



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUIMICAS**

**CARACTERIZACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS  
BIOACTIVOS EN *IPOMOEA BATATAS* (L.) LAM VARIEDAD  
MORADA Y EN UN SNACK DE CAMOTE**

**T E S I S**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS**

P R E S E N T A:

**QA. ANDREA TORRES ALCALÁ**

**TUTOR**

DR. ARTURO NAVARRO OCAÑA

FACULTAD DE QUÍMICA

**MEXICO, D.F.**

**ABRIL 2016**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS**  
**QUÍMICAS**

**Caracterización y cuantificación de compuestos bioactivos en**  
***Ipomoea batatas* (L.) Lam variedad morada y en un snack de**  
**camote**

**T E S I S**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE**  
**MAESTRO EN CIENCIAS**

**P R E S E N T A**

**QA. ANDREA TORRES ALCALÁ**



**MEXICO, D.F.**

**ABRIL 2016**

Jurado Asignado:

Presidente: Dr. Manuel Jiménez Estrada

Secretario: Dra. Laura Patricia Álvarez Berber

1<sup>er</sup> Vocal: Dra. María Andrea Trejo Márquez

2<sup>do</sup> Vocal: Dr. José Fausto Rivero Cruz

3<sup>er</sup> Vocal: Dra. María de la Luz Zambrano Zaragoza

Lugar donde se realizó la tesis:

Departamento Alimentos y Biotecnología

Facultad de Química, U.N.A.M., Edificio E, Laboratorio 321.

Se presentó en la modalidad de cartel en la 11<sup>a</sup> Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales, 2015.

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México

A la Facultad de Química

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada para mis estudios de Maestría. Número de Becario: 308249

Al apoyo económico de CONACYT 2012-CB180128

Al apoyo económico del proyecto PAPIIT-IN220015

*A mi asesor el Dr. Arturo Navarro Ocaña, por darme la oportunidad de desarrollarme plenamente en la elaboración de este proyecto, por su confianza, entusiasmo, paciencia, transmitirme sus conocimientos, motivarme a ser una mejor química de alimentos e inculcarme que con paciencia y constancia todo se puede.*

A la colaboración de:

- M. en C. Basurto, Instituto de Biología, UNAM; por la proporción de las variedades de camotes morados de las diferentes zonas productoras de México
- Dra. Sobeida Sánchez Nieto, Dto. de Bioquímica, Facultad de Química, UNAM; por su asesoría para la medición de la actividad enzimática
- Dr. Daniel Arrieta, CNMN-IPN.; por la medición por UPLC-EM de los ácidos hidroxicinamoilquínicos.
- Técnico académico Margarita Guzmán Villanueva Técnico académico, USAI-UNAM; por la medición por HPLC-EM de las antocianinas.
- Dr. Ernesto Sánchez Mendoza, UAM-Xoch; por la medición por RMN de los ácidos hidroxicinamoilquínicos y de las antocianinas
- Dr. Héctor Luna Contla, UAM-Xoch, por su apoyo experimental en el HPLC-semi-preparativo.



- M. en C. María Fernanda Fernández Aulis, Dto. de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, UNAM; por su asesoría sobre las antocianinas.
- Dra. Patricia Severiano, Dto. de Alimentos y Biotecnología, UNAM por su apoyo experimental en el análisis sensorial e instrumental de los snacks elaborados.

A los Doctores: Manuel Jiménez, Laura Álvarez, Andrea Trejo, Fausto Rivero y María de la Luz Zambrano, por sus valiosas aportaciones para mejorar este trabajo.



