacón permite que este pueda ser utilizado en la industria como fuente de FOS y aprovechar su actividad prebiótica.

2.2.1.6. Requerimientos del suelo para su cultivo

El *S. sonchifolius* es una raíz que crece hasta los 3500 msnm de altitud, con una temperatura óptima entre 18 a 25 °C y no requiere el uso de fertilizantes, pesticidas ni mayores cuidados. Estas características agronómicas permiten su cultivo en diferentes departamentos del Perú (Cajamarca, Junín, Huánuco, Puno y Lima) (Arnao et al., 2012).

Cadena (2011) menciona que el cultivo del yacón se adapta a un rango muy amplio de variedad de suelos, pero responde mejor a suelos ricos y profundos a profundos sueltos (francos, arenosos), con buena estructura y buena drenación en suelos pesados el crecimiento es pobre, pueden tolerar un amplio rango de pH, de ácidos a ligeramente alcalinos. El yacón tiene una buena demanda hídrica, se considera una óptima precipitación a 800 mm durante su crecimiento, el cultivo puede sobrevivir a sequías sin embargo la productividad es significativamente afectada en estas condiciones. El riego excesivo puede afectar las raíces, produciéndose rajaduras, las cuales afectan la calidad externa.

Aruquipa (2017) señala que para el cultivo de esta planta se necesita suelos con texturas que favorezcan una buena aireación, drenaje y una penetración profunda de las raíces, en suelos arcillosos por su poca aireación y exceso de humedad, pues hay un crecimiento lento y pudrición de la semilla, en cuanto a los suelos arenosos tienen buena aireación, sin embargo retienen muy poca humedad lo que afecta el desarrollo de la planta en épocas de poca lluvia, los suelos francos son los que presentan las mejores condiciones para el desarrollo del cultivo.

2.2.2. Actividad enzimática en alimentos

Mendoza y Herrera (2012) menciona que la actividad enzimática aparente se incrementa cuando aumenta la temperatura hasta alrededor de 50 °C, donde alcanza un nivel máximo conocido como la temperatura óptima para la acción enzimática y es ahí donde se producirá la inactivación de las enzimas presentes en el tejido de las plantas. La actividad enzimática va a ir incrementando al aumentar la temperatura alrededor de 50 °C alcanzando un nivel de temperatura máxima y óptima para la acción enzimática en cambio a temperaturas altas hay una disminución debido a la desnaturalización proteica.

La actividad enzimática es una propiedad de las enzimas definida como el efecto catalítico en proporción con la cantidad presente en el medio reactivo, la temperatura y el pH juegan un rol muy importante en la actividad y estabilidad pues la velocidad de las reacciones catalizadas por enzimas puede incrementar con la temperatura. Por el mismo hecho de ser proteínas se desnaturalizan por la acción del calor y se inactivan cuando el aumento de temperatura es elevado (Acosta y Cárdenas, 2006).

Balois et al. (2007) menciona que la activación enzimática puede generar una reacción de oscurecimiento producida por la activación de fenoles provocando cambios en los tejidos vegetales por diferentes factores como el estrés, frío, modificaciones respiratorias, acumulación de fenoles y el incremento de PFO.

El pardeamiento enzimático de la fruta se debe a procesos fisiológicos que tiene lugar durante la maduración, procesos asociados a la recolección o bien a tratamientos tecnológicos de post recolección, este proceso de pardeamiento se desencadena cuando se produce una pérdida de la integridad celular en las superficies de las frutas provocando una destrucción de la compartimentación de enzimas y sustratos con lo que se catalizan las reacciones y se produce la formación de metabolitos secundarios indeseables, para que el fenómeno de pardeamiento enzimático tenga lugar se requiere de la presencia de cuatro diferentes compuestos: el oxígeno molecular, sustratos apropiados, la polifenol oxidasa y la presencia de cobre en el centro activo de la enzima. La velocidad de pardeamiento dependerá de factores como la concentración y actividad de la enzima, la cantidad y naturaleza de los compuestos fenólicos, pH, temperatura, actividad del agua y de la cantidad de oxígeno disponible en el entorno del tejido vegetal (Pérez, 2003).

2.2.2.1. Características de las enzimas oxidativas

Las enzimas son productos de origen biológico que catalizan reacciones bioquímicas y forman combinaciones químicas con diferentes sustratos, son proteínas con un alto peso molecular (1000 y 500000 Daltons), su rápida velocidad de reacción se debe al sustrato que pueden catalizar la reacción de una gran cantidad de este en un tiempo reducido; las enzimas se clasifican de acuerdo con el tipo de reacción catalizada: Hidrolasas

(reacciones de hidrólisis), Isomerasas (reacciones de isomerización), Oxido-reductasas (reacciones de oxidación-reducción), Transferasas (transferencia de grupos funcionales), Liasas (adición a los dobles enlaces), Ligasas (formación de enlaces con escisión del ATP) (Acosta y Cárdenas, 2006).

Todas las enzimas involucradas en el pardeamiento enzimático son las del grupo 1 u-oxidorreductasas, las oxigenasas catalizan la incorporación de átomos de oxígeno molecular en el sustrato produciendo grupos hidroxilo, las oxidasas son mayormente metaloproteínas (Pérez, 2003).

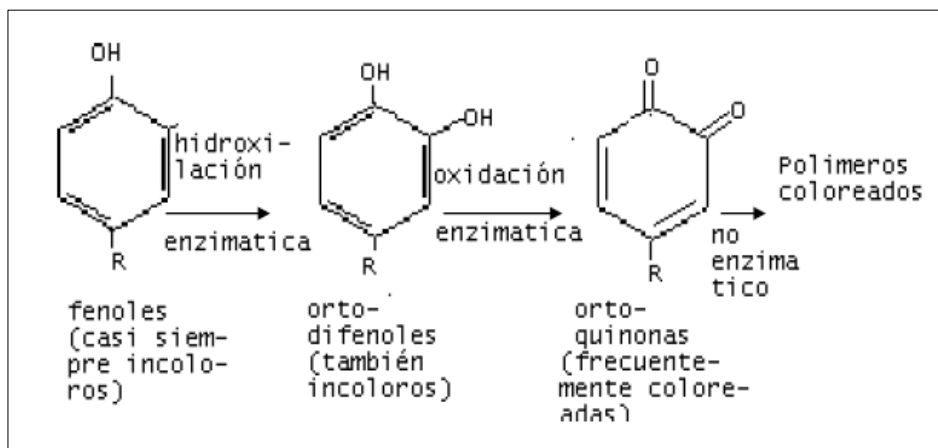
2.2.2.2. Mecanismo del proceso enzimático

El oscurecimiento ocurre por la acción de una enzima (o diferentes enzimas) que oxidan al catecol a orto-quinonas, estas polimerizaciones producen compuestos colorados oscuros conocidos como melanodionas (Maro, 2003).

Las fases de su transformación son las siguientes:

Figura 2

Fases de la transformación enzimática de compuestos fenoles a polímeros coloreados.



Nota: Maro (2003).

En el caso del oscurecimiento enzimático estas reacciones son catalizadas por complejos enzimáticos naturales encontrados en la estructura de los alimentos que envuelven la formación de pigmentos oscuros, liberación de gases y reducción del volumen del fruto, los cambios de sabor y las pérdidas de valor nutricional de estos alimentos también se ven afectados con la alteración del color siendo este uno de los principales problemas de las frutas y vegetales después de ser cosechados o durante el procesamiento industrial (Maro, 2003).

2.2.3. Pardeamiento enzimático

Pérez (2003) indica que el pardeamiento enzimático de las frutas se debe a procesos fisiológicos durante la maduración, este proceso se produce mediante la operación de corte generando una pérdida de integridad celular en las superficies de las frutas provocando destrucción de enzimas y sustratos catalizando reacciones y generando diferentes compuestos como oxígeno molecular, sustratos apropiados, polifenol oxidasa y la presencia de cobre; pues estos factores son los que determinan la velocidad del pardeamiento dando lugar a dicho fenómeno.

2.2.3.1. Enzima responsable del pardeamiento enzimático

2.2.3.1.1. Enzima polifenol oxidasa (PFO):

Muñoz et al. (2007) nos mencionan que la polifenol oxidasa (PFO) es un metaloenzima que se encuentra ampliamente distribuido en plantas y hongos y está conformado por dos átomos de cobre, tiene una reacción general que cataliza formando quinonas altamente reactivas reaccionando con grupos amino o sulfhidrilo de proteínas generando cambios en cuanto a las características físico-químicas y nutricionales.

Gil et al. (2012) señalan que la PFO cataliza el paso inicial de la oxidación

de o-fenoles a o-quinonas, causando a su paso una polimerización produciendo pigmentos insolubles y oscuros denominados melaninas confiriéndole el color no deseado.

Gasull y Becerra (2006) señala que las polifenol oxidasas, también llamadas tirosinasas, fenoloxidasas, monofenoloxidasas o cresolasas, catalizan la hidroxilación de monofenoles a ortodifenoles, posteriormente oxidados a ortoquinonas, las cuales se polimerizan dando lugar a pigmentos de color marrón, rojo o negro, dependiendo de los componentes naturales presentes en los tejidos vegetales.

El pardeamiento enzimático produce polímeros de coloración oscura del tipo melanina responsables del cambio de coloración en frutas, verduras y tubérculos; esta reacción se observa cuando se produce daño mecánico o fisiológico interactuando la polifenol oxidasa en los tejidos cuya proteína contiene en su estructura cobre que cataliza la oxidación de compuestos fenólicos a quinonas continuando con el proceso de oxidación por el O₂ del aire sobre el tejido para dar formaciones a coloraciones oscuras melanoideas por polimerización; estas enzimas muestran una fragilidad térmica cuando se someten a temperaturas mayores de 50°C por tiempos de 2 a 5 minutos, estos compuestos formados no son tóxicos pero si desencadena una desventaja en cuanto a la calidad del producto el aspecto, color y presentación en frutas y verduras (Arispe, 2018).

La termoestabilidad de las polifenol oxidasas depende del pH, esta enzima es más débil que las otras enzimas responsables de la alteración de los alimentos, de manera que la desnaturalización térmica de la polifenol oxidasas mediante tratamientos de escaldado por inmersión en agua caliente mediante vapor o tratamiento con microondas resulta ser

eficaz para impedir el desarrollo del pardeamiento enzimático en las conservas y en los productos congelados ya que una corta exposición a temperaturas entre rango de 70 a 90 °C es suficiente para una total inactivación de la enzima (Arispe, 2018).

2.2.3.1.2. Alteraciones producidas por la polifenol oxidasa

Los pigmentos propios de vegetales pueden estar constituidos por diferentes compuestos como carotenos, antocianos, clorofilas y compuestos fenólicos y también contienen otras sustancias naturales que le otorgan el color característico atractivo. Los cambios de color producidas en frutas son de diferentes orígenes ya sea por la exposición al calor o acidificación; así como también puede ser provocado por la acción de enzimas como la polifenol oxidasa, el tipo de sustratos fenólicos determinará el color de los compuestos formados Pérez (2003), el color de las frutas y hortalizas se ven alteradas por la oxidación de compuestos fenólicos catalizada por la polifenol oxidasa produciendo modificaciones indeseables en el color perjudicando la calidad del fruto tanto en el aspecto organoléptico como nutricional.

2.2.4. Métodos de inactivación enzimática en la industria de alimentos:

2.2.4.1. Tratamiento Térmico

El uso de altas temperaturas causa la desnaturalización de proteínas usualmente es irreversible y se ajusta a una cinética de primer orden, este tipo de tratamientos se recomienda cuando se trata de inhibir el pardeamiento de frutas; generalmente este método es efectivo para la inactivación de la polifenol oxidasa y actividades de pardeamiento enzimático, pues los métodos convencionales como el uso de la autoclave

y escaldado a temperaturas de 75 - 95 °C por tiempos de 1 - 10 minutos son eficaces (Pérez, 2003).

2.2.4.1.1. Escaldado

El escaldado es una operación importante para el proceso de frutas y hortalizas su objetivo es desnaturalizar las enzimas causantes del pardeamiento, aroma y efectos que pueden alterar al producto en cuanto a su calidad, este proceso permite proteger al alimento contra microorganismos que pueden provocar su deterioro, algunas de las consecuencias de la aplicación de este proceso es la pérdida de sólidos solubles, desnaturalización de enzimas, desgasificación del tejido, hidrólisis y solubilización de polímeros estructurales como protopectina; por tales motivos el escaldado puede ser aplicado no solo para evitar el pardeamiento sino también para proporcionar cambios en su estructura para la mejora de su calidad textural. Se usa principalmente para inactivar enzimas que alteran el color de las superficies cortadas como la peroxidasa (POD) y la polifenol oxidasa (PFO) mediante la inmersión o rociado de los productos en agua caliente o hirvientes (Pérez, 2003).

Cadena (2011) menciona que el escaldado es un tratamiento térmico cuya finalidad es la inactivación de enzimas que puedan provocar cambios en la estructura presentes en el tejido de las plantas. Esta actividad se incrementa a medida que la temperatura va incrementando alrededor de los 50 °C temperatura óptima para la acción enzimática. A temperatura más elevada se observa una desnaturalización de la estructura proteica generando una disminución de actividad enzimática.

2.2.4.1.2. Cambios que provoca el escaldado en el tejido celular

La pared celular es el elemento estructural básico de los tejidos vegetales, los cambios que puede haber en dicha pared generarán una gran importancia en el ablandamiento de los tejidos vegetales. El calentamiento de los tejidos a temperaturas de 60 – 70 °C, va a provocar la ruptura de las membranas, la separación de los componentes celulares y la degradación de las pectinas de la lámina media y de la pared celular, pues dichos fenómenos más usados en frutas y hortalizas de baja acidez contribuyen más aún a la pérdida de su firmeza, pero si se les somete a calentamientos más moderados confieren algunos productos vegetales una textura más firme (Pérez, 2003).

2.2.4.1.3. Cambios que provoca el escaldado en el color

Mediante este método el mantenimiento del color original va mejorando, pues tratamientos a altas temperaturas y tiempos cortos incrementan la luminosidad de frutas y hortalizas; así como también reduce la producción de compuestos fenólicos y formación de lignina (Pérez, 2003).

2.2.4.2. Tratamiento por Acidificación

2.2.4.2.1. Ácido cítrico como agente antipardeante

El ácido cítrico es un acidulante usado como agente antipardeante por su capacidad de modificación del pH, promoviendo la transformación de las o-quinonas (compuestos coloreados) en o-difenoles (compuestos incoloros), de esta manera retrasa el pardeamiento enzimático y otras reacciones oxidativas. Además, es utilizado en la industria de alimentos como aditivo alimentario por sus propiedades antioxidantes y reductoras aplicadas generalmente en frutas y hortalizas (Pérez, 2003).

El efecto de estos ácidos es de gran importancia ya que penetran a través de las membranas celulares como transportadores de protones al citoplasma causando la disminución del pH intracelular, así como también el anión del ácido disociado produciendo efectos inhibidores en el metabolismo de los microorganismos potenciando el pH (Pérez, 2003).

Los acidulantes son utilizados con mayor frecuencia en la inactivación de enzimas que producen oscurecimiento, el ácido cítrico reacciona reduciendo el pardeamiento capturando o quelando el cobre del sitio activo de la PFO (Denoya et al., 2012).

El ácido cítrico es uno de los aditivos más usados y de gran importancia en la industria de alimentos por ser accesible y barato y puede ser utilizado como antioxidante y quelante, combinado con otros ácidos y sus sales neutros para quelar peroxidantes e inactiva enzimas como la PFO, este ácido cítrico es aplicado en niveles que varían entre 0,5 y 2 % (p/v) para evitar el desencadenamiento de colores indeseables en frutas y vegetales y ejercer efecto inhibidor en la PFO mediante la disminución del pH, y una vez que el pH óptimo de la PFO varía con la fuente de la enzima y con el sustrato y en la mayoría de los casos está entre 6 y 7 el ajuste del pH para valores inferiores a 4 posibilita el control del oscurecimiento enzimático desde que se consideren los aspectos sensoriales del producto (Campos, 2014).

2.2.4.3. Otros métodos de control de pardeamiento enzimático

Las reacciones de pardeamiento enzimático también son controladas mediante métodos físicos que incluyen la reducción de temperatura y/o de la disponibilidad del oxígeno molecular, el uso de atmósferas

modificadas o recubrimientos comestibles y tratamientos con irradiación gamma o altas presiones hidrostáticas. Del mismo modo, existen métodos químicos basados en el uso de compuestos que inhiben la enzima, reducen la disponibilidad del sustrato y/o de los productos de la catálisis enzimática que evitan la formación de productos coloreados. Sin embargo, su aplicación en los alimentos está restringida debido a consideraciones relevantes tales como la toxicidad, la salubridad y el efecto que puede causar sobre el sabor, la textura o eventualmente por el costo (Denoya et al., 2012).