## Contenido

1	RESUMEN .....	1
2	INTRODUCCIÓN .....	3
3	MARCO TEÓRICO .....	4
3.1	Origen del camote ( <i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam) .....	4
3.2	Producción de camote .....	7
3.3	Planta de camote ( <i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam).....	9
3.3.1	Raíz tuberosa .....	10
3.3.2	Tallo.....	12
3.3.3	Follaje.....	12
3.3.4	Flor .....	13
3.3.5	Fruto .....	14
3.4	Importancia nutrimental de <i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam.....	15
3.5	Actividad biológica de <i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam .....	17
3.6	Principales compuestos bioactivos en <i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam. variedad morada .....	23
3.7	Métodos de extracción y caracterización de compuestos bioactivos de <i>Ipomoea batatas</i> L. Lam variedad morada .....	26
3.8	Enzimas en <i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam .....	29
3.9	Alimentos preparados a base de camote.....	32
4	HIPÓTESIS .....	36
5	OBJETIVOS .....	36
6	PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL .....	37
6.1	Etapa 1. Selección de la variedad de camote morado por región productora de México y optimización de la extracción de compuestos bioactivos.....	40
6.1.1	Tratamientos de la muestra.....	41



6.1.2	Cuantificación de antocianinas totales (método de pH-diferencial) .....	41
6.1.3	Cuantificación de fenoles totales.....	42
6.1.4	Medición de la actividad de la enzima PFO .....	43
6.1.5	Medición de la actividad de la enzima POD.....	44
6.2	Etapa 2. Caracterización y cuantificación de compuestos bioactivos en <i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam variedad morada .....	44
6.2.1	Identificación de ácidos hidroxicinamoilquínicos e hidroxicinámicos .....	46
6.2.2	Separación y caracterización de los ácidos hidroxicinamoilquínicos .....	47
6.2.3	Cuantificación de ácidos hidroxicinamoilquínicos .....	47
6.2.4	Identificación de antocianinas .....	47
6.2.5	Separación y caracterización de las antocianinas .....	48
6.2.6	Cuantificación de antocianinas.....	50
6.3	Etapa 3. Elaboración de un <i>snack</i> de camote.....	51
6.3.1	Análisis químico .....	51
6.3.2	Análisis instrumental .....	52
6.3.3	Análisis sensorial.....	53
7	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	55
7.1	Etapa 1. Selección de la variedad de <i>Ipomoea batatas</i> L. Lam por región productora y optimización de la extracción de compuestos bioactivos .....	55
7.1.1	Antocianinas totales por tratamiento para todas las variedades.....	55
7.1.2	Fenoles totales (FT) por tratamiento en todas las variedades .....	57
7.1.3	Cuantificación de la PFO por tratamiento en la raíz tuberosa.....	64
7.1.4	Cuantificación de la POD por tratamiento en la raíz tuberosa .....	65
7.2	Etapa 2. Caracterización y Cuantificación de compuestos bioactivos en la planta <i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam.....	67
7.2.1	Identificación de ácidos hidroxicinamoilquínicos e hidroxicinámicos .....	67





7.2.2	Caracterización de ácidos hidroxicinamoilquínicos e hidroxicinámicos ..	69
7.2.3	Identificación de antocianinas .....	73
7.2.4	Cuantificación de antocianinas, ácidos hidroxicinamoilquínicos e hidroxicinámicos en los órganos de <i>I. batatas</i> .....	83
7.3	Etapa 3. Elaboración de un snack de camote morado .....	88
7.3.1	Análisis Químico.....	88
7.3.2	Análisis Instrumental .....	93
7.3.3	Análisis Sensorial .....	98
8	CONCLUSIONES .....	106
9	REFERENCIAS.....	108
Anexo I.	<sup>1</sup> H-RMN de los ácidos 3,5 y 3,4 DCQ.....	119
Anexo II.	<sup>1</sup> H-RMN de la peonidina-3-(cafeoil- <i>p</i> -hidroxibenzoil sofrósido)-5- glucósido .....	123
	<sup>13</sup> C-RMN de la peonidina-3-(cafeoil- <i>p</i> -hidroxibenzoil sofrósido)-5- glucósido .....	125
Anexo III.	<sup>1</sup> H-RMN de las antocianinas: peonidina 3- (feruloil- <i>p</i> -cumaril sofrósido)-5- glucósido y cianidina-3-(6'6"-dicafeoil sofrósido)-5-glucósido .....	127
Anexo IV.	Análisis estadístico de colorimetría .....	128



## Índice de Figuras

Figura 2.1 Flor de camote.....	3
Figura 3.1 Pintura de una planta de <i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam. Por Esteban Torres Z.5	
Figura 3.2 Mapa de la distribución mundial del cultivo de camote [6]. .....	6
Figura 3.3 Producción de camote en México [6].....	8
Figura 3.4 Planta de camote [18].....	9
Figura 3.5 Clases de camote, de acuerdo a su tamaño.[16]. .....	10
Figura 3.6 Diferentes variedades de color de la raíz tuberosa. ....	11
Figura 3.7 Tallos de la planta <i>I. batatas</i> L. Lam.....	12
Figura 3.8 Follaje de la planta <i>I. batatas</i> L. Lam.....	13
Figura 3.9 Flor de la planta <i>I. batatas</i> L. Lam. ....	14
Figura 3.10 Fruto de la planta <i>I. batatas</i> L. Lam [18].....	14
Figura 3.11 Estructura de las antocianinas presente en <i>I. batatas</i> variedad morada. .	18
Figura 3.12 Estructura de los ácidos fenólicos presentes en <i>I.batatas</i> A) ácido clorogénico, B) ácido cafeico, C) ácido 3,4-DCQ, D) ácido 3,5-DCQ, E) ácido 4,5-DCQ y F) ácido 3,4,5-TCQ [9]. ....	20
Figura 3.13 Estructura de las cumarinas presentes en <i>I.batatas</i> . A) escopuletína, B) esculetína y C) umbeliferona. ....	21
Figura 3.14 Estructura de los triterpenos presentes en <i>I.batatas</i> . A) acetato de $\beta$ -amirina, B) acetato de boemerilo y C) friedelina.....	21
Figura 3.15 Estructura de los furanoterpenoides presentes en <i>I.batatas</i> . A) 1- Ipomeanol, B) 4- Ipomeanol, C) 1,4- Ipomoneadiol, D) Ipomoeanina.....	22
Figura 3.16 Alcaloide presente en <i>I.batatas</i> . Calistegina.....	22
Figura 3.17 Glicolípido simonina en <i>I. batatas</i> .....	23
Figura 3.18 Cromatogramas de HPLC de los derivados de ácido cafeoilquínico en <i>Ipomoea b.</i> (A) Hoja expandida (B) Flor. Pico 1: Ácido neoclorogénico, pico 2: Ácido cafeico, pico 3: Ácido clorogénico, pico 4: ácido 4-O-cafeoilquíco, pico 5: Ácido 4,5-di-o-cafeoilquínico, pico 6:ácido 4,3-di-o- cafeoilquínico, pico 7: 5,3- di-o-cafeoilquínico, pico 8: 3,4,5 tri-cafeoilquínico [3] . ....	24



Figura 3.19 Cromatograma de HPLC de las antocianinas del camote morado del cultivar Jihei No. 1 .....	25
Figura 3.20 Oxidación del camote morado. A) Camote fresco. B) camote oxidado. ....	30
Figura 3.21 Representación esquemática del pardeamiento enzimático [53]. ....	31
Figura 3.22 Imagen del Soju [55].....	33
Figura 3.23 Imagen del camote morado y amarillo cristalizado [57].....	34
Figura 3.24 Imagen de los productos desarrollados con colorante de camote morado. A) Caramelo, B) Manteca de cacao, C) Bombón D) bebida pasteurizada. ....	35
Figura 6.1 Esquema de la metodología experimental general. ....	39
Figura 6.2 Metodología para la caracterización de compuestos bioactivos de <i>I. batatas</i> variedad morada. ....	45
Figura 6.3 Porcentaje de género de los consumidores evaluados. ....	54
Figura 7.1 Cuantificación de AT (mg/g mtra B.S.) en cada una de las variedades de camote morada por región productora de México; y por tratamientos: liofilizado, térmico y en fresco. ....	56
Figura 7.2 Cuantificación de FT (mg/g mtra B.S.) en cada una de las variedades de camote morado por región productora de México; y tratamientos liofilizado, térmico y en fresco. ....	58
Figura 7.3 Clasificación por talla del camote. De izquierda a derecha: 1ra, 2da y 3ra calidad.....	59
Figura 7.4 Cuantificación de A.T. (mg/g mtra B.S.) en cada una de las tres calidades de camote morado por tratamiento liofilizado, térmico y en fresco.....	60
Figura 7.5 Cuantificación de fenoles totales (mg/g mtra B.S.) en cada una de las tres calidades de camote morado por tratamiento liofilizado, térmico y en fresco.....	61
Figura 7.6 Hojas verdes, tallos y hojas moradas de la planta de <i>I. batatas</i> variedad morada.....	63
Figura 7.7 Flor de la planta de <i>I. batatas</i> variedad morada. ....	63
Figura 7.8 Cromatograma de los ácidos fenólicos en la hoja de camote. ....	67
Figura 7.9 Cromatograma de los ácidos fenólicos en la hoja de camote de la variedad Ximeng No. 1. Pico 1: 5-CQ, pico 2: 3-CQ, pico 3: 4 CQ, pico4: AC, pico 5: 4-5 DCQ, pico 6: 3-5 DCQ, pico 7: 3-4 DCQ, pico 8: 3-4-5 TCQ. [45].....	68