2.2.5. Determinación de inhibición de PFO mediante espectrofotometría

2.2.5.1. Espectrofotometría

La espectrofotometría UV-visible es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución, las moléculas absorben las radiaciones electromagnéticas y a su vez que la cantidad de luz absorbida depende de forma lineal de la concentración, para poder determinar este tipo de medidas se utiliza un espectrofotómetro en el que se puede seleccionar la longitud de onda de la luz que pasa por una solución y medir la cantidad de luz absorbida por la misma (Abril et al., s.f).

La espectrofotometría es un método utilizado para la detección específica de moléculas caracterizada por su precisión, sensibilidad y su aplicabilidad a moléculas de distinta naturaleza (contaminantes, biomoléculas, etc.) y estado de agregación (sólido, líquido, gas). Las moléculas pueden absorber energía luminosa y almacenarla en forma de energía interna permitiendo el inicio de ciclos vitales de muchos organismos como el de la fotosíntesis en plantas y bacterias; la mecánica

cuántica nos menciona que la luz está compuesta de fotones cada uno de los cuales tiene una energía (Quintana, 2020).

2.2.5.2. Fundamento de la espectrofotometría

El fundamento de la espectrofotometría se debe a la capacidad de las moléculas para absorber radiaciones como las radiaciones dentro del espectro UV visible, las longitudes de onda de las radiaciones que una molécula puede absorber y la eficiencia con la que se absorben dependen de la estructura atómica y de las condiciones del medio (pH, temperatura, fuerza iónica, constante dieléctrica), esta técnica es un valioso instrumento para la determinación y caracterización de biomoléculas; las moléculas pueden absorber energía luminosa y almacenarla en forma de energía interna y a partir de ello permitirá poner en funcionamiento ciclos vitales como la fotosíntesis en plantas y bacterias, la absorción de energía luminosa permite que la molécula pase desde un estado fundamental (E1) a otro excitado (E2) y posteriormente la molécula relaja su energía mediante distintos mecanismos (vibración, rotación, etc.) como consecuencia, la absorción que a distintas longitudes de onda presenta una molécula, esto es, su espectro de absorción constituye una señal de identidad de la misma; por último, la molécula en forma excitada libera la energía absorbida hasta el estado energético fundamental (Abril et al., s.f).

Abril et al. (s.f) menciona en su estudio que en la espectroscopía el término luz se aplica también a las formas UV e IR, que son invisibles. En espectrofotometría de absorbancia se utilizan las regiones del ultravioleta (UV cercano, de 195-400 nm) y el visible (400-780 nm).

Figura 3

Espectro electromagnético.

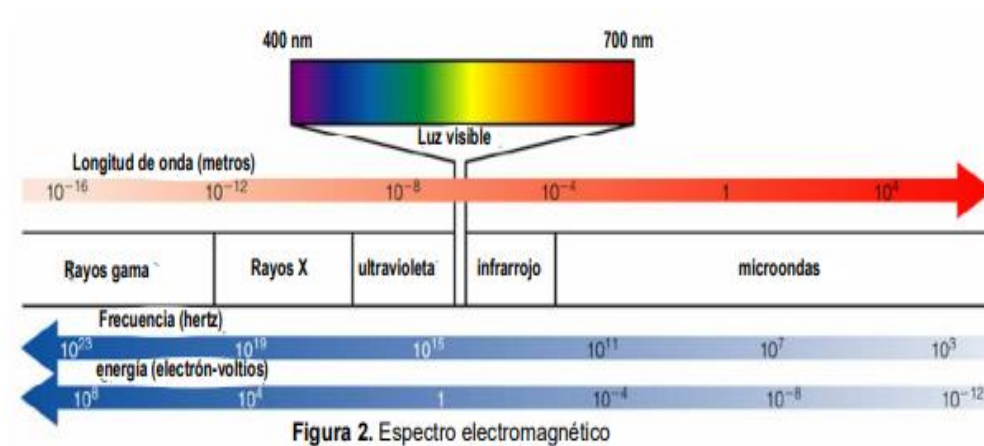


Figura 2. Espectro electromagnético

Nota: Abril et al., (s.f)

2.2.5.3. Usos de la espectrofotometría

Según Muñoz et al. (2005) señala que la espectrofotometría se utiliza para diversas aplicaciones, entre ellas tenemos:

- Análisis cuantitativo y cualitativo de soluciones desconocidas en un laboratorio.
- Estandarización de colores de diversos materiales, como plásticos, pinturas, detección de niveles de contaminación en el aire, agua y determinación de trazas de impurezas en alimentos y reactivos.
- Los espectrofotómetros miden el % de transmitancia (T) y absorbancia (A).
- La ventaja de la espectrofotometría son diversas: es rápida, precisa, versátil, fácil de usar y de eficiente costo.

2.2.5.4. Transmitancia y absorbancia

La transmitancia (T) es la relación entre la cantidad de luz transmitida que llega al detector una vez que atraviesa la muestra, I_t y la cantidad de luz que incidió sobre ella I_o y es representada en porcentaje: **% T = $I_t / I_o * 100$** . La transmitancia nos da una medida física que relaciona la intensidad incidente y transmitida al pasar sobre la muestra (Abril et al., s.f).

La absorbancia (A) nos indica la cantidad de luz absorbida por la misma y es definida como el logaritmo de $1/T$ siendo: **A = $\log 1/T = -\log T = -\log I_t / I_o$** . cuando la intensidad incidente y transmitida son iguales ($I_o = I_t$) la transmitancia tiende a ser del 100% el cual indica que la muestra no absorbe a una longitud de onda determinada y por lo tanto A vale $\log 1 = 0$ (Abril et al., s.f).

2.2.6. Análisis de imagen

El modelo de color CIE $L^*a^*b^*$ fue desarrollado por la CIE en el año 1976 para lograr una mejora en la representación del color, es considerado el modelo de color más completo por su uso amplio para describir los colores que puede detectar el ojo humano, el modelo $L^*a^*b^*$ determina el color en cuanto a la posición en el espacio en tres dimensiones (3D), el componente L^* corresponde a la luminosidad del color ($L=0$ significa negro y $L=100$ significa blanco), así como a^* dónde los valores positivos corresponden a rojo y los negativos al color verde y b^* para este componente los valores positivos corresponden a amarillo y aquellos valores negativos se refieren a azul, a^* y b^* son los dos componentes cromáticos cuyos valores van desde -120 a 120 (Vásquez, 2015).

El color de los alimentos es una de las características superficiales más

importantes y es un parámetro de mucha importancia en la evaluación de la calidad de un producto, en la industria alimentaria se utiliza la evaluación sensorial o instrumental (colorimetría, espectrofotometría y cromatografía líquida de alta resolución) como herramientas en la evaluación del color en los alimentos así como también, la evaluación visual puede que puede repercutir según el tipo de iluminación, tamaño de la habitación y percepción del color el cual puede cambiar de un panel a otro (Vásquez, 2015).

L*a*b* es la norma internacional de medición de color adaptado por la Comisión Internacional de la Iluminación (CIE), existen diferentes espacios de color, el más utilizado de estas en la medición del color en los alimentos es el espacio de color L*a*b* debido a que se obtiene una distribución uniforme de los colores y es muy cercana a la percepción humana del color, los colorímetros Minolta y Hunter L*a*b* son algunos de los instrumentos más usados en la industria de alimentos (Vásquez, 2015).

2.2.6.1. El color indicador de las reacciones de pardeamiento (Método L*a*b)

La calidad de los alimentos en cuanto al sabor, textura, olor y color son atributos que los consumidores tienen presente en el momento de su adquisición, asimismo, el cambio del color en frutas y hortalizas es ocasionada por reacciones entre sus componentes tales como clorofilas, carotenoides, antocianinas, o por reacciones enzimáticas, estas reacciones de pardeamiento enzimático garantizan el estudio de la evolución en el tiempo del cambio de color de un tejido vegetal por acción de la polifenol oxidasa es por ello que se deriva el cálculo de ciertos parámetros como el Índice de Pardeamiento (IP) o el cambio de color normalizado (ΔE), los

cuales son útiles en la investigación del control del pardeamiento en frutas y hortalizas (Pompa, 2017).

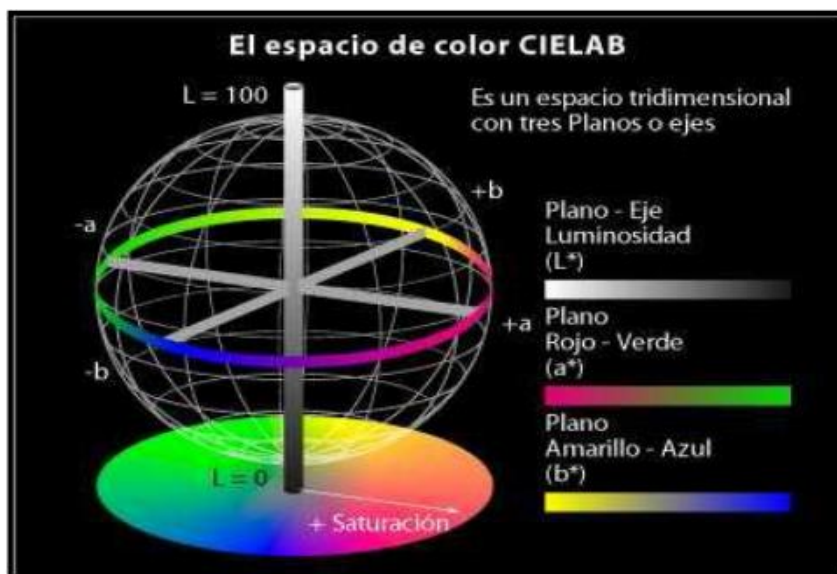
Pompa (2017) señala que el espacio CIE-L*a*b* está definida por tres coordenadas:

- **L***: este valor es una coordenada fotométrica que indica la luminosidad de la superficie de un color que varía desde cero a un negro hasta 100 para un blanco (los colores fluorescentes pueden dar un valor de L* mayor que 100).
- **a***: este valor es un índice de la composición en verde o rojo según arroje sus valores sean negativos o positivos +a*: rojo -a*: verde.
- **b***: en cuanto a esta coordenada indica la composición en color azul o amarillo según los valores que alcance sean negativos o positivos respectivamente +b*: amarillo y -b*: azul 24. Los números L*, a*, b* son importantes cuando se busca obtener numéricamente las diferencias de color.

Por tanto, El valor numérico de la diferencia de color (ΔE), valor de la ΔE^* es siempre positiva y es estrictamente la medida de la diferencia total de color entre el estándar y la muestra; Solo si la diferencia de claridad sea positiva o negativa nos dirá si la muestra del ensayo es más clara o más oscura que la referencia; este realmente expresa la dirección de la diferencia de color (Pompa, 2017).

Figura 4

*Espacio de Color CIE-L*a*b**



Nota: Pompa (2017).

2.3. Marco conceptual

- **Inactivación enzimática:** la pérdida de su actividad total o temporal de la polifenol oxidasa (PFO) al ser sometida a un tratamiento de inactivación.
- **Pardeamiento enzimático:** es la actividad de desnaturalización de los tejidos vegetales provocando un oscurecimiento y pardeamiento al ocasionar daños en la célula.
- **Espectrofotometría:** mide la respuesta para toda la gama espectral visible midiendo de forma más amplia, tiene como objetivo comparar para cada longitud de onda la energía incidente con la reflejada sobre la muestra.
- **Polifenol oxidasa (PFO):** enzimas ubicadas en plantas que catalizan la reacción dependiente de oxígeno que transforma o-difenoles en o-quinonas.
- **Inhibidores:** moléculas que disminuyen la velocidad de reacción enzimática.
- **Escaldado:** tratamiento térmico que consiste en mantener a un alimento en calentamiento a una temperatura y tiempo deseado.

- **Acidificación:** este proceso consiste en reducir el pH de los alimentos para impedir el desarrollo de microorganismos y contribuir a mantener la calidad deseada de los alimentos.
- **CieL*a*b*:** es un espacio cromático utilizado para describir todos los colores que podemos percibir. Presenta tres parámetros la luminosidad de color L* (L*=0 negro y L*=100 indica blanco), cuando su ubicación esta entre rojo y verde a* (valores negativos -a*= verde mientras valores positivos +a*= rojo) y su posición entre amarillo y azul b* (representa a valores negativos -b*= azul y valores positivos +b*=amarillo).
- **Sistema de visión por computadora:** es el conjunto de herramientas y métodos que permiten la obtención, el procesamiento y el análisis de imágenes en el mundo real con la finalidad de poder ser tratadas por un ordenador, también es definido como el campo de la inteligencia artificial enfocado a que las computadoras pueden extraer información a partir de imágenes.
- **Visión artificial:** es una disciplina científica que incluye métodos para adquirir, procesar, analizar y comprender imágenes del mundo real con la finalidad de producir información numérica o simbólica para ser tratadas por un ordenador; la visión artificial trata de producir un efecto para que los ordenadores puedan percibir y comprender una imagen o secuencia de imágenes.
- **Matlab:** es un sistema de cómputo numérico que ofrece un entorno de desarrollo integrado con un lenguaje de programación propio.
- **Statgraphcis:** es una herramienta de análisis de datos que combina una amplia gama de procedimientos analíticos con gráficos interactivos para proporcionar un entorno integrado de análisis que se aplican en cada una de las fases de un proyecto, es un paquete de estadísticas que realiza y explica en lenguaje sencillo tanto funciones estadísticas sencillas como avanzadas.

CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Ubicación

El presente trabajo de investigación se desarrolló en la Universidad Nacional Autónoma de Chota en el laboratorio de Tecnologías Limpias de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial ubicado en la comunidad de Colpa Huacariz distrito y provincia de Chota departamento de Cajamarca. Para la determinación de la inactivación de PFO, se utilizó el laboratorio de Química de la Escuela Profesional de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, ubicado en el distrito, provincia y departamento de Cajamarca.

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

La población está dada por raíces frescas de yacón (*S. Sonchifolius*) de la variedad anaranjada, cosechadas entre los meses de agosto a septiembre del año 2019 de una parcela de la familia Muñoz Sánchez, procedentes de la comunidad de Chororco, provincia y distrito de Chota, departamento de Cajamarca.

3.2.2. Muestra

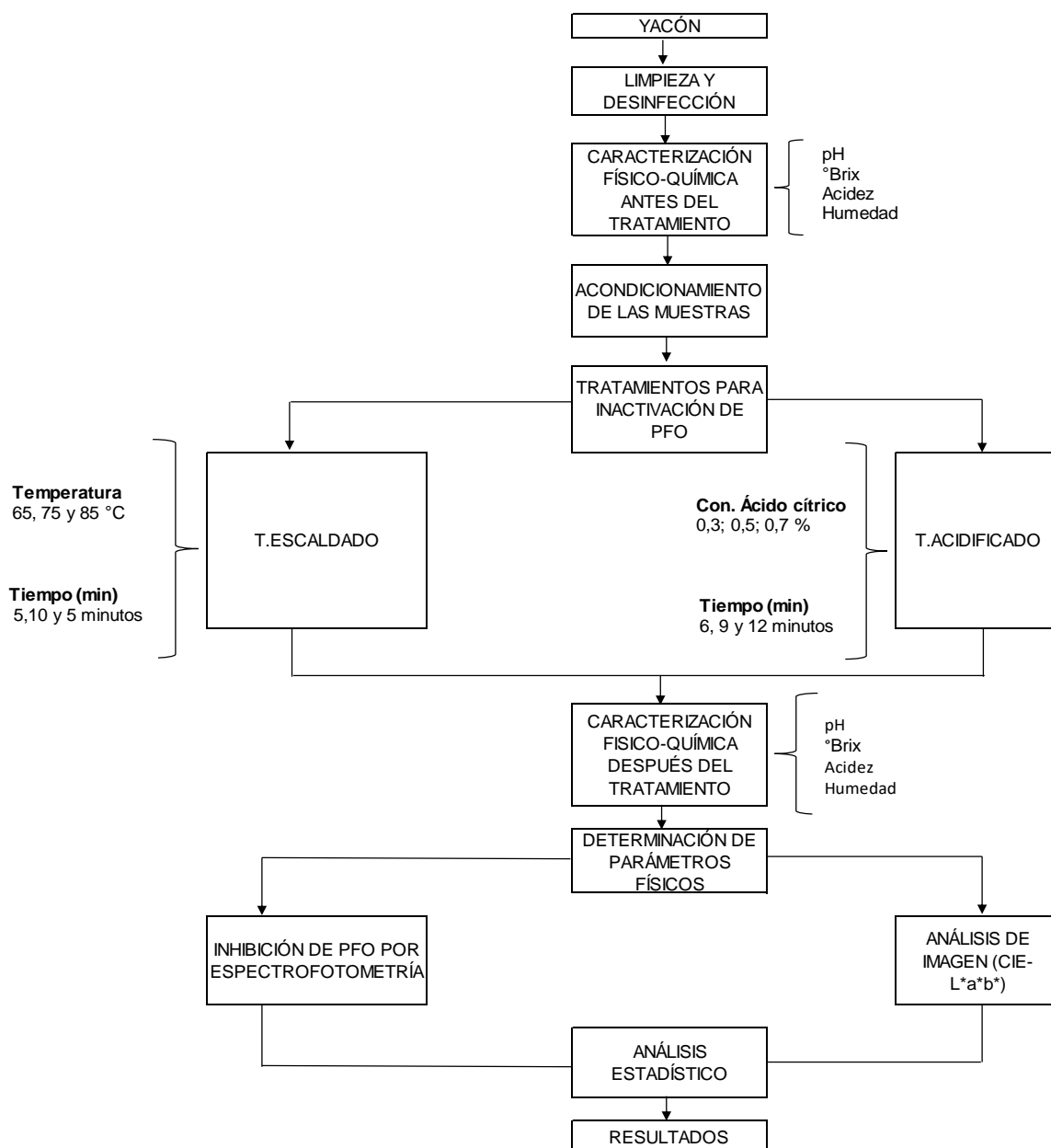
Se utilizaron 12 unidades de yacón para cada método de inactivación, que tuvieron las siguientes consideraciones: libre de daños mecánicos y/o daño por insectos, tamaño y peso homogéneo (raíz madura), siendo un total de 24 unidades de yacón, según el diseño experimental de superficie de respuesta, la misma que se muestra en las tablas 6 y 7, para ello se utilizó rodajas de 18 a 21 gramos por unidad experimental.