Figura 7.10 Cromatografía en capa fina de un extracto enriquecido de fenoles. Mostrando en el recuadro la zona aislada. ....	69
Figura 7.11 Cromatograma de la región aislada por CCF. ....	70
Figura 7.12 Espectro obtenido de la región aislada por CCF. ....	70
Figura 7.13 Estructura de la mezcla de compuestos aislados. A) 3,4-DCQ y B) 3,5-DCQ. ....	71
Figura 7.14 Cromatograma de hojas moradas. Identificada por tiempo de retención 10 antocianinas y 5 estructuras confirmadas por espectrometría de masa. ....	75
Figura 7.15 Cromatograma de la raíz moradas. Identificada por tiempo de retención 10 antocianinas y 7 estructuras confirmadas por espectrometría de masa. También se muestras 6 regiones separadas por HPLC-semi preparativo. ....	75
Figura 7.16 Cromatografía en capa fina del extracto enriquecido de antocianinas de raíz de camote. Marcado en el recuadro la sección aislada (antocianina 7). ....	76
Figura 7.17 Cromatograma de la antocianina aislada (7) por los diferentes métodos de separación probados en esta investigación. ....	77
Figura 7.18 Estructura de las antocianinas presentes en la planta de camote morado. ....	78
Figura 7.19 Estructuras de los ácidos hidroxibenzoicos con los que están aciladas las antocianinas encontradas en esta investigación en el camote morado mexicano. ....	79
Figura 7.20 Análisis de GPA para apariencia y textura en las dos formulaciones de <i>snack</i> de camote. ....	99
Figura 7.21 Análisis de GPA para sabor y olor en las dos formulaciones de <i>snack</i> de camote. ....	100
Figura 7.22 Gráfica de nivel de agrado para el Snack de pulpa y harina. ....	101
Figura 7.23 Porcentaje de aceptación de los consumidores hacia los panqués de camote. ....	101
Figura 7.24 Atributos que eligieron los consumidores para preferir los <i>snacks</i> . ....	102
Figura 7.25 Pruebas “Justo como lo esperaba” para DULCE el <i>snack</i> de pulpa. ....	103
Figura 7.26 Pruebas “Justo como lo esperaba” para COLOR el <i>snack</i> de pulpa. ....	103
Figura 7.27 Pruebas “Justo como lo esperaba” para COLOR en el <i>snack</i> de harina. ....	104
Figura 7.28 Pruebas “Justo como lo esperaba” para DULCE en el <i>snack</i> de harina. ....	104