3.3. Desarrollo experimental

En la figura 5, se muestra el diagrama de flujo del desarrollo experimental, la misma que las operaciones se detallan más adelante.

Figura 5

Diagrama de flujo de obtención de resultados.



3.4. Equipos, materiales e insumos

3.4.1. Equipos

En la tabla 3, se detalla cada uno de los equipos utilizados para la ejecución de la tesis.

Tabla 3

Lista de equipos de investigación.

Cantidad	Equipos	Marca
1	Espectrofotómetro UV-Visible	Dinámica Halo DB-20
1	Refractómetro	ATC
1	Refrigeradora	Indurama
1	Cámara fotográfica	Sony
1	Balanza analítica hasta 310 g sensibilidad 0,01g	BBG
1	Balanza digital de sensibilidad 0,01 g	Sartorius
1	Termómetro digital para alimentos -10 a +250 °C	Kex Germany
1	Centrífuga con temporizador digital	Medic
1	Agitador Magnético	Hanna
1	Termoagitador	Velp Scientifica
1	Equipo de análisis de imagen	
1	pHmetro	Hanna

3.4.2. Materiales

Los materiales utilizados en la ejecución de la tesis se detallan en la tabla 4.

Tabla 4

Lista de materiales utilizados.

Cantidad	Materiales
2	Molde de acero inoxidable
1	Cuchillo
1	Tabla de cortar
1	Mortero
3	Pipetas de 1 ml, 5 ml y 10 ml

2	Fiolas de 100 ml
1	Equipo de titulación
24	Placas Petri
12	Vaso de precipitación
24	Tubos de ensayo
1	Mechero de alcohol o ron
1	Rejilla de asbesto
1	Trípode
1	Gradillas
1	Espátula de acero
50 cm	Tela de lino
3	Micropipetas 0,5, 0,1 y 1 ml
54	Frasco de vidrio con tapa
1 rollo	Papel aluminio
1 rollo	Papel toalla

3.4.3. Reactivos e insumos

Los insumos y reactivos utilizados en la ejecución de la tesis se detallan en la tabla 5.

Tabla 5

Lista de reactivos e insumos.

Cantidad	Reactivos/insumos	Marca
216 ml	Buffer de fosfato	Solutest
48 ml	Catecol	EMD Milipote Corporation
4L	Agua destilada	Alkofarma
60 g	Ácido cítrico	Emprove

3.5. Metodología de la investigación

3.5.1. Acondicionamiento de las rodajas de yacón

Las muestras fueron desinfectadas utilizando hipoclorito de sodio a 150 ppm y agua potable siguiendo la metodología descrita por (Montarroyos et al., 2017).

A las raíces de yacón se les retiró la cáscara, seguidamente fueron cortadas de tamaño, espesor y forma homogéneo utilizando un molde circular de acero inoxidable de 1 cm de altura y 5 cm de diámetro seguidamente se secaron las muestras con papel toalla para eliminar el excedente de humedad en la superficie de las muestras y se colocaron en una bandeja de plástico para ser sometidas a cada uno de los tratamientos de inhibición de PFO.

3.5.2. Determinación de propiedades físico-químicas pre y post tratadas

a) Determinación de pH

Para medir el pH de las muestras se utilizó la metodología descrita por Casaubon et al. (2018), primero se calibró el pH-metro, colocando el electrodo en solución tampón a pH 7; la medida del pH de la rodaja de yacón, se procedió a obtener el extracto, seguido se filtró y finalmente se introdujo el electrodo en 20 ml de extracto de yacón y se realizó la medición del pH por triplicado.

b) Determinación de acidez

Para la medición de acidez se aplicó el método descrito por Salas (2017), se realizó la titulación de neutralización en una relación de 1:10 (extracto: agua hervida) dejándola calentar por un promedio de 30 a 60 segundos, seguidamente se deja enfriar y se le adiciona 0,5 ml de fenolftaleína al 0,5% (en alcohol al 95%) añadiendo hidróxido de sodio al 0,1 N como solución titulante hasta obtener una coloración levemente rosada, la determinación de la acidez se realizó por triplicado. Calculando el resultado como ácido cítrico (ácido

predominante en el yacón) con la siguiente ecuación 1.

$$\text{Acidez total} = \frac{(N * \text{Meq} * V)}{P} \times 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

Dónde:

N= Normalidad del NaOH

Meq= Peso equivalente del ácido predominante expresado en gramos del (ácido Cítrico 0,064 g)

V = Cantidad en ml de hidróxido de sodio utilizado

P= peso de la muestra en gramos

c) Determinación de sólidos solubles totales (°Brix)

Para la determinación de los sólidos solubles presentes en la muestra se aplicó la metodología descrita por Arosena y Chávez (2018) se usó un refractómetro Atago Master M, el cual determinó los grados °Brix presentes en el extracto de yacón, se agregó el extracto de yacón en el prisma del refractómetro y la lectura se realizó de manera directa sobre la escala del porcentaje de azúcares presentes en la muestra, para la mediación de los °Brix se realizó por triplicado.

d) Determinación de humedad

Para la determinación de la humedad se determinó por el método gravimétrico descrito por Zaldivar y Cornejo (2011), este método se fundamenta en la pérdida de peso de la muestra al elevar la temperatura a 60 °C por un tiempo de 48 horas hasta obtener peso constante, donde el contenido de humedad se determina después de la evaporación del agua presente en el alimento. Los cálculos se hallan mediante la siguiente ecuación 2 realizando la medición por triplicado.

$$\% \text{ de humedad} = \frac{(pmh - pms)}{pmh} \times 100$$

Ecuación 2

Dónde:

Pms: peso de la muestra seca

Pmh: peso de la muestra húmeda

3.5.3. Diseño experimental

a) Tratamiento de escaldado en rodajas de yacón:

Cada una de las muestras acondicionadas fueron sometidas al tratamiento de escaldado empleando el siguiente diseño experimental:

Para la determinación de la inactivación de polifenol oxidasa en rodajas de yacón mediante el método de escaldado se utilizó un diseño de investigación factorial 3^k ($3^2 = 9$) con tres puntos centrales, haciendo un total de 12 tratamientos; teniendo como factores $k=2$. El factor A (temperatura °C) y factor B (tiempo); así como 3 niveles: temperatura (65, 75 y 85 °C) y los tiempos de escaldado (5, 10 y 15 minutos) sin repeticiones (Gutiérrez y De la Vara, 2008).

Las muestras fueron sometidas al tratamiento de escaldado según la tabla 6.

Tabla 6

Matriz de diseño experimental para tratamiento de escaldado.

Corrida	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Inhibición de PFO (%)	Color		
				L*	a*	b*
T ₁	75	10				
T ₂	85	5				
T ₃	85	10				
T ₄	75	10				
T ₅	75	5				
T ₆	75	10				
T ₇	65	15				
T ₈	75	15				
T ₉	85	15				
T ₁₀	75	10				
T ₁₁	65	10				
T ₁₂	65	5				

b) Tratamiento de acidificación en rodajas de yacón:

Cada una de las muestras acondicionadas fueron sometidas al tratamiento de acidificado empleando el siguiente diseño experimental:

Para la determinación de la inactivación de polifenol oxidasa en rodajas de yacón mediante el método de acidificación (ácido cítrico) se utilizó un diseño de investigación factorial 3^k ($3^2 = 9$) con tres puntos centrales, haciendo un total de 12 tratamientos; teniendo como factores $k=2$. El factor A (concentración de ácido cítrico) y factor B (tiempo de acidificación); así como 3 niveles: la concentración de ácido cítrico (0,3%, 0,5% y 0,7%) y los tiempos

de acidificación (6, 9 y 12 minutos) sin repeticiones (Gutiérrez y De la Vara, 2008), véase la tabla 7.

Tabla 7

Matriz de diseño experimental para tratamiento de acidificado.

Corrida	Con. Ácido	Tiempo (min)	Inhibición de PFO (%)	Color		
	cítrico (%)			L*	a*	b*
T ₁	0,3	9				
T ₂	0,5	6				
T ₃	0,3	12				
T ₄	0,5	9				
T ₅	0,7	9				
T ₆	0,5	12				
T ₇	0,7	6				
T ₈	0,5	9				
T ₉	0,5	9				
T ₁₀	0,7	12				
T ₁₁	0,5	9				
T ₁₂	0,3	6				

3.5.4. Determinar la actividad de polifenol oxidasa en rodajas de yacón mediante espectrofotometría y visión por computadora

3.5.4.1. Preparación del extracto enzimático

La preparación del extracto puro de la enzima polifenol oxidasa en las rodajas de yacón se llevó a cabo siguiendo el procedimiento de Arrazola et al. (2016). La enzima fue extraída a partir de las muestras sometidas al tratamiento de inhibición por el método de escaldado y acidificado con temperaturas, tiempo y concentración de ácido cítrico especificados anteriormente (tabla 6 y 7). Se utilizó

una relación de 0,5 ml de muestra de extracto de yacón con 5 mL buffer fosfato 0,2 M con pH 7.

Seguidamente cada una de las muestras se agitaron por 1 hora en un agitador magnético, luego el extracto obtenido fue refrigerado a 4 °C por 15 minutos. El extracto obtenido y almacenado en refrigeración de cada uno de los tratamientos posteriormente fue centrifugado a 4000 rpm durante 15 minutos, luego de la separación del sólido el extracto enzimático fue recolectado y almacenado a 4 °C.

3.5.4.2. Determinación de la actividad de la polifenol oxidasa

La actividad de la PFO se determinó utilizando la metodología descrita por Arrazola et al. (2016), para la determinación de la actividad de polifenol oxidasa se utilizó el espectrofotómetro modelo UV/VISIBLE marca Dinámica Halo DB-20 a 420 nm y 30 °C, para la preparación de las lecturas de cada una de las muestras primero se procedió a calibrar el espectrofotómetro; seguidamente se realizó la lectura de la muestra patrón que consistió en colocar el extracto puro de yacón sin aplicar ningún tratamiento de inactivación de polifenol oxidasa; luego se acondicionó a cada una de los tratamientos añadiendo en una celda 0,5 mL de extracto enzimático, 1 mL de solución de catecol al 1% y 2mL de buffer fosfato 0,2 M, que actúa como regulador de pH a neutro. Se usó una celda de referencia con soluciones iguales a la anterior pero que contenía 0,5 mL de agua en lugar de extracto enzimático. La absorbancia fue medida durante 3 min, en intervalos de 1 min con tres lecturas, la actividad enzimática de la polifenol oxidasa se expresó como $\Delta U_{Abs} \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína (variación de unidades de absorbancia por minuto por gramo de proteína).

El porcentaje de inhibición (%Inh) de PFO se determinó mediante la siguiente ecuación 3:

$$\%Inh = \frac{(A_0 - A)}{A_0} \times 100 \quad \text{Ecuación 3}$$

Dónde la inhibición de la PFO es:

A₀: del extracto crudo

A: en cada condición temperatura, tiempo y concentración de ácido cítrico.

3.5.4.3. Sistema de análisis de imagen mediante visión por computadora (CIE-L*a*b*)

Para el diseño y construcción del sistema de análisis de imagen por computadora (SVC) se basó en lo propuesto por Chuquizuta et al. (2017) para la obtención de las imágenes de cada una de las muestras tratadas. En la tabla 8, se describe las características y especificaciones de los materiales utilizados para la construcción del SVC:

Tabla 8

Detalles de la construcción del sistema de adquisición de imágenes.

Ítem		Parámetro
Paredes	Color interior	Negro mate
	Dimensiones (cm)	100x100x100 (cm)
Luminarias	Cantidad	4
	Tipo	Luz de día
	Potencia	18 W
	Color	2700 K
	(temperatura)	Equilátera
Cámara	Disposición	(10 cm arista)
	Resolución	21,4
	(Píxeles x 106)	
	Dimensión imagen	4320 x 3240
(píxeles)		
Computador	Sensor	CCD
	Procesador	Intel Core i5
		Inside

Las muestras tratadas por acidificado y escaldado fueron secadas con papel absorbente a fin de eliminar la humedad superficial. Seguidamente se procedió a obtener las imágenes mediante el SVC de cada uno de los tratamientos y se guardaron en el formato *.jpg.

El SVC para la adquisición de las imágenes consistía en una caja de 100 x 100 cm cuyas paredes internas son de color negro mate (para evitar la luz o algún reflejo), iluminado por cuatro luces fluorescentes (18 W, temperatura de color de 2700 K) y el sistema de captura (cámara de video Sony con una resolución de imagen de 21,4 pixeles un tamaño de imagen de 4320 x 3240) conectado a un ordenador Intel Core i5 y 8 GB de RAM. Las muestras obtenidas por cada uno de los tratamientos aplicados fueron sometidos a adquisición de imágenes en formato *.jpg.

Para la extracción de las características de color de las imágenes obtenidas se desarrolló una secuencia lógica realizada en una interfaz gráfica de usuario (GUI) creada en el software matemático Matlab R2014a para el análisis de color en sus coordenadas XYZ las imágenes obtenidas en el formato jpg se pasaron a matriz RGB y posteriormente ser transformadas a las coordenadas L*ab, se utilizó el procedimiento y los algoritmos descritos en sus estudios de investigación por Chuquizuta et al. (2017), Castro et al. (2017) y Saldaña et al. (2017) quienes realizaron estudios de investigación en panificación y en rodajas de yacón.

3.6. Análisis estadístico

Mediante el análisis estadístico de varianza se determinó el efecto de cada uno de los factores y sus interacciones sobre las variables de respuesta; el análisis de ANOVA se llevó a cabo en el software estadístico STATGRAPHICS CENTURIÓN XVI, el modelo

estadístico obtenido representado por una región polinomial con el indicado coeficiente de determinación nos permitió graficar la superficie de respuesta en la cual se visualiza de una manera general el efecto de los factores visualizando la región en que se encuentra el punto de deseado dentro del intervalo experimental Chuquizuta et al. (2017). Además, mediante la metodología de múltiples respuestas se calculó la optimización (deseabilidad) de las variables estudiadas.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Caracterización físico-químicas del yacón antes y después del tratamiento de escaldado y acidificado

4.1.1. Caracterización de la muestra de yacón

Para el desarrollo de la presente investigación se utilizó yacón de la variedad anaranjada, las cuales fueron adquiridas en la comunidad de Chororco, distrito de Chota, provincia de Chota, departamento de Cajamarca. En la tabla 9, se muestra las características físico-químicas del yacón antes de someterlo a los tratamientos de inhibición enzimática.

Tabla 9

Caracterización físico-química del yacón.

Propiedad	Valor	Chávez (s.f.)	Rojas y Oblitas (2016); Arispe (2018)	Polanco y García (013); Noborikawa (2016) ; Mendoza (2017)
pH	6,03 ±0,46	5,5	-	-
°Brix	9,4 ±0,36	-	-	-
Acidez (Ac. cítrico)	0,28 ±0,06	-	[0,35 – 0,21]	-
Humedad	90,91 ±0,65%	91,93%	-	[83 – 90%]

Nota: Chávez (s.f.), no presenta fecha de publicación.

De la tabla anterior, se observa que los resultados obtenidos de pH $6,03 \pm 0,46$ son cercanos con lo reportado por Chávez (s.f.) en su investigación, donde caracterizó la raíz de yacón con un pH de 5,5 de la variedad anaranjada. Asimismo, el yacón es uno de los tubérculos con mayor contenido de agua, en las muestras analizadas el contenido de humedad fue $90,91 \pm 0,65$ % lo que concuerda con investigaciones anteriores donde el contenido de agua representa entre el 83 y 90% del peso fresco de las raíces (Polanco y García, 2013; Noborikawa, 2016; Mendoza, 2017). En cuanto a la acidez los valores obtenidos $0,28 \pm 0,06$ se encuentran cercanos al rango reportado por Rojas y Oblitas (2016); Arispe (2018) cuyos valores de acidez expresados en ácido cítrico oscilan entre 0,35 a 0,21 respectivamente.

Es preciso señalar que el contenido de las propiedades antes mencionadas tiene una variación en función al origen, condiciones agrícolas, de laboreo cultural y edafoclimáticos, así como también el contenido de pH y los sólidos solubles (°Brix) y la acidez pueden variar debido al proceso de maduración del yacón (Contreras y Purisaca, 2018).

4.1.2. Caracterización de muestras después del tratamiento de escaldado y acidificado:

Las muestras de yacón que obtuvieron un mayor porcentaje de inactivación de polifenol oxidasa, en los tratamientos de escaldado y acidificado, fueron caracterizadas de manera físico-química. Para el escaldado se caracterizó el tratamiento 5 (75 °C por 5 min) que tuvo una inhibición de 75,85% y para el acidificado el tratamiento 10 (0,7% y tiempo de 12 min) con un 69,73% de inactivación de PFO.

En la tabla 10 se muestra la caracterización físico-química de las muestras de yacón escaldado a 75 °C por 5 min. En cuando al pH existe una disminución entre el pH inicial

(6,03 ±0,46) de las rodajas de yacón y el obtenido en las muestras a 75°C por un tiempo de 5 minutos (4,37 ±0,12), estos resultados son cercanos con los reportados por Salazar (2002) cuyo valor de pH oscila entre 4,34 ±0,01. En cuanto al contenido de humedad en la tabla 9, se muestra un 90,91 ±0,65% de humedad inicial y al ser sometido a tratamiento térmico aumenta el porcentaje de humedad obteniendo como resultado un 93,97 ±0,34% (tabla 10) estos resultados guardan relación con lo mencionado por Salazar (2002), el cual en su investigación en rodajas de yacón sometidas a tratamientos térmicos a temperatura de ebullición obtuvo un contenido de humedad 91,85 ±0,29%, justificando este incremento por el proceso de absorción de agua en las rodajas de yacón, asimismo reporta una disminución en cuanto a su acidez obteniendo como resultado en su investigación un 0,04 coincidiendo con el resultado obtenido en la tabla 10 mencionando que los resultados de la caracterización de yacón después del tratamiento de escaldado son menores debido al tratamiento térmico al que fueron sometidos y debido a ello se produjo una pérdida de nutrientes (proteínas, azúcares, etc.) por difusión con el agua. Del mismo modo Arispe (2018) reporta una disminución en el contenido de acidez expresado en 0,09 g de ácido cítrico/100 g de muestra aplicando tratamiento de blanqueado a 60 °C por 10 minutos estando dentro de los resultados obtenidos.

Tabla 10

Caracterización físico-química del yacón escaldado a 75 °C por 5 min.

Propiedad	Valor	Salazar (2002)	Arispe (2018)
Ph	4,37 ± 0,12	4,31 ± 0,01	-
°Brix	7,3 ± 0,12	-	-
Acidez	0,051 ± 0,01	0,04	0,09
Humedad	93,97 ± 0,34	91,85 ± 0,29	-

Asimismo, en la tabla 11 se muestra la caracterización del mejor tratamiento en acidificado (0,7% de ácido cítrico y 12 min de tiempo de remojo). Los resultados obtenidos muestran que el pH en las rodajas tratadas con ácido cítrico (al 0,7% por un tiempo de 12 minutos) disminuyeron hasta un pH de $4,007 \pm 0,003$, este resultado tiene relación con lo reportado por Carvalho y Zapata (2014) que en su investigación obtuvieron una disminución de pH de 6,14 a 2,93 después de la adición de ácido cítrico al 1% mostrando resultados aproximados a los obtenidos debido a que concentraciones menores de ácido cítrico disminuyen el pH.

Del mismo modo Vasconcelos et al. (2015) reportan una disminución de pH en sus resultados aplicando tratamientos de acidificado al 3% de ácido cítrico por un tiempo de 5 minutos obteniendo como resultado un pH de $5,72 \pm 0,30$ sosteniendo que esta disminución puede deberse al tipo de agente antipardeante; Zarate (2016) en su investigación señala que la disminución de pH se debe a la acción del ácido cítrico al ser utilizado como un agente antipardeante al disminuir el pH logrando reducir la actividad de la polifenol oxidasa.

Asimismo, los °Brix observados en las rodajas de yacón antes ($9,4 \pm 0,36$ °Brix) y después ($5,27 \pm 0,15$ °Brix) del tratamiento de acidificado tienen la misma tendencia con lo reportado por Vasconcelos et al. (2015) quienes evidenciaron una disminución en el contenido de °Brix aplicando tratamiento de acidificado obteniendo como resultado $8,26 \pm 0,07$ °Brix, indicando que el contenido del total de sólidos solubles se debe a la hidrólisis de fructooligosacáridos (FOS) que liberan azúcares simples como fructosa para cumplir con procesos de energía para la respiración y procesos de transpiración.

Tabla 11

Caracterización físico-química del yacón acidificado con concentración de ácido cítrico de 0,7% y tiempo de 12 min.

Propiedad	Valor	Carvalho y	Vasconcelos et
		Zapata (2014)	al. (2015)
pH	4,007 ± 0,003	2,93	5,72 ± 0,30
°Brix	5,27 ± 0,15	-	8,26 ± 0,07
Acidez	0,020 ± 0,1	-	-
Humedad	93,68 ± 0,17	-	-

4.2. Actividad de polifenol oxidasa en rodajas de yacón mediante espectrofotometría

4.2.1. Inhibición de PFO en rodajas de yacón mediante tratamiento de escaldado

En la tabla 12, se muestra el porcentaje de inhibición de polifenol oxidasa en los diferentes tratamientos aplicados a las muestras de rodajas de yacón. De los resultados obtenidos, el tratamiento 5 (temperatura de 75 °C y tiempo de escaldado= 5 min) presentó mayor inhibición de la enzima polifenol oxidasa con un 75,85%, asimismo, el tratamiento 8 (temperatura de 75 °C y tiempo de escaldado= 15 min) es el que obtuvo el mínimo valor de inhibición con un 45,28% respectivamente. En investigaciones anteriores realizadas por Neves y Aparacida (2007), determinaron que la PFO es una enzima termoestable, a temperaturas de hasta 60-70°C, en comparación a otras enzimas como la peroxidasa y su inactivación enzimática es efectiva hasta temperaturas de 80 a 90 °C (Zarate, 2016). Asimismo, Fante et al. (2012) mencionan que la eficiencia de este tratamiento de inactivación tiene una mayor relación con el tiempo de escaldado, disminuyendo de manera progresiva en cuanto la temperatura del tratamiento se incrementa, pudiendo obtener porcentajes de inhibición por encima de 83% en tratamientos a temperatura de ebullición por un tiempo de 4 minutos.

Tabla 12*Inhibición de PFO con el tratamiento de escaldado.*

Tratamiento	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Inhibición de PFO (%)
T ₁	75	10	68,12 ±0,002
T ₂	85	5	65,42 ±0,005
T ₃	85	10	63,84 ±0,002
T ₄	75	10	66,65 ±0,004
T ₅	75	5	75,85 ±0,004
T ₆	75	10	55,86 ±0,004
T ₇	65	15	64,33 ±0,003
T ₈	75	15	45,28 ±0,005
T ₉	85	15	59,39 ±0,003
T ₁₀	75	10	62,55 ±0,004
T ₁₁	65	10	69,68 ±0,002
T ₁₂	65	5	66,89 ±0,004

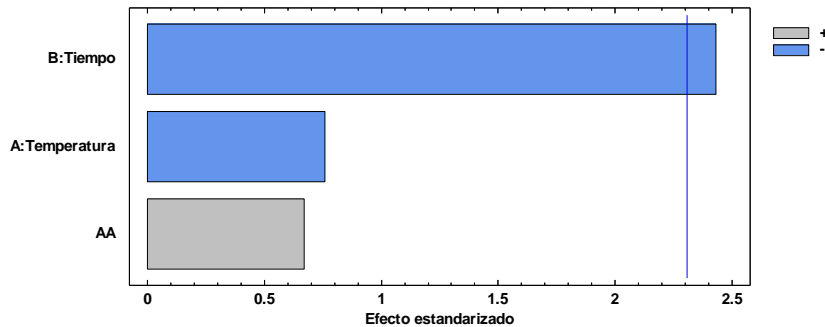
Los resultados tienen relación con lo mencionado con Juárez (2015), quien indica que en el yacón las oxidasas presentan una resistencia al calor y al aplicar tratamiento térmico hasta temperaturas de 80 °C es suficiente para la inactivación de estas enzimas, al aplicar tratamientos más severos en cuanto a mayor temperatura y mayor tiempo se ocasionan la pérdida de calidad del producto en cuanto a la dureza, color y sabor, y si se le aplica tratamientos leves la actividad enzimática puede persistir.

En cuanto a los resultados estadísticos analizados mediante el “ANOVA”, en la figura 6 se observa el diagrama de Pareto para el tratamiento de escaldado, siendo el tiempo la variable más importante en la inhibición de la PFO con un valor de p=

0,0411, lo que indica que la inhibición de la polifenol oxidasa tiene una correlación inversa con la variable tiempo.

Figura 6

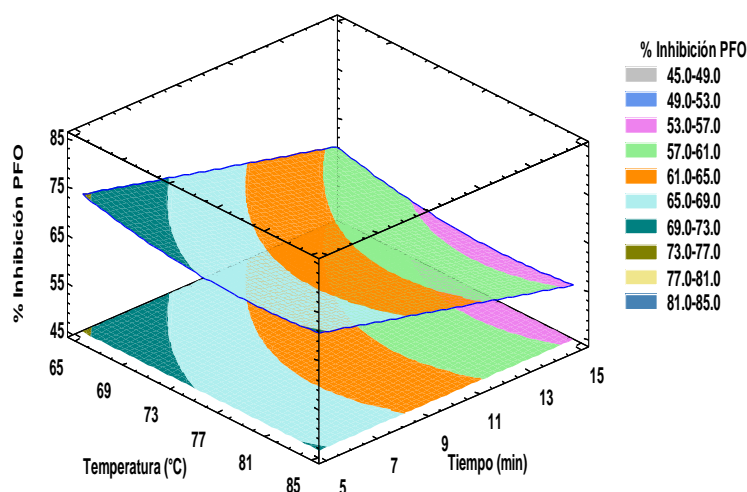
Diagrama de Pareto para el tratamiento de escaldado.



De los análisis realizados se procedió a evaluar la interacción de las variables mediante el análisis de superficie de respuesta (figura 7), para la inhibición de polifenol oxidasa en rodajas de yacón. El diseño factorial 3^k ha permitido la maximización del % de inhibición de la enzima polifenol oxidasa durante el tratamiento de escaldado (color azul de superficie), evidenciándose que en el punto máximo se encuentra el tratamiento con temperatura de 75 °C a un tiempo de 5 minutos con un 75,85%.

Figura 7

Superficie de respuesta estimada para el % de inhibición a diferentes temperaturas y tiempos.



En la tabla 13, se observa la optimización de las variables de temperatura y tiempo para el tratamiento de escaldado en la inactivación de la enzima polifenol oxidasa, permitiendo la maximización del % de inhibición de polifenol oxidasa, se da en los valores del tratamiento 5 con un 75,85 % de inactivación.

Tabla 13

Valor óptimo maximizado del % de inhibición para las variables temperatura y tiempo.

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Temperatura	65,0	85,0	65,0
Tiempo	5,0	15,0	5,0

4.2.2. Inhibición de PFO en rodajas de yacón mediante tratamiento de acidificado

En la tabla 14, se muestra el porcentaje de inhibición de polifenol oxidasa en los diferentes tratamientos aplicados a las muestras de rodajas de yacón. De los resultados obtenidos, el tratamiento 10 (concentración de ácido cítrico= 0,7 % y tiempo de acidificado= 12 minutos) presenta mayor inhibición de la enzima polifenol oxidasa con un 69,73%, asimismo, el tratamiento 3 (concentración de ácido cítrico= 0,3 % y tiempo de acidificado= 12 minutos) es el que obtuvo el mínimo valor de inhibición con un 46,46% respectivamente.

Tabla 14*Inhibición de PFO con el tratamiento de acidificado.*

Tratamiento	Con. Ácido cítrico (%)	Tiempo (min)	Inhibición de PFO (%)
T ₁	0,3	9	65,55 ±0,02
T ₂	0,5	6	61,41 ±0,02
T ₃	0,3	12	46,46 ±0,03
T ₄	0,5	9	65,46 ±0,02
T ₅	0,7	9	65,80 ±0,02
T ₆	0,5	12	61,37 ±0,02
T ₇	0,7	6	65,62 ±0,03
T ₈	0,5	9	51,79 ±0,03
T ₉	0,5	9	65,25 ±0,03
T ₁₀	0,7	12	69,73 ±0,02
T ₁₁	0,5	9	58,08 ±0,03
T ₁₂	0,3	6	68,21 ±0,02

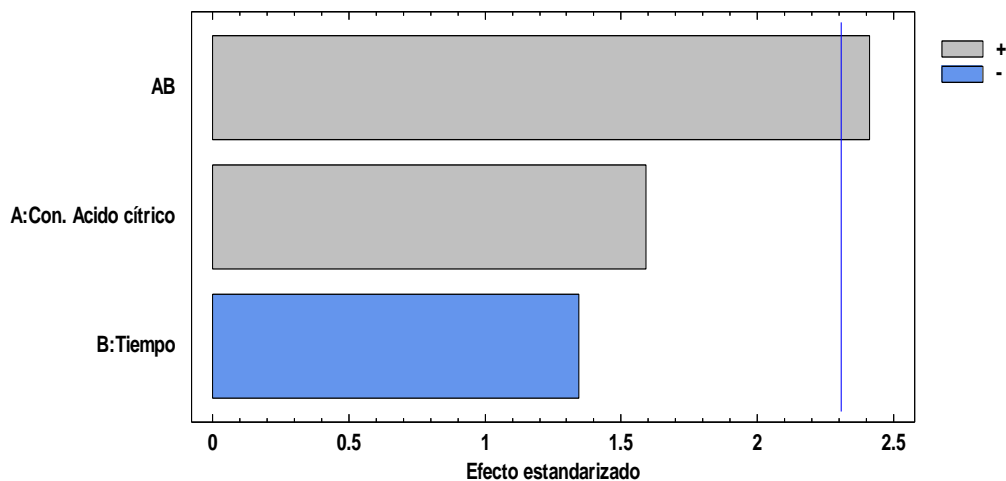
El tratamiento 10 mostró mayor porcentaje de inhibición adicionando 0,7% de concentración de ácido cítrico mediante un tiempo de 12 minutos obteniendo como resultado un porcentaje de inhibición de PFO de 69,73%. En un trabajo anterior realizado por Carvalho y Zapata (2014), obtuvieron una inhibición de polifenol oxidasa de 80,46% aplicando tratamientos de acidificado al 1% por 10 minutos a temperaturas altas. Este mayor porcentaje de inhibición de PFO se debe a que en concentraciones de ácido cítrico cercanas al 4,2%, las condiciones de los acidulantes tienden a afectar de manera más efectiva la actividad y estabilidad de la enzima, controlando el pardeamiento provocado por la PFO (Menezes et al., 2018). Esto se debe a que los acidulantes como el ácido cítrico tiene un doble efecto inhibitorio debido a la

disminución del pH y la acción quelante en el cobre presente en el centro activo de la enzima PFO (Carvalho y Zapata, 2014). Esta enzima tiene una relación con el proceso de respiración del yacón, evidenciando cambios en la disminución de la acidez y pH durante el proceso de respiración (Blach et al., 2011). Del mismo modo Jiménez (2017) en su investigación señala que las raíces de yacón una vez removida la cáscara se pardea durante su procesamiento e inclusive en su almacenamiento a bajas temperatura estas reacciones de pardeamiento parecen estar relacionadas con el contenido de compuestos fenólicos, especialmente con los contenidos de ácidos caféico y clorogénicos y por la actividad de la enzima polifenol oxidasa, estos compuestos fenólicos que originan el pardeamiento enzimático sufren reacciones de condensación con aminoácidos y reacciones de polimerización y es por ello que durante su procesamiento se recomienda utilizar agentes antipardeantes como ácido cítrico, ácido ascórbico. Asimismo, Quispe et al. (2008) reportan que mediante el uso de una solución estándar de ácido cítrico a un pH de 3,5 y un tiempo de contacto de 8 minutos se inactiva la polifenol oxidasa en el yacón. Del mismo modo Rivera et al. (2004) en su investigación reportan que al emplear concentraciones de ácido cítrico de 0,1 mM (0,001%) no afecta la actividad enzimática, sin embargo; si se aumenta la concentración de ácido cítrico la pérdida de actividad enzimática irá aumentando, estas enzimas pueden ser inactivadas por tratamientos de escaldado a 80 °C o temperaturas superiores a 10 minutos con la adición de bisulfito de sodio, ácido ascórbico y ácido cítrico.