## Índice de Tablas

Tabla 3.1 Países y regiones productoras de camote (FAO 1999; SIAP 2010) [6].....	7
Tabla 3.2 Valor nutricional por cada 100g de camote [9]. .....	15
Tabla 3.3 Espectroscopia de masas. Antocianinas presentes en camote morado cultivar: Jihei No. 1.....	25
Tabla 6.1 Claves de las variedades estudiadas por región producto de camote morado en México.....	40
Tabla 6.2 Gradiente de elución en HPLC para la identificación de ácidos fenólicos. ...	46
Tabla 6.3 Gradiente de elución en HPLC para la identificación de antocianinas. ....	48
Tabla 6.4 Gradiente de elución en HPLC- semi-preparativo para la separación de antocianinas.....	49
Tabla 6.5 Fracciones colectadas en HPLC- semi-preparativo para la separación de antocianinas.....	50
Tabla 7.1 Comparación del contenido de antocianinas de camote morado en diferentes variedades. [30] .....	57
Tabla 7.2 Cuantificación de antocianinas y fenoles totales (mg/g mtra. B.S.) de los diferentes órganos de la planta de <i>I. batatas</i> .....	62
Tabla 7.3 Cuantificación de la Polifenoloxidasas y compuestos bioactivos presente en la raíz en los diferentes tratamientos.....	65
Tabla 7.4 Cuantificación de la Peroxidasas presente en la raíz en los diferentes tratamientos. ....	66
Tabla 7.5 Ácidos fenólicos identificados por tiempos de retención en las hojas de camote. ....	68
Tabla 7.6 Desplazamientos de <sup>1</sup> H-RMN y <sup>13</sup> C-RMN de los ácidos 3-4 y 3-5 DCQ.....	72
Tabla 7.7 Identificación de por HPLC-EM de las antocianinas presentes en la raíz y hoja variedad morada. ....	74
Tabla 7.8 Desplazamientos de <sup>1</sup> H-RMN y <sup>13</sup> C-RMN de la Peonidina 3-(cafeoil-p-hidroxi-benzoil soforosido)-5- glucosido.....	80
Tabla 7.9 Desplazamientos de <sup>1</sup> H-RMN de la Cianidina 3- (dicafeoil soforósido)-5- glucósido y de la Peonidina 3-(feruloil-p-cumaroil soforosido)-5- glucosido.....	82



Tabla 7.10 Ecuación de la recta y coeficiente de correlación lineal de cada uno de los estándares purificados en esta investigación * y los obtenidos comercialmente **.....	83
Tabla 7.11 Antocianinas totales (mg/g B.S.) y antocianinas purificadas (mg/g B.S.). ***Antocianinas cuantificadas al 50%.....	85
Tabla 7.12 Fenoles totales (mg/g B.S.) y ácidos fenólicos cuantificados por órgano de la planta.....	87
Tabla 7.13 Cuantificación de antocianinas totales y de las antocianinas purificadas en esta investigación en cada una de la formulación de Snack de camote antes y después de la cocción.....	90
Tabla 7.14 Cuantificación de fenoles totales y de cada uno de los ácidos fenólicos en cada una de la formulación de Snack de camote antes y después de la cocción.....	92
Tabla 7.15 Valores de los parámetros medidos de colorimetría para ambas formulaciones de snack.....	96
Tabla 7.16 Valores de textura para ambas formulaciones de snack.....	97



## Listado de abreviaturas

<i>I. batatas</i>	<i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam
PFO	Polifenoloxidasa
POD	Peroxidasa
CCF	Cromatografía en capa fina
HPLC	High pressure liquid chromatography (cromatografía líquida de alta presión)
HPLC- semi-prep	High pressure liquid chromatography semi-preparativo
HPLC-EM	High pressure liquid chromatography acoplado a espectrometría de masas.
RMN	Resonancia magnética nuclear
TMS	Tetrametilsilano
AT	Antocianinas totales
FT	Fenoles totales
B.S.	Base seca
B.H.	Base húmeda
BSA	Albúmina sérica bovina
TPA	Análisis de perfil de textura
GPA	Análisis procrusteano generalizado
PCA	Análisis de componentes principales
DCQ	Dicafeoil quínico
AC	ácido cafeico
ACL	ácido clorogénico
BAW	Butanol-ácido acético-agua
Cian	Cianidina
Peon	Peonidina
Fer	Feruloil
Caf	Cafeoil