De los resultados obtenidos, se les aplicó el análisis estadístico "ANOVA", en la figura 8 se observa el diagrama de Pareto para el tratamiento de acidificado, siendo la interacción de la concentración de ácido cítrico y tiempo las variables que influyen en la inhibición de la polifenol oxidasa con un valor de $p= 0,0426$, lo que indica que la polifenol oxidasa tiene una relación para las dos variables.

Figura 8

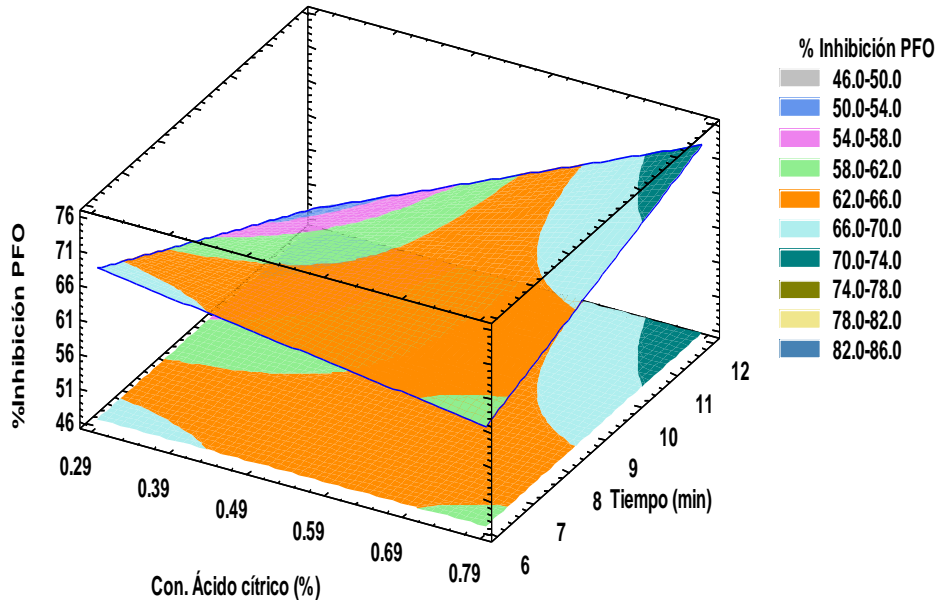
Diagrama de Pareto para el tratamiento de acidificado.



En la figura 9, de los análisis realizados se procedió a evaluar la interacción de las variables mediante el análisis de superficie de respuesta para la inhibición de polifenol oxidasa en rodajas de yacón. El diseño 3^k ha permitido la maximización del % de inhibición de la enzima polifenol oxidasa durante el tratamiento de acidificado (color azul de superficie), evidenciándose en el punto máximo se encuentra el tratamiento 10 con una concentración de ácido cítrico de 0,7% con un tiempo de 12 minutos.

Figura 9

Superficie de respuesta estimada para el % de inhibición a diferentes con. de ácido cítrico y tiempos.



En la tabla 15, se observa la optimización de las variables de concentración de ácido cítrico y tiempo para el tratamiento de acidificado para la inactivación de la enzima polifenol oxidasa, permitiendo la maximización del % de inhibición en el tratamiento 10 con un 69,63%.

Tabla 15

Valor óptimo maximizado del % de inhibición para las variables concentración de ácido cítrico y tiempo.

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Con. Ácido cítrico	0,3	0,7	0,7
Tiempo	6,0	12,0	12,0

4.3. Actividad de polifenol oxidasa en rodajas de yacón mediante visión por computadora (CIELab*)

4.3.1. Tratamiento por escaldado

En la tabla 16, se muestra el índice de color L^* , a^* y b^* de los 12 tratamientos aplicando el tratamiento de escaldado a una temperatura y tiempo antes mencionados.

Tabla 16

Índice de color L^ , a^* y b^* para el tratamiento de escaldado.*

Corrida	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Color			ΔE
			L^*	a^*	b^*	
T ₁	75	10	66,55	-1,42	10,22	2,28
T ₂	85	5	73,39	-2,07	9,48	2,48
T ₃	85	10	75,37	-0,69	1,96	8,77
T ₄	75	10	78,25	-5,61	18,91	19,19
T ₅	75	5	75,94	-0,75	2,43	13,46
T ₆	75	10	64,06	-0,85	8,75	13,47
T ₇	65	15	71,43	-2,04	11,04	2,51
T ₈	75	15	78,25	-5,61	18,91	6,52
T ₉	85	15	81,70	-8,53	30,36	23,83
T ₁₀	75	10	85,09	-2,51	12,79	15,27
T ₁₁	65	10	74,19	-0,58	1,19	4,77
T ₁₂	65	5	72,23	-2,01	10,06	8,77

La rodaja de yacón del tratamiento 10 presenta un mejor índice de luminosidad $L^*=85,09$ característico de un color claro; $a^*=-2,51$ y referente al $b^*=12,79$ al aplicar una temperatura de 75°C por 10 minutos, Fante et al. (2012) en su investigación reportan

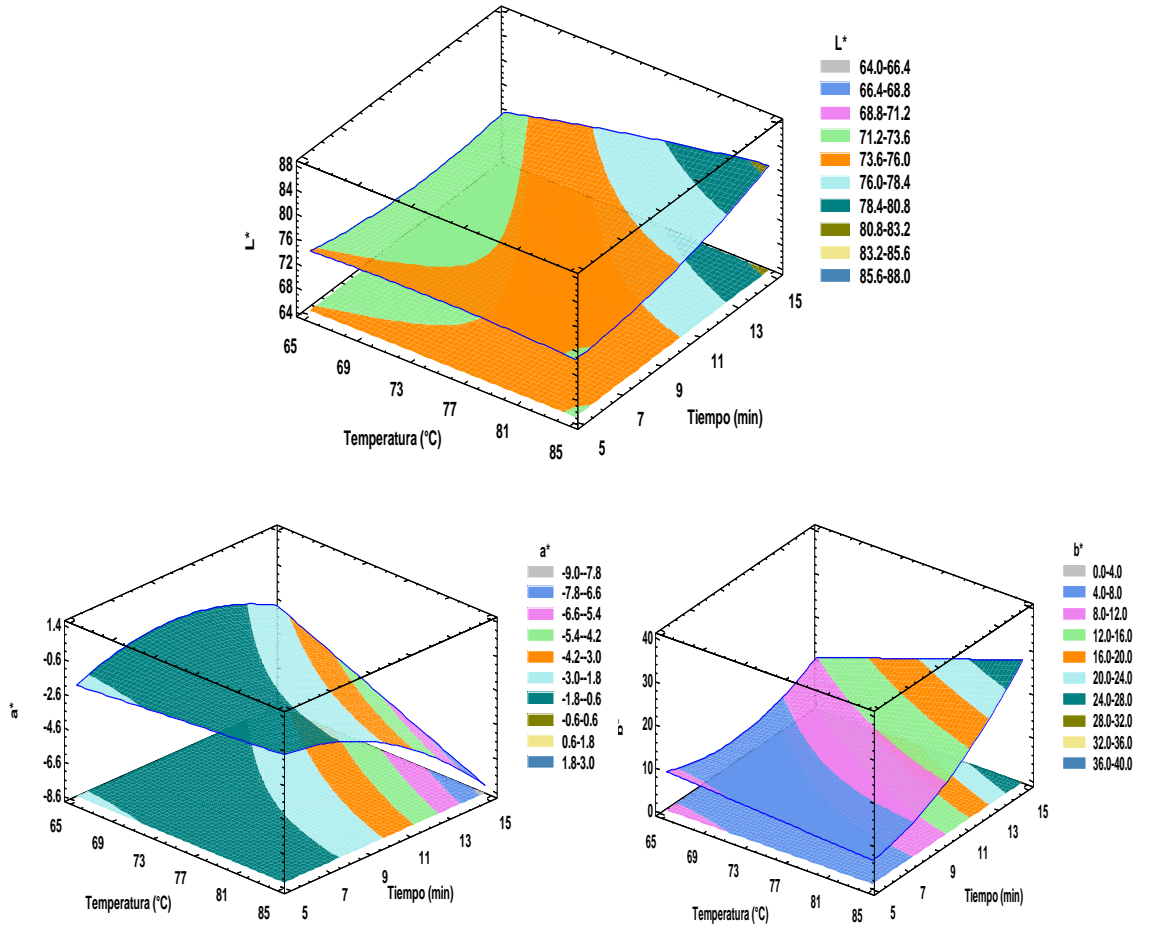
en sus valores obtenidos que mediante el blanqueado en rodajas de yacón con tiempo de 10 minutos a temperatura de ebullición se obtienen valores para $L^* = 41,83 \pm 0,37$ un color amarillo claro $a^* = -2,14 \pm 0,07$ y $b^* = 12,44 \pm 0,30$ y $\Delta E = 13,31 \pm 0,35$ quien menciona que la disminución de los valores para a^* tornando a un negativo demuestra una pérdida de color rojo reflejando un color verdoso en la muestra, el aumento en L^* y b^* se debe al aumento de la temperatura y tiempo de blanqueo indicando un color más claro y el aumento del tono a^* un amarilleo disminuyendo la intensidad del enrojecimiento; por otro lado Ndiaye et al., (2009) mencionan en su investigación que a tiempos mayores a 7 minutos de escaldado con vapor en rodajas de mango el índice de pardeamiento es más estable y los valores b^* y L^* contribuyen de manera positiva al índice de pardeamiento en comparación con a^* .

Asimismo, Mejía (2015) en un trabajo de investigación reporta la $\Delta E = 21,98 \pm 0,19$ en el extracto bruto de yacón trabajados en condiciones de extracción a temperatura de escaldado de $85\text{ }^\circ\text{C}$ con un tiempo de 10 minutos evidenciando que la variación de color muestra un aproximado a los resultados obtenidos en las rodajas de yacón sometidas a tratamiento de escaldado, sin embargo, Garzón et al. (2018) en su investigación señalan que la disminución de la luminosidad en rodajas de yacón el valor de L^* se debe a que la temperatura de las rodajas de yacón se van elevando indicando un efecto notorio en el incremento del oscurecimiento enzimático a través del tiempo, el valor de L^* inicial fue 80,78 y a medida que la temperatura del yacón fue aumentando evidenciando una pérdida de luminosidad al 67,67 por otro lado Pérez (2003) en su investigación menciona que el aumento de la luminosidad aplicando temperaturas altas y tiempos cortos mantienen la originalidad del color.

En la figura 10, se muestra la superficie de respuesta de los parámetros de color L^* , a^* y b^* de las muestras de rodajas de yacón sometidas al tratamiento de escaldado con una temperatura y tiempo detallados en la tabla 16.

Figura 10

Superficie de respuesta L^ , a^* y b^* (temperatura y tiempo).*



4.3.2. Tratamiento por Acidificado

En la tabla 17, se muestra el índice de color L^* , a^* y b^* de los 12 tratamientos al aplicar tratamiento de acidificado.

Tabla 17*Índice de color L*, a* y b* para el tratamiento de acidificado.*

Corrida	Ácido cítrico (%)	Tiempo (min)	Color			ΔE
			L*	a*	b*	
T ₁	0,3	9	71,89	-0,35	1,53	8,72
T ₂	0,5	6	76,67	-1,88	10,30	12,28
T ₃	0,3	12	73,01	-1,05	8,35	1,25
T ₄	0,5	9	64,25	-2,07	11,76	5,80
T ₅	0,7	9	67,18	-2,71	9,87	3,26
T ₆	0,5	12	65,35	-0,93	11,28	2,43
T ₇	0,7	6	68,51	-1,64	7,46	1,79
T ₈	0,5	9	67,69	-2,91	10,17	4,09
T ₉	0,5	9	67,92	-0,98	7,72	5,77
T ₁₀	0,7	12	71,54	-1,73	8,04	1,07
T ₁₁	0,5	9	67,23	-1,11	11,86	3,10
T ₁₂	0,3	6	70,30	-1,25	6,97	2,46

Las rodaja de yacón sometida a tratamiento de acidificado presentan mejores valores de L*=76,67; b*= 10,30; a*= -1,88 y ΔE = 12,28 aplicando tratamiento de acidificado en concentración de ácido cítrico al 0,5% durante 6 minutos, Vasconcelos et al. (2015) en su investigación obtuvo el valor promedio de la variación de color en $2,3 \pm 1,7$ aplicando concentración de ácido cítrico al 3% por un tiempo de 5 minutos referente al índice a*= 0,82 y L*=48,16 quien en sus resultados no mostró una mayor significancia en cuanto al brillo debido a que el yacón mínimamente procesado mantuvo la luminosidad de sus coordenadas de color durante su almacenamiento, en cuanto al índice b* indica un tono amarillento esto se debe al color característico de las raíces de yacón peladas, en cuanto al índice

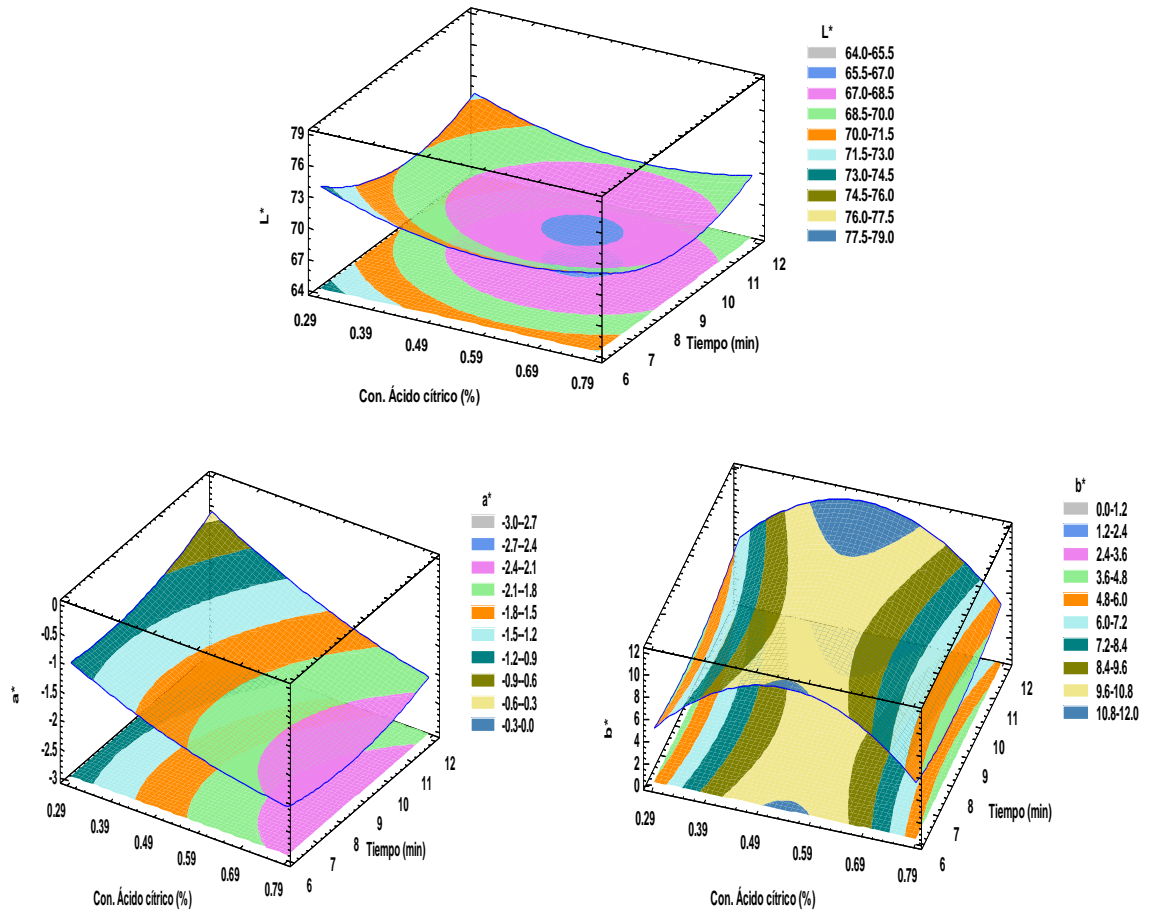
a* al utilizar ácido cítrico como agente antipardeante disminuye la pigmentación de este evidenciando así la efectividad de los ácidos en retardar el pardeamiento enzimático provocado por enzimas como la PFO por esta razón se obtuvieron valores bajos dado que el yacón por su naturaleza presenta un color amarillo pálido.

Asimismo, Campos (2014) en su investigación reporta los valores L*a*b* en yuca mínimamente procesada utilizando ácido cítrico al 1,2% como agente antipardeante evidenciando una mayor preservación en cuanto al índice de luminosidad con valores que oscilan entre $84,17 \pm 0,30$ donde menciona que la luminosidad varía dependiendo a los días de almacenamiento del producto, en cuanto al parámetro a* mostró un resultado negativo a medida del tiempo de almacenamiento presentando un valor de $-1,92 \pm 0,04$ indicando que este parámetro tiende a aumentar la intensidad del color verde durante el tiempo de almacenamiento, del mismo modo el parámetro b* = $11,58 \pm 0,16$ presenta un aumento ligero en la intensidad del color amarillo; del mismo modo Dionisio et al. (2016) en su investigación señala que la disminución en los valores a* (mostrando una pérdida de color rojo) pueden deberse a la reacción de las antocianinas al reaccionar con el tipo de ácido utilizado (ácido cítrico, ascórbico, etc.) dando lugar a pérdidas de ambos componentes con la formación de pigmentos ligeramente oscuros asociados a la oxidación desencadenando una disminución en la actividad antioxidante total del producto en el transcurso del almacenamiento además señala que la estabilidad del color se ve afectada por el pH y la temperatura (siendo más estables en condiciones ácidas) con la formación de compuestos menos coloreados y que dichas variaciones se puede deber a la hidrólisis de la sacarosa (azúcar no reductor) que en solución acuosa y en medio ácido se hidroliza fácilmente en monosacáridos reductores D-glucosa y D-fructosa.

En la figura 11, se muestra la superficie de respuesta de los parámetros de color L^* , a^* y b^* de las muestras de rodajas de yacón sometidas al tratamiento de acidificado con una concentración de ácido cítrico y tiempo detallados en la tabla 17.

Figura 11

Superficie de respuesta L^ , a^* y b^* (concentración de ácido cítrico y tiempo).*



4.4. Resultados de la optimización de múltiples respuestas de los tratamientos de escaldado y acidificado

En la tabla 18 se muestra el tratamiento óptimo del diseño de deseabilidad, el punto de deseabilidad máximo se alcanza a un tiempo de 11,3997 minutos y una temperatura de 85 °C, encontrando esta combinación de factores con una deseabilidad óptima de 0,77584. Se debe tener en consideración que para optimizar un diseño con múltiples

respuestas se utiliza la deseabilidad, la cual emplea un enfoque de optimización simultánea, en el que convierte, primeramente, cada respuesta de la variable dependiente en una función de deseabilidad que varía entre 0 y 1 y que representa la cercanía de una respuesta al valor ideal, de tal forma que si la deseabilidad alcanza el objetivo será igual a 1 (Yaguas, 2017).

Tabla 18

Valor óptimo de maximización de múltiples respuestas (temperatura y tiempo).

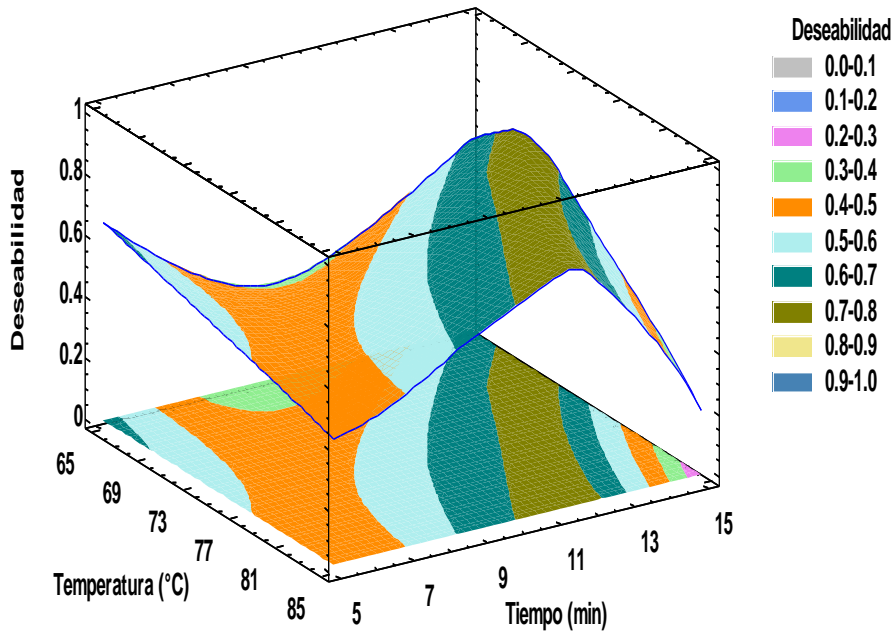
Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Temperatura	65,0	85,0	85,0
Tiempo	5,0	15,0	11,3997

En la tabla 18, se muestra la deseabilidad global óptima que alcanza a una temperatura de 85°C con un tiempo de 11,39. Zarate (2016) menciona que a temperaturas entre 80 – 90 °C se tiene una mayor eficiencia de inhibición de polifenol oxidasa, pero se debe de tener en cuenta que al aplicar elevados temperaturas y tiempos se ocasiona una pérdida de calidad en cuanto a color, sabor, textura e incluso pérdida de nutrientes (Juárez, 2015). Yaguas (2017) en su investigación nos señala que los resultados de la deseabilidad se fundamentan en hacer notar que los objetivos de la optimización de las variables estudiadas muestran un buen conjunto de condiciones que satisfagan todos los objetivos y a través de la deseabilidad poder encontrar un óptimo.

En la figura 12, se muestra la superficie de múltiples respuestas para la deseabilidad, mediante la maximización de cada una de las variables optimizadas en cuanto al porcentaje de inhibición de PFO y color en cada una de sus coordenadas (L^* , a^* y b^*) en el tratamiento de escaldado y al ser interpoladas o interpuestas se observa un mayor rango de deseabilidad con una temperatura de 85 °C y un tiempo de 11,3997 donde el pico es más elevado.

Figura 12

Superficie de respuesta de la deseabilidad y optimización de respuestas.



Asimismo, los resultados de la optimización de respuestas para el tratamiento de acidificado que se muestran en la tabla 19, entre los puntos de diseño la deseabilidad máxima alcanza un tiempo de 7,19988 minutos y una concentración de ácido cítrico de 0,357237% tabla 19, mediante la técnica estadística de optimización de múltiples respuestas, encontrando la combinación de factores con una deseabilidad óptima de 0,82769.

Tabla 19

Valor óptimo de maximización de múltiples respuestas (concentración de ácido cítrico y tiempo).

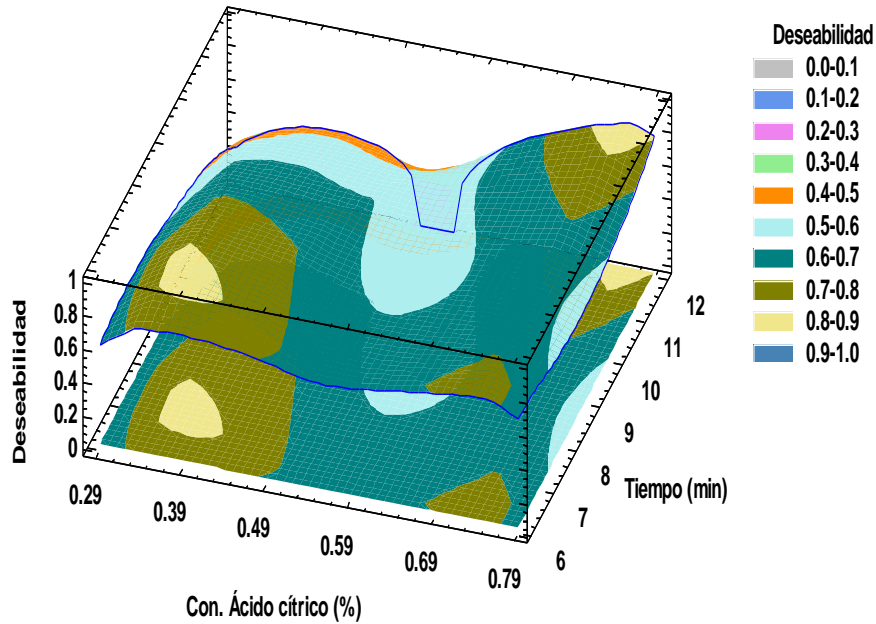
Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Con. Ácido cítrico	0,3	0,7	0,357337
Tiempo	6,0	12,0	7,19988

En la tabla 19, se observa la deseabilidad global óptima a concentraciones de ácido cítrico de 0,35% por un tiempo de 7,19 minutos, la deseabilidad global obtenida se fundamenta en lo señalado por Bacio (2007) quien menciona que las variables de respuesta modeladas inicialmente crea una superficie de respuesta de un diseño experimental y por tanto a cada una de las variables se le aplica una transformación de tal manera que puedan ser combinadas en una sola función y a partir de allí se varían los niveles de cada uno de los factores resultando un mejor óptimo individual y alcanzar un óptimo general. El valor óptimo obtenido según la deseabilidad en el tratamiento de acidificación concuerda con Carvalho y Zapata (2014); y Quispe et al. (2008) quienes reportaron un valor promedio en cuanto al tiempo de acidificación de 8 a 10 minutos a temperaturas altas, esto se debe a que los acidulantes como el ácido cítrico tiene un doble efecto inhibitorio ya que disminuye el pH y quela el cobre presente en la enzima PFO.

En la figura 13, se muestra la superficie de múltiples respuestas para la deseabilidad en el tratamiento de acidificado al maximizar cada una de las variables optimizadas en cuanto al porcentaje de inhibición de PFO y color en cada una de sus coordenadas (L^* , a^* y b^*) al realizar una superposición se observa una mayor deseabilidad con una concentración de ácido cítrico de 0,357337 y un tiempo de 7,19988 donde se puede observar un pico más elevado.

Figura 13

Superficie de respuesta de la deseabilidad y optimización de múltiples respuestas.

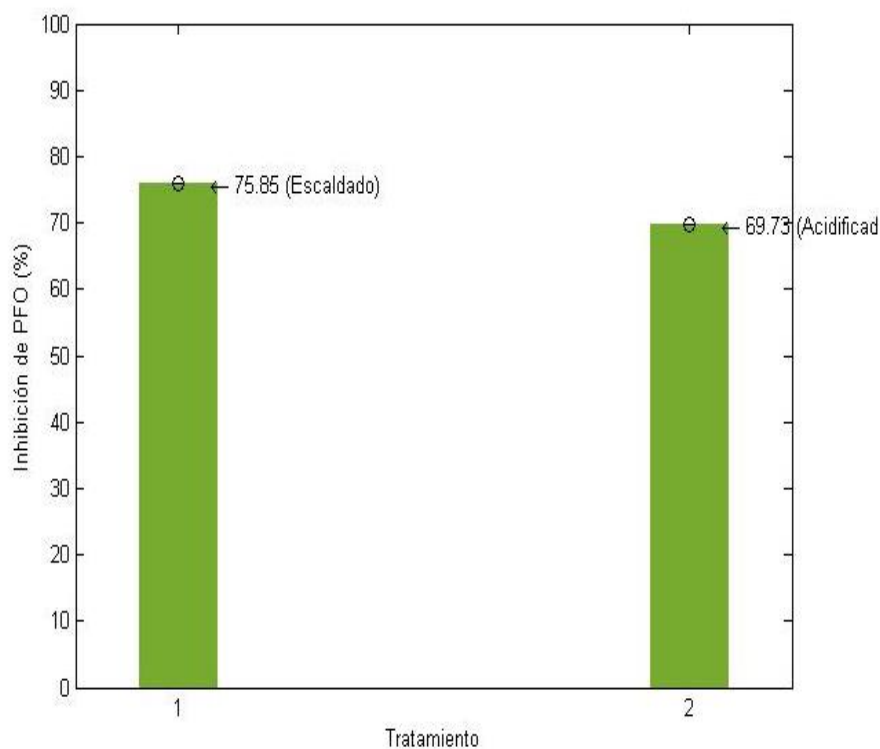


4.5. Gráfico de comparación de Tukey para la inhibición de PFO

En la figura 14, se presenta la comparación de Tukey para la inhibición de polifenol oxidasa para el tratamiento de escaldado y acidificado con un porcentaje de inhibición de 75,85% para el tratamiento de escaldado, siendo el tratamiento con mayor eficiencia para la inhibición de PFO.

Figura 14

Comparación de Tukey para la inhibición de PFO.



Los resultados obtenidos demuestran que a temperaturas de escaldado de 75 °C y tiempo de 5 minutos inhiben la PFO en un 75,85 ±0,004% estos resultados presentan una similitud a los reportados por Arrazola et al. (2016) quien en su investigación obtuvo como resultados que mediante tratamiento de escaldado la actividad enzimática de PFO evidencia una disminución al 86,8% en la batata variedad colorada y el 86,17% en la variedad blanca. Asimismo, Pérez (2003) menciona que tratamientos de escaldado a altas temperaturas y tiempos cortos son efectivos para la inhibición de enzimas como la PFO pues los métodos convencionales como el escaldado utilizados para la inhibición de dichas enzimas a temperaturas de 75 °C por tiempos de 1 a 10 minutos se obtienen resultados eficaces.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

Los tratamientos de escaldado y acidificado para la inhibición de PFO en rodajas de yacón presentaron resultados importantes, sin embargo, en los tratamientos de escaldado tiene una mayor eficiencia de inhibición, siendo el tratamiento 5 a 75 °C por 5 minutos el que obtuvo el máximo porcentaje de inhibición de PFO con 75,85%. En cuanto al tratamiento de acidificación el mayor porcentaje de inhibición se obtuvo en el tratamiento 10 a 0,7% de ácido cítrico por 12 minutos con un 69,73% de inhibición de PFO; se ha de considerar que el mejor método para la inactivación de PFO es el tratamiento de escaldado. De los resultados de superficie de respuesta también se concluye que, en los tratamientos de escaldado la variable tiempo influye en la enzima presentando una inhibición mayor, mientras que para los tratamientos de acidificación las variables tiempo y concentración de ácido cítrico influyen en la inhibición de la PFO.

En la caracterización física-química de las muestras de yacón se mostró que en ambos tratamientos de escaldado y acidificado hubo cambios en cuanto a los valores de pH, acidez, °Brix debido al tratamiento aplicado y el tipo de agente antipardeante utilizado ya que el ácido cítrico tiene un efecto de disminuir el pH, en cuanto al contenido de humedad se observó un aumento en ambos tratamientos puesto que hay una absorción de agua en las muestras tratadas.

Para el análisis de visión por computadora los resultados obtenidos mostraron una mayor conservación del color aplicando tratamientos de escaldado a una temperatura de 75 °C y un tiempo de 10 minutos. Las rodajas de yacón de este tratamiento presentaron mejores valores con respecto a $L^* = 85,09$ $a^* = -2,51$ y $b^* = 12,70$ y $\Delta E = 15,27$ mostrando un mejor color, mayor intensidad de brillo, menor intensidad de rojo virando a un ligero verde, los resultados de superficie de respuesta en el color indican que la variable tiempo influye más que la temperatura. En cuanto al tratamiento de acidificado

al aplicar una concentración de ácido cítrico al 0,5% por un tiempo de remojo de 6 minutos se obtuvieron valores de $L^*=76,67$; $a^*=-1,88$; $b^*=10,30$ y $\Delta E= 12,28$.

5.2. Recomendaciones

- Se recomienda determinar la presencia de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante presente en el yacón, antes y después de los tratamientos de inhibición de polifenol oxidasa escaldado y acidificado.
- Se recomienda realizar investigaciones complementarias que permitan evaluar la vida útil del yacón, después de haber sido sometido a tratamientos de inhibición de polifenol oxidasa.
- Se recomienda determinar el pH y dureza del agua óptima para la inactivación de polifenol oxidasa mediante el escaldado y acidificado.
- Se recomienda realizar estudios utilizando diferentes métodos de inhibición de polifenol oxidasa para evaluar los efectos adversos en la textura, sabor y valor nutricional del yacón.