Cum	Cumaroil
Hidroxi	Hidroxibenzoil
PHB	<i>p</i> -hidroxibezoil
S. P.	Snack de pulpa
S.H.	Snack de harina
LIO	Liofilizado
TT	Tratamiento térmico
Fres	Fresco
CIP	Centro Internacional de la Papa
HSQC	<b>Heteronuclear Single Quantum Coherence</b>
HMBC	<b>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</b>
COSY	<b>Correlation Spectroscopy</b>





# 1 RESUMEN

El camote (*I. batatas*) se utiliza como alimento básico (incluidas sus raíces carnosas, hojas tiernas, y pecíolos), La batata o camote es una de las plantas rastreras cuyas raíces crecen formando los camotes, existen tres variedades: blanco, amarillo y morado.

Los de pulpa morada contienen grandes cantidades de compuestos bioactivos tales como las antocianinas, con excelentes propiedades antioxidantes y anti-inflamatorias además de su uso como colorante natural; se hallan distribuidas tanto en la cáscara como en toda la pulpa y se encuentran principalmente como mono o di-aciladas con ácidos cafeico, *p*-hidroxibenzoico, *p*-cumárico, ferúlico; de la peonidina o cianidina [1], expresando una alta estabilidad de pH y temperatura [2].

También, se sabe que las variedades chinas y japonesas tienen una alta concentración de ácido clorogénico y ácidos cafeoilquínicos, así como de di-cafeoilquínicos. Estos presentan una alta actividad antioxidante, y se han reportado poseen propiedades *in vitro* [3], tales como la inhibición de la absorción de *D*-glucosa dependiente de Na<sup>+</sup> en las vellosidades intestinas en ratas [4].

El objetivo de esta investigación fue la caracterización y cuantificación de antocianinas, ácidos hidroxicinamoilquínicos e hidroxicinámicos en la planta de camote morado (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) y en un snack elaborado con harina y pulpa a base de la raíz tuberosa que presentó la mayor concentración de compuestos bioactivos.

Para alcanzar este objetivo lo que se estudiaron fenoles totales (F.T.) y antocianinas totales (A.T.) de 10 variedades de las principales regiones productoras en México de camote morado; así como dos tratamientos (térmico y liofilizado) para inhibir a las enzimas involucradas en la degradación de estos compuestos. Siendo el secado por liofilización y la variedad de Atlixco, Puebla tercera calidad (C93) (4.8 mg AT/g muestra B.S. y 53.07 mg FT/g mtra B.S.), las que mostraron la mayor cantidad de



compuestos bioactivos. Aunque el secado no fue el mejor tratamiento para inactivar a la PFO y POD, si es el más eficiente para la conservación de estos compuestos; detiene la actividad enzimática dando tiempo a la manipulación de la muestra.

Asimismo, se purificaron 3 antocianinas aciladas: peonidina-3-(cafeoil-*p*-hidroxibenzoil sofrósido)-5- glucósido, peonidina-3- (feruloil-*p*-cumaril sofrósido)-5-glucósido y cianidina-3-(6´6"-dicafeoil sofrósido)-5-glucósido y fueron cuantificadas en todos los órganos de la planta (flor, hojas, tallo y raíz), la antocianina mayoritaria, con más del 50% del total de las antocianinas fue peonidina-3-(cafeoil-*p*-hidroxibenzoil sofrósido)-5- glucósido. La raíz fue el órgano con la mayor concentración de antocianinas.

Del mismo modo, se cuantificaron e identificaron los ácidos hidroxicinamoilquínico e hidroxicinámicos. El órgano que presentó la mayor cantidad de fenoles totales fueron las hojas verdes (78.66 mg/g mtra. B.S.) y moradas (77.63 mg/g mtra. B.S.), aunque las primeras tuvieron mayoritariamente el ácido clorogénico y la segunda el resto de los ácidos-DCQ. De los ácidos-DCQ el que se encontró en mayor proporción en todos los órganos fue 3,5-DCQ.