CAPÍTULO VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abril, N., Bárcena, A., Fernández, E., Galván, A., Jorrín, J., Peinado y J., Túnez, I. (s.f).
Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. Córdoba, España.
- Arispe, M. (2018). "El puré de yacón (*Smallanthus sonchifolius*), alimento alternativo de calidad". Para optar el título de maestría. Universidad Nacional Federico Villarreal, Lima, Perú. Obtenido de <http://repositorio.unfv.edu.pe/bitstream/handle/UNFV/2276/Arispe%20Ch%C3%A1vez%20Mar%C3%ADa%20Elena.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Arnao, I., Seminario, J., Cisneros, R., y Trabucco, J. (2011). Potencial antioxidante de 10 accesiones de yacón, *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson, procedentes de Cajamarca - Perú. Anales de la Facultad de Medicina, 72(4), 239-243. Obtenido de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832011000400003
- Arnao, I., Suárez, S., Cisneros, R., y Trabucco, J. (2012). Evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos acuosos de la raíz y las hojas de *Smallanthus sonchifolius* (yacón). Revista de la Sociedad Química del Perú, 78(2), 120-125. Obtenido de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2012000200006
- Arosena, M., y Chavez, R. (2018). Evaluación del extracto del fruto de mullak'a (*Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl.) sobre las características de calidad de la carne molida de alpaca (*Vicugna pacos*) en refrigeración. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima-Perú. Obtenido de <https://hdl.handle.net/20.500.12672/9393>

- Arrazola, G., Alvis, A., y García, C. (2016). Efecto del tratamiento de escaldado sobre la actividad enzimática de la polifenol oxidasa en dos variedades de batata (*Ipomoea batatas Lam.*). *Revista Colombiana De Ciencias Hortícolas*, 10(1), 80-88. Obtenido de: doi:<https://doi.org/10.17584/rcch.2016v10i1.5125>
- Artés, F., Castañer, M., y Gil, M. (1998). Revisión: El pardeamiento enzimático en frutas y hortalizas mínimamente procesadas. *Food Science and Technology International*, 4(6), 377-389. Obtenido de: doi:DOI: 10.1177/108201329800400602
- Aruquipa, R. (2017). Caracterización Etnobotánica del cultivo de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) en dos comunidades del Municipio de Mocomoco Altiplano Norte. Universidad Mayor de San Andrés, La Paz. Obtenido de <https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/12874/T-%202376.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Avallone, C., Cravzov, A., Montenegro, S., y Pellizzari, E. (2000). Estudio de la actividad de polifenoloxidasas y peroxidasa en *Carica papaya L* mínimamente procesada. Obtenido de http://www.revistacyt.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2000/8_exactas/e_pdf/e_020.pdf
- Ayala, J. (2008). Determinación del pH salival después del consumo de una dieta cariogénica con y sin cepillado dental previo en niños. Lima- Perú. Obtenido de http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/2179/ayala_lj.pdf;jsessionid=C6A2C9D430DE5AE272D4C1B326A764C0?sequence=1
- Bacio, L. (2007). "Optimización Multi-Objetivo en el Problema de Metodología de Superficie Multi-Respuesta". Centro de Investigación en Matemáticas, A. C., Guanajuato, México. Obtenido de <https://cimat.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1008/69/2/TE%20221.pdf>
- Balois, R., Colinas, M., Peña, C., Chávez, S., y Alia, I. (2007). Sistema de estrés oxidativo, fenoles-polifenoloxidasas- peroxidasa, de frutos de pitahaya (*Hylocereus undatus*)

almacenados con frío. Revista Chapingo Serie Horticultura. 13(2), 115-120.

Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=60913280001>

Barranco, F. (2003). Extracción y Evaluación de Compuestos con Capacidad Inhibitoria del Proceso de Oscurecimiento Enzimático de Aguacate *Hass Persea americana* variedad mill, obtenidos de la semilla del fruto. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro", Buenavista-México. Obtenido de <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/309/57544s.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Blach, D., Donado, J., y Pinzón, M. (2011). Actividad de la peroxidasa y polifenol oxidasa en rodajas de carambolo (*Averrhoa Carambola L.*) Fresco cortado durante su almacenamiento en atmósfera modificada. Alimentos Hoy, 19(20), 34-42. Obtenido de: doi:<http://www.alimentoshoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/view/62>

Bocanegra, J., y Espinoza, J. (2013). "Parámetros de diseño de sistema de osmo deshidratación del yacón a partir de sus parámetros de proceso". Trujillo. Obtenido de http://www.dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3437/BocanegraDiaz_J%20-%20EspinozaOlortiga_J.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Bravo, K., y Osorio, E. (2016). Characterization of polyphenol oxidase from Cape gooseberry (*Physalis peruviana L.*) fruit. Food Chemistry, 197, 185-190. Obtenido de: doi:DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.10.126

Bravo, K., Muñoz, K., y Calderón, J. (2011). Extracción de polifenol oxidasa de uchuva (*Physalis peruviana L.*) y aislamiento por sistemas bifásicos acuosos. Vitae, 18(2), 124-132. Obtenido de http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0121-40042011000200003&script=sci_arttext&tlng=en

Cadena, R. (2011). "Estudio de factibilidad para la industrialización del yacón (*Smallanthus sonchifolius*) como fuente de fructooligosacáridos (FOS) para la aplicación en yogur

- tipo II de la leche de vaca en Cayambe – Pichincha – Ecuador”. Quito. Obtenido de <http://192.188.53.14/bitstream/23000/1278/1/99433.pdf>
- Campos, T. (2014). Efecto del ácido cítrico en la inhibición del oscurecimiento enzimático de la yuca blanca (*Manihot esculenta Crantz*) mínimamente procesada, envasada y almacenada en refrigeración – Departamento de Ucayali. Para optar el título profesional. Universidad Nacional Intercultural de la Amazonía, Yarinacocha, Perú. Obtenido de <http://repositorio.unia.edu.pe/bitstream/unia/70/1/TESIS2.pdf>
- Carvalho, C., y Zapata, C. (2014). Kinetic and Thermodynamic of Thermal Inactivation of the Peroxidase, Polyphenoloxidase and Inulinase Activities during Blanching of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) Juice. Food Bioprocess Technol , 7, 3560-3568. Obtenid de: doi:DOI 10.1007/s11947-014-1366-y
- Casaubon, P., Lamshing, P., Isoard, F., Casaubon, S., Delgado, D., y Pérez, A. (2018). pH de los alimentos: ¿una herramienta para el manejo de los pacientes con reflujo gastroesofágico? Revista Mexicana de Pediatría, 85(3), 89-94. Obtenido de <https://www.medigraphic.com/pdfs/pediat/sp-2018/sp183c.pdf>
- Castro, W., Oblitas, J., Chuquizuta, T., y Avila, H. (2017). Aplicación del análisis de imágenes para la optimización del proceso de panificación en función de la aceptabilidad del color de la corteza. Revista de ciencia de cereales, 74, 194-199. Obtenido de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0733521016302776>
- Chavez, J. (s.f.). Elaboración y caracterización de jarabe de Yacón (*Smallanthus Sonchifolius*) procedente de la provincia de Huancabamba. Para obtener el título profesional. Universidad Nacional de Piura, Piura, Perú. Recuperado el 2020 de Julio de 02, de https://www.emagister.com/uploads_courses/Comunidad_Emagister_63641_63641-1-1.pdf
- Chuquizuta, T., Florián, G., Castro, W., y Fito, P. (2017). Efecto de las condiciones de proceso en el desarrollo del color durante la elaboración de pan: uso de técnicas de

análisis de imagen para evaluación del color. ResearchGate, 32-39. Obtenido de:
doi:DOI: 10.25127/ucni.v2i1.223

Civera, M. (2012). Efecto combinado de la aplicación de altas presiones hidrostáticas y stevia rebaudiana sobre la actividad de peroxidasa y polifenol oxidasa. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia. Obtenido de <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/27974/Tesina%20Marta.doc%20VERSI%C3%93N%20FINAL.pdf?sequence=1>

Contreras , E., y Purisaca, J. (2018). "Elaboración y evaluación de bebida funcional a partir de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) y piña (*Ananas comosus*) endulzado con stevia". Para obtener el título profesional. Universidad Nacional del Santa, Chimbote, Perú. Obtenido de <https://docplayer.es/96064029-Universidad-nacional-del-santa.html>

Denoya, G., Ardanaz, M., Sancho, A., Bénéitez, C., González, C., y Guidi, S. (2012). Efecto de la aplicación de tratamientos combinados de aditivos sobre la inhibición del pardeamiento enzimático en manzanas cv. Granny Smith mínimamente procesadas . Revista de Investigaciones Agropecuarias, 38(3), 263-267. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4168728>

Dionisio , A., Wurlitzer, N., De Souza, T., Borges, M., Garruti, D., y Da Silva, I. (2016). Estabilidad de una bebida funcional de frutas tropicales y yacón (*Smallanthus sonchifolius*) durante el almacenamiento en refrigeración. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 66(2), 148-155. Obtenido de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222016000200008&lng=es&tlng=pt.

Fante, L., Scher, C., Noreña, C., y Rios, A. (2012). Study of enzyme inactivation using steam in yacon (*smallanthus sonchifolius*) roots. Journal of Food Processing and Preservation, 37(1), 16-24. Obtenido de: doi: <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2011.00609.x>

- García, L., y Huarte, M. (2017). Calidad nutricional y microbiológica en papas cortadas tratadas con agentes antioxidantes. VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CICYTAC 2016). Recuperado el 10 de Junio de 2019, de <https://www.researchgate.net/publication/315759867>
- Garzón, A., Dussán, S., y Melo, R. (2018). Estudio de la Variación de Parámetros de Color del Yacón utilizando un Prototipo de Medición de Color y Temperatura. *Información Tecnológica*, 29(6), 75-82. Obtenido de: doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642018000600075>
- Gasull, E., y Becerra, D. (2006). Caracterización de Polifenol oxidasa Extraída de Pera (cv. Packam's Triumph) y Manzana (cv. Red Delicious). *Información Tecnológica*, 17(6), 69-74. Obtenido de: doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642006000600012>
- Gil, M., Rojano, B., y Guerrero, C. (2012). Inhibición de la polifenol oxidasa extraída del banano (*cavendish*) por medio de algunos derivados del isoespintanol. Universidad Nacional de Colombia, Medellín. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/277176519_Inhibicion_de_la_polifenoloxidas_extraida_del_banano_cavendish_por_medio_de_algunos_derivados_del_iseospintanol
- Gutiérrez, H., y De la Vara, R. (2008). Análisis y diseño de experimentos. México: MCGRAW- HILL/INTERAMERICANA EDITORES, S.A. de C.V.
- Hernández, H. (2009). "Obtención de oligofruktanos a partir de la raíz de yacón ". Lima-Perú. Obtenido de http://repositorio.uni.pe/bitstream/uni/9055/1/hermandez_uh.pdf
- INEI. (05 del 2017). Perú: Enfermedades no transmisibles y transmisibles, 2016. Obtenido de https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1432/libro.pdf
- INVIMA. (2019). Formulación de grados °Brix, rendimiento. Obtenido de <https://www.slideshare.net/dianacquintero/poes-15327277>

- Jiménez, L. (2017). Escalamiento de la producción de bebidas funcionales a partir de productos vegetales no tradicionales. Universidad Nacional de Colombia , Bogotá, Colombia. Obtenido de <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/59619/LuisE.Jim%c3%a9nezCucaita.2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Juárez, S. (2015). "Influencia del blanqueado y secado de yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl) en el contenido de azúcares y fructooligosacáridos". Universidad Nacional Agraria la Molina, Lima, Perú. Obtenido de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/2176>
- Latorre, L., Pantoja, A., Mejía, D., Hurtado, A., y Osorio, O. (2013). Evaluación de tratamientos térmicos para inactivación de enzimas en jugo de fique (*Furcraea gigantea* Vent.). Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 11(1), 133-122. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11n1/v11n1a14.pdf>
- Lima, C., Zotarelli, M., y Clemente, E. (2006). Peroxidase (POD) e polifenol oxidase (PPO) em polpa de goiaba (*Psidium guajava* R.). Food Science and Technology, 26(3), 705-708. Obtenido de: doi:<https://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612006000300034>
- Lopes, O., Ramirez, E., y Castillo, D. (2014). Prevención del pardeamiento enzimático de la harina de yacón mediante el uso combinado de agentes anti-pardeamiento y el estudio de su composición química. Ciencia y Tecnología de los Alimentos, 34(2), 275-280. Obtenido de: doi:<https://doi.org/10.1590/fst.2014.0045>
- Lupaca, N., Nerea, K., Carpio, M., Lizelle, M. (2011). Aplicación de la metodología seis sigma en la optimización de una conserva de yacón (*Smallanthus sonchifolius*). Universidad Nacional del Altiplano., Puno-Perú, para optar el título profesional. Obtenido de: <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/3373>
- Manrique, I., y Hermann, M. (2003). El potencial del yacón en la salud y la nutrición. XI Congreso Internacional de Cultivos Andinos., Cochabamba-Bolivia. Obtenido de <https://es.slideshare.net/shaktivivesanoviviefeliz/el-potencial-del-yacn-en-la-salud-y-la-nutricin>

- Manrique, I., Hermann, M., y Bernet, T. (Diciembre de 2004). Yacón - Ficha Técnica. Obtenido de <https://www.academia.edu/3841073/Fichatecnicayacon>
- Maro, Y. (2003). Extracción y Evaluación de Compuestos con Capacidad Inhibitoria del Proceso de Oscurecimiento Enzimático Obtenidos de la Semilla de Aguacate Criollo (*Persea nubigena* L. *Wms. var nubigena*). Universidad Nacional Autónoma Agraria "Antonio Narro", México. Obtenido de: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/309/57544s.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Mejía, R. (2015). Impregnación al vacío de fructooligosacáridos de yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp & Endl.) en manzana . Para optar el título profesional. Universidad Nacional Agraria la Molina, Lima, Perú. Obtenido de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/2177/Q02-M516-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Mendoza, R. (2017). Hidrólisis química y enzimática de un extracto de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) para la obtención de fructosa. Universidad Nacional Agraria la Molina, Lima-Perú. Obtenido de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/2663/Q04-M455-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Mendoza, R., y Herrera, A. (2012). Cinética de Inactivación de la Enzima Peroxidasa, Color y Textura en Papa Criolla (*Solanum tuberosum* Grupo *phureja*) sometida a tres Condiciones de Escaldado. Información Tecnológica, 23(4), 73-82. Obtenido de: [doi:http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642012000400009](http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642012000400009)
- Menezes, N., Dionisio, A., De souza, T., Da Silva, I., y Wilane, R. (2018). Optimización del tratamiento con ácido de yacón para inactivar las polifenol oxidasas manteniendo sus propiedades funcionales. Revista Brasileña de Tecnología de Alimentos, 21. Obtenido de: [doi:https://doi.org/10.1590/1981-6723.06316](https://doi.org/10.1590/1981-6723.06316)

- Montarroyos, V., Alvachian, S., Sarmiento, M., Montenegro, T., y Magalhaes, S. (2017). Optimización de yogures simbióticos con pulpa de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) y evaluación de la viabilidad de bacterias del ácido láctico. *Ciencia y tecnología de los alimentos*, 37(2), 166-175. Obtenido de <https://doi.org/10.1590/1678-457x.14016>
- Mostacero, G., y Ruiz, M. (2014). Efecto de la variación térmica del escaldado sobre la actividad de la peroxidasa en tubérculos de *Solanum tuberosum*. *SAGASTEGUIANA*, 2(2), 105-112. Obtenido de: <https://core.ac.uk/download/pdf/267889091.pdf>.
- Muñoz, D., López, D., Rodríguez, M., y Ramírez, F. (2005). Espectrofotometría. Instituto Estatal de Seguridad Pública, Aguascalientes, México. Obtenido de http://www.mexicoforense.org/biblioteca/balistica/fundamentos_espectrofotometria.pdf
- Muñoz, K., Bravo, K., Zapata, P., y Londoño, J. (2007). Caracterización preliminar del enzima polifenol oxidasa en frutas tropicales: implicaciones en su proceso de industrialización. *Scientia et Technica*, 1(33). Obtenido de: [doi:http://dx.doi.org/10.22517/23447214.6097](http://dx.doi.org/10.22517/23447214.6097)
- Ndiaye, C., Ying Xu, S., y Wang, Z. (2009). Efecto de escaldado con vapor sobre la polifenol oxidasa, la peroxidasa y el color de las rodajas de mango (*Mangifera indica* L.). *Food Chemistry*, 113(1), 92-95. Obtenido de: [doi:10.1016 / j.foodchem.2008.07.027](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.027)
- Neves, V., y Aparacida, M. (2007). Polyphenol Oxidase from Yacon Roots (*Smallanthus sonchifolius*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(6), 2424-2430. Obtenido de: [doi:DOI: 10.1021/jf063148w](https://doi.org/10.1021/jf063148w)
- Ni Eidhin, D., Murphy, E., y O'Beirne, D. (2006). Polyphenol Oxidase from Apple (*Malus domestica* Borkh. cv *Bramley's Seedling*): Purification Strategies and Characterization. *Journal of Food Science*, 71(1), 51-58. Obtenido de: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.tb12388.x>

- Noborikawa, M. (2016). Optimización de los procesos de extracción de fructooligosacáridos y clarificación del extracto acuoso de yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp & Endl.). Universidad Nacional Agraria la Molina, Lima-Perú. Obtenido de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/2242/Q02-K5-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Oficina Comercial de Perú en Miami. (2012). Mercado de yacón en Estados Unidos. Obtenido de <http://www.siicex.gob.pe/siicex/documentosportal/alertas/documento/doc/747142775rad08b8c.pdf>
- Palma, G. (2010). Caracterización de la polifenol oxidasa del mamey (*Pouteria sapota*) y control del oscurecimiento enzimático. Instituto Politecnico Nacional, México D.F. Obtenido de <https://tesis.ipn.mx/handle/123456789/10625>
- Pérez, L. (2003). Aplicación de métodos combinados para el control del desarrollo del pardeamiento enzimático en pera (variedad blanquilla) mínimamente procesada. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia. Obtenido de <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/2663/tesisUPV1784.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Polanco, M., y García, M. (2013). Caracterización morfológica y molecular de materiales de yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poep. & Endl) H. Robinsón colectados en la eco región eje cafetero de Colombia. 4(2), 97-116. Obtenido de <http://bdigital.unal.edu.co/3715/1/7206010.2011.pdf>
- Pompa, L. (2017). Efecto de la impregnación al vacío de penca sábila (*Áloe vera*) deshidratado en yacón (*Smallanthus sonchifolius*) y manzana (*Malus doméstica*) en la disminución del pardeamiento enzimático. Universidad Nacional de Cajamarca, Cajamarca, Perú. Para optar el título profesional. Obtenido de <http://190.116.36.86/bitstream/handle/UNC/1728/Tesis%20de%20Impregnaci%3%b3n%20al%20Vac%3%ado%20de%20%3%81loe%20vera%20en%20Yac%2>

- 3%b3n%20y%20Manzana%20-
%20Lysset%20Isabel%20Pompa%20Malca.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Quintana, M. (2020). Espectrofotometría. Obtenido de:
<https://www.upo.es/depa/webdex/quimfis/docencia/quimbiotec/FQpractica4.pdf>
- Quispe, A., Ramirez, J., y Castro, N. (2008). Deshidratación osmótica del yacón (*Smallanthus sonchifolius*) en altas concentraciones de fructo - oligosacáridos . ResearchGate, 1(2), 24-32. Obtenido de: doi:DOI: 10.32911/as.2008.v1.n2.357
- Rivera, Á., Restrepo, P., y Narváez, C. (2004). Polifenoloxidasas y peroxidasa de pulpa de uva caimaroná (*Pourouma cecropiifolia*). Revista Colombiana de Química, 23(1), 57-66. Obtenido de
<https://revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/article/view/766/1232>
- Rojas, E., y Oblitas, J. (2016). Influence of aloe vera incorporation on yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl) through vacuum impregnation on the sensory acceptance of the product. Agroindustrial Science, 1(1), 29-36. Obtenido de: doi:DOI: 10.17268/agroind.science.2016.01.03
- Salas, T. (2017). Capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de los frutos silvestres *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer (MACHAMACHA), *Monnina vargassi* Ferreyra (CONDORPAUSAN), *Vaccinium floribundum* Kunth (ALAYBILÍ) y *Rubus roseus* Poir (FRAMBUESA SILVESTRE). Universidad Nacional José María Arguedas, Perú. Obtenido de <http://repositorio.unajma.edu.pe/handle/123456789/295>
- Salazar, J. (2002). Caracterización del tubérculo de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) para la elaboración de yogur batido. Para optar el título profesional. Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María, Perú. Obtenido de <http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/202/FIA-124.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Saldaña, E., Siche, R., Huamán, R., Quevedo, R. (2014). Measurement parameter of color on yacon (*Smallanthus sonchifolius*) slices using a computer vision system. Food

- Science and Technology, 59, 2(2), 1220-1226. Obtenido de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643814003909>.
- Sellés, S. (2007). Pardeamiento enzimático del fruto de níspero (*Eriobotrya japonica* cv. *Algerie*): enzimología y fisiología de las polifenol oxidasa. Universidad de Alicante. Obtenido de https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/4085/1/tesis_doctoral_susana_selles.pdf
- Seminario, J., Valderrama, M., y Manrique, I. (2003). El Yacón: fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio. Centro Internacional de la Papa (CIP), Universidad Nacional de Cajamarca, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSUDE), Lima, Perú. Obtenido de http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/07/Yacon_Fundamentos_password.pdf
- Suárez, P., Andreu, A., Colman, S., Clausen, A., y Feingold, S. (2009). Pardeamiento enzimático: caracterización fenotípica, bioquímica y molecular en variedades de papa nativas de la Argentina. *Revista Latinoamericana de la Papa*, 15(1), 66-71. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5512034>
- Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. (2016). Determinación de acidez total titulable, acidez volátil, acidez fija y ph. Recuperado el 25 de Marzo de 2019, de <http://www.vet.unicen.edu.ar/ActividadesCurriculares/AnalisisInstrumental/images/Documentos/2016/TP1.pdf>
- Vasconcelos, C., De Olivera, E., Nunes, S., Furtado, L., Puschmann, R., y Paes, J. (2015). Evaluating Strategies to Control Enzymatic Browning of Minimally Processed Yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Food Bioprocess Technol*, 8, 1982-1994. Obtenido de: [doi:https://doi.org/10.1007/s11947-015-1558-0](https://doi.org/10.1007/s11947-015-1558-0)
- Vásquez, A. (2015). Estimación de las coordenadas CIEL*a*b* en concentrados de tomate utilizando imágenes digitales. Universidad Nacional de Colombia. Obtenido de http://www.bdigital.unal.edu.co/47272/1/Andrea_Melisa_Vasquez_Riascos.pdf

Yaguas, O. (2017). Metodología de superficie de respuesta para la optimización de una producción agrícola. *Ingeniería Industrial*, 16(1), 205-222. Obtenido de: doi:<http://orcid.org/0000-0002-8214-3931>

Zaldivar, I., y Cornejo, R. (2011). Laboratorio de alimentos I. procedimiento. Obtenido de http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/PROCEDIMIENTOS13-I_20566.pdf

Zárate, V. (2016). Optimización en la estabilidad de fructooligosacáridos en harina de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) por efecto del blanqueado en solución salina y ácida. Universidad Nacional del Centro del Perú, Huancayo-Perú. Obtenido de <http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/1594/ZAate%20Paucarpura%20-%20Tesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

CAPÍTULO VII. ANEXOS

Anexo 1. Cálculos de los resultados del porcentaje de inhibición de PFO por espectrofotometría para el tratamiento de escaldado.

ESCALDADO																	
Tratamiento			TIEMPO 0			TIEMPO 1			TIEMPO 2			TIEMPO 3			Promedio	Desv. Stand	% INH.
			lectura 1	lectura 2	lectura 3	lectura 1	lectura 2	lectura 3	lectura 1	lectura 2	lectura 3	lectura 1	lectura 2	lectura 3			
Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Extracto crudo	0.466	0.452	0.447	0.439	0.437	0.436	0.440	0.438	0.439	0.441	0.442	0.444	0.443	0.008	0
75	10	T1	0.139	0.143	0.143	0.156	0.161	0.167	0.180	0.186	0.193	0.205	0.214	0.222	0.141	0.002	68.12
85	5	T2	0.149	0.153	0.158	0.167	0.170	0.176	0.189	0.196	0.204	0.217	0.227	0.236	0.153	0.005	65.42
85	10	T3	0.159	0.160	0.163	0.170	0.176	0.182	0.194	0.223	0.201	0.216	0.229	0.231	0.160	0.002	63.84
75	10	T4	0.143	0.149	0.152	0.159	0.163	0.168	0.178	0.184	0.190	0.204	0.213	0.220	0.148	0.004	66.65
75	5	T5	0.103	0.107	0.111	0.122	0.126	0.134	0.147	0.154	0.161	0.175	0.182	0.190	0.107	0.004	75.85
75	10	T6	0.191	0.196	0.200	0.211	0.215	0.221	0.234	0.242	0.248	0.263	0.270	0.278	0.196	0.004	55.86
65	15	T7	0.155	0.159	0.160	0.168	0.173	0.180	0.191	0.197	0.206	0.219	0.225	0.233	0.158	0.003	64.33
75	15	T8	0.237	0.246	0.246	0.266	0.277	0.292	0.309	0.288	0.340	0.366	0.383	0.396	0.243	0.005	45.28
85	15	T9	0.178	0.180	0.183	0.188	0.193	0.197	0.206	0.211	0.217	0.227	0.233	0.239	0.180	0.003	59.39
75	10	T10	0.162	0.166	0.170	0.177	0.182	0.189	0.203	0.210	0.218	0.233	0.240	0.249	0.166	0.004	62.55
65	10	T11	0.132	0.134	0.137	0.142	0.146	0.150	0.161	0.166	0.171	0.184	0.191	0.198	0.134	0.002	69.68
65	5	T12	0.143	0.147	0.150	0.156	0.160	0.166	0.177	0.182	0.190	0.203	0.211	0.217	0.147	0.004	66.89

Anexo 2. Cálculos de los resultados del porcentaje de inhibición de PFO por espectrofotometría para el tratamiento de acidificado.

ACIDIFICACIÓN																	
Tratamiento			TIEMPO 0			TIEMPO 1			TIEMPO 2			TIEMPO 3			Promedio	Desv. Stand	% INH.
			lectura 1	lectura 2	lectura 3	lectura 1	lectura 2	lectura 3	lectura 1	lectura 2	lectura 3	lectura 1	lectura 2	lectura 3			
Conc. Ácido Cítrico (%)	Tiempo (min)	Extracto crudo	0.504	0.504	0.504	0.503	0.504	0.503	0.502	0.501	0.501	0.504	0.502	0.504	0.503	0.00	0
0,3	9	T1	0.150	0.152	0.154	0.159	0.162	0.164	0.173	0.178	0.182	0.195	0.202	0.210	0.173	0.02	65.55
0,5	6	T2	0.169	0.171	0.175	0.182	0.186	0.190	0.197	0.200	0.206	0.213	0.218	0.223	0.194	0.02	61.41
0,3	12	T3	0.237	0.241	0.243	0.250	0.255	0.260	0.272	0.277	0.283	0.297	0.306	0.313	0.269	0.03	46.46
0,5	9	T4	0.152	0.156	0.158	0.160	0.163	0.168	0.173	0.178	0.182	0.194	0.199	0.204	0.174	0.02	65.46
0,7	9	T5	0.146	0.153	0.151	0.156	0.160	0.163	0.171	0.176	0.181	0.196	0.203	0.210	0.172	0.02	65.80
0,5	12	T6	0.159	0.227	0.164	0.171	0.176	0.180	0.191	0.197	0.203	0.215	0.221	0.229	0.194	0.02	61.37
0,7	6	T7	0.139	0.142	0.145	0.153	0.158	0.163	0.173	0.178	0.186	0.200	0.216	0.223	0.173	0.03	65.62
0,5	9	T8	0.200	0.206	0.213	0.226	0.230	0.237	0.247	0.252	0.259	0.274	0.280	0.287	0.243	0.03	51.79
0,5	9	T9	0.144	0.147	0.150	0.156	0.161	0.166	0.175	0.182	0.188	0.202	0.210	0.218	0.175	0.03	65.25
0,7	12	T10	0.131	0.133	0.134	0.139	0.143	0.146	0.153	0.157	0.161	0.171	0.177	0.182	0.152	0.02	69.73
0,5	9	T11	0.175	0.179	0.180	0.188	0.192	0.198	0.211	0.218	0.227	0.244	0.254	0.265	0.211	0.03	58.08
0,3	6	T12	0.132	0.134	0.139	0.142	0.145	0.149	0.160	0.165	0.172	0.185	0.193	0.202	0.160	0.02	68.21

Anexo 3. Determinación de color mediante Sistema Visión Computacional (Método CIE-L*a*b*) para el tratamiento de escaldado.

Tratamiento	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Patrón			Tratado			ΔE
			L*	a*	b*	L*	a*	b*	
T1	75	10	64.65	-0.66	11.21	66.55	-1.42	10.22	2.28
T2	85	5	71.45	-2.04	11.02	73.39	-2.07	9.48	2.48
T3	85	10	72.24	-2.01	10.05	75.37	-0.69	1.96	8.77
T4	75	10	73.02	-0.78	1.09	78.25	-5.61	18.91	19.19
T5	75	5	64.06	-0.85	8.75	75.94	-0.75	2.43	13.46
T6	75	10	75.95	-0.75	2.43	64.06	-0.85	8.75	13.47
T7	65	15	73.40	-2.07	9.47	71.43	-2.04	11.04	2.51
T8	75	15	75.89	-8.35	24.33	78.25	-5.61	18.91	6.52
T9	85	15	73.47	-1.90	9.00	81.70	-8.53	30.36	23.83
T10	75	10	76.21	-0.21	0.57	85.09	-2.51	12.79	15.27
T11	65	10	69.43	-0.27	1.37	74.19	-0.58	1.19	4.77
T12	65	5	72.24	-2.01	10.05	72.23	-2.01	10.06	8.77

Anexo 4. Determinación de color mediante Sistema Visión Computacional (Método CIE-L*a*b*) para el tratamiento de acidificado.

Tratamiento	Con. Ácido cítrico (%)	Tiempo (min)	Patrón			Tratado			ΔE
			L*	a*	b*	L*	a*	b*	
T1	0.3	9	66.31	-0.06	8.21	71.89	-0.35	1.53	8.72
T2	0.5	6	64.40	-1.89	9.97	76.67	-1.88	10.30	12.28
T3	0.3	12	72.31	-0.06	8.05	73.01	-1.05	8.35	1.25
T4	0.5	9	69.40	-1.92	9.09	64.25	-2.07	11.76	5.80
T5	0.7	9	64.03	-1.92	10.08	67.18	-2.71	9.87	3.26
T6	0.5	12	67.43	-2.13	10.89	65.35	-0.93	11.28	2.43
T7	0.7	6	69.04	-1.94	9.14	68.51	-1.64	7.46	1.79
T8	0.5	9	63.67	-2.27	9.82	67.69	-2.91	10.17	4.09
T9	0.5	9	73.47	-1.90	9.01	67.92	-0.98	7.72	5.77
T10	0.7	12	72.53	-1.39	8.21	71.54	-1.73	8.04	1.07
T11	0.5	9	69.09	-1.54	9.41	67.23	-1.11	11.86	3.10
T12	0.3	6	68.08	-1.17	8.01	70.30	-1.25	6.97	2.46

Anexo 3. Figura del equipo de análisis de imagen.



Anexo 4. Panel fotográfico



Imagen 1. Planta de yacón (*S. Sonchifolius*).



Imagen 2. Determinación de acidez mediante titulación.



Imagen 3. Determinación de contenido de humedad por el método gravimétrico.



Imagen 4. Obtención de extracto de yacón.



Imagen 5. Molde para la obtención de las rodajas de yacón.



Imagen 6. Frascos para almacenar el extracto enzimático.

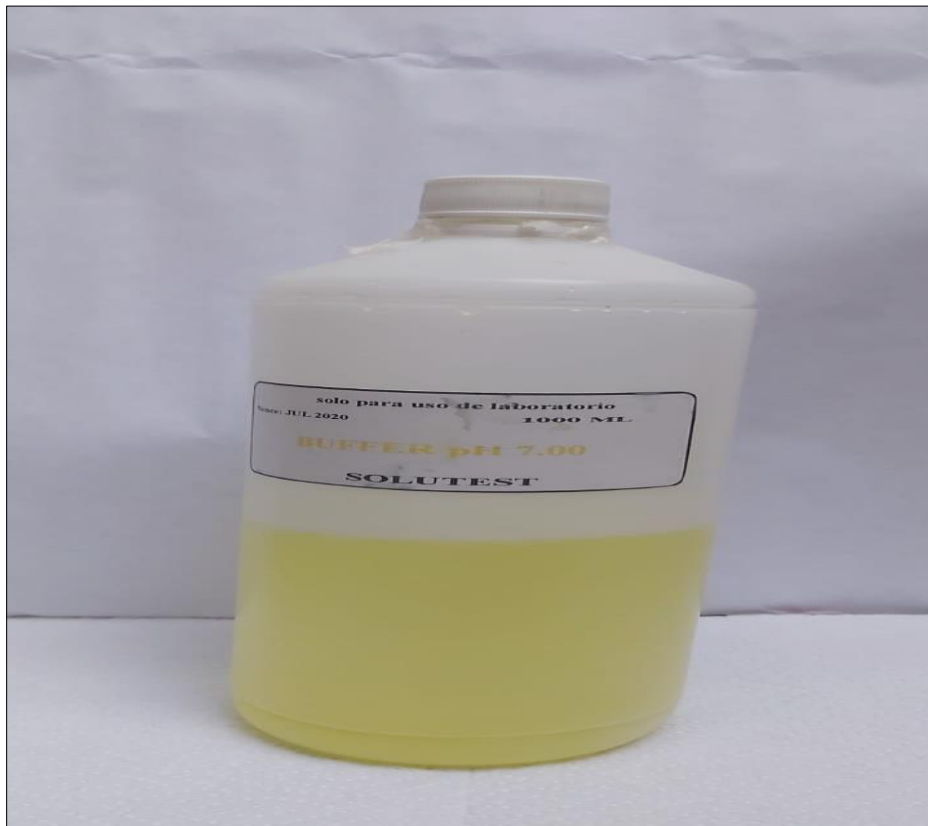


Imagen 7. Solución buffer de fosfato pH 7,00.



Imagen 8. Preparación de catecol 1%.



Imagen 9. Acondicionamiento de rodajas de yacón para tratamientos.



Imagen 10. Determinación de PFO mediante Espectrofotometría.