Además, se elaboraron dos formulaciones de un *snack* a base de camote morado (harina y pulpa). En ambas formulaciones estuvieron presentes en concentraciones importantes todas las antocianinas (1.09 mg/g SH y 0.33 mg/g SP) y los ácidos hidroxicinamoilquínicos (3.57 mg/g SH y 2.33 mg/g SP) previamente identificados en la raíz, y no hubo una disminución significativa de estos, después del proceso de cocción. El *snack* de harina reportó valores más elevados de FT y AT que el de pulpa. De esta forma, la colorimetría fue proporcional: a una mayor concentración de A.T., existen tonalidades más rojas, oscuras, mayor color y luminosidad; por lo que se puede decir, que el color morado en el *snack* lo imparten completamente las antocianinas.



## 2 INTRODUCCIÓN

Existen dos teorías sobre el origen del camote; en una se le considera nativo de México y Centroamérica; y en la otra del continente asiático. En la actualidad, la primera tiene más aceptación tomando en cuenta que existe mayor cantidad de especies, con mayor desarrollo vegetativo [5].

El cultivo de camote es muy importante a nivel mundial, por las aplicaciones que tiene como componente de procesos industriales. Tiene además amplio potencial de mercado, dado su bajo consumo en México, a pesar de ser una de las plantas comestibles más importantes en todo el mundo [6]. Se habla de la importancia del camote en la alimentación humana como un sustituto de harinas que se consumen en fresco, como papa y yuca, al igual que de productos de alto valor energético, como la harina de trigo y el arroz [7].

Las raíces contienen alta cantidad de almidón, abundantes vitaminas, fibras (celulosa y pectinas) y minerales con valores próximos a los de otras hortalizas más comúnmente consumidas como la papa, calabaza y remolacha [8].



**Figura 2.1** Flor de camote.

Además, esta raíz tuberosa en su variedad morada es una fuente natural de compuestos bioactivos tales como alcaloides, fenoles, cumarinas, antocianinas, glicolípidos y triterpenos [9]. Dichos compuestos se encuentran distribuidos en toda la planta (flores (Figura 2.1), hojas, tallos y raíces).

## 3 MARCO TEÓRICO

### 3.1 Origen del camote (*Ipomoea batatas* (L.) Lam)

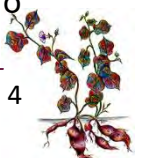
Según la tradición indígena, fueron cinco especies que se crearon para la alimentación humana, la primer *ipomoea* según los mitos mesoamericanos, fue creada junto con el maíz, gracias a Centéotl que se hundió en la tierra para crear vegetales que alimentaran al pueblo; y es así como surgió el algodón (*Gossypium hirsutum*), el huauzontle (*Chenopodium nuttalliae*), la chía (*Salvia hispanica*), el camote (*Ipomoea batatas*) y el maíz (*Zea mays*) [10].

Cuando Colón arribó en su primer viaje a las costas de las islas Antillanas, supuso que se encontraba en las costas asiáticas, el 28 de octubre de 1492 llegó a la costa norte de Cuba a la que denominó Juana, remontó lo que creyó era un río que denominó Río de Mares y no lejos de ahí escribió:

“nunca he visto nada tan hermoso”.

Probablemente esa fue la primera vez que un europeo entró en contacto con plantas como el cocotero, las *ipomeas* y las diferentes especies que se pueden ver en las costas de Cuba.

En el segundo viaje a las Américas, cuando Colón llega al fuerte de la Navidad, en la española (guarnición española que había dejado en su viaje anterior en lo que actualmente es la República Dominicana), encontró que el enclave había sido destruido y reducido a cenizas por la población indígena. Poco más de un mes después, tras una difícil travesía, el Almirante y su tripulación llegan a Monte Cristi, desembarcando a 75 Km de este punto, donde funda la fortaleza de la Isabela en honor a la Reina Isabel, donde él creía que abundaba el oro. En ese lugar, los españoles se alimentaron de los boniatos, batatas o como en México se conoce camotes (*Ipomoea batatas*). Para ese entonces, los indígenas oriundos de la isla habían creado una eficaz agricultura, en la que formaban montículos de un metro



de altura por tres metros de circunferencia, sembrando yucas, de las cuales obtenían harina para la panificación y batatas que usaban en forma verdura para su alimentación, además del consumo de piñas, cacahuates, calabazas, chiles, tabaco y frijoles. De igual forma en el continente americano, en la Nueva España, también era costumbre incluir en la dieta a las batatas, conocidas como camotli, así Fray Bernardino de Sahagún las describe [10]:

*“Hay otras raíces buenas de comer, que se hacen como nabos debajo de la tierra, a los cuales llaman camotli, estas son batatas en esta tierra, cómelas cocidas, crudas y asadas”.*

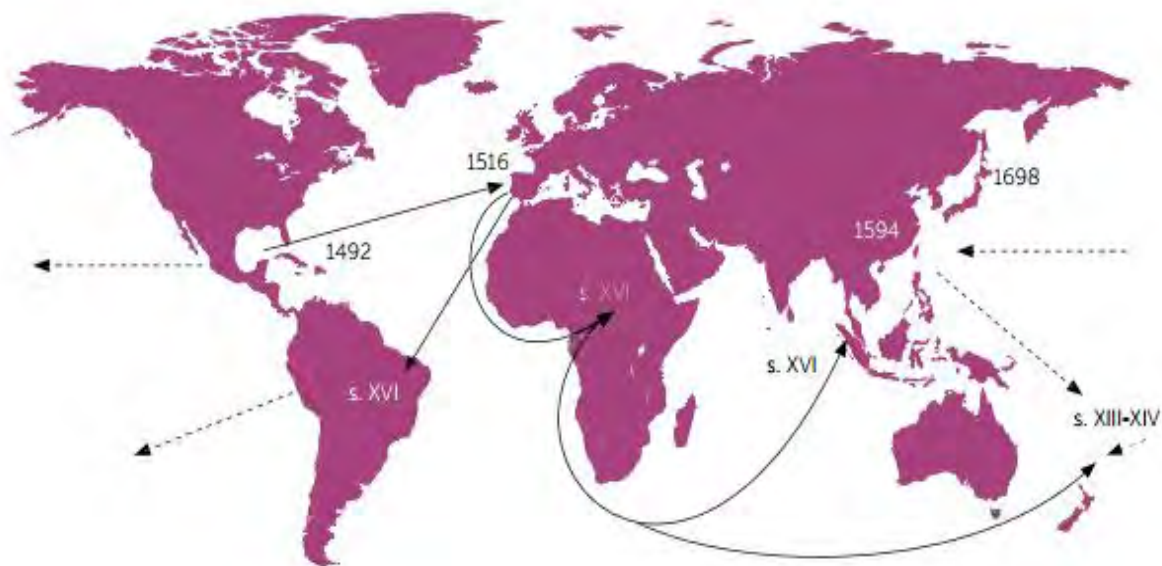
*Ipomoea batatas* L. Lam (Figura 3.1) tiene como centro de origen el continente americano; presenta su mayor diversidad genética en Colombia, Ecuador y norte del Perú, reconocidos como centros primarios. Otros centros secundarios de diversidad genética están ubicados en México, Guatemala y sur del Perú. También se ha observado considerable variabilidad en algunas islas del Pacífico y Asia, tales como Filipinas, Papúa Nueva Guinea, Fiji, Sri Lanka, Australia, entre otras [7].



**Figura 3.1** Pintura de una planta de *Ipomoea batatas* (L.) Lam. Por Esteban Torres Z.



Su distribución mundial ocurrió muy rápido luego de la llegada de los españoles a América y actualmente constituye un cultivo muy importante en Asia y África. Se sabe que para 1516 se cultivaba en la Península Ibérica; en el mismo siglo XVI es llevada por españoles y portugueses al continente africano y de ahí al sureste asiático; para 1594 se encuentra en China y en 1698 en Japón. Al lejano oriente pudo llegar también por medio de la Nao de Filipinas. Su presencia en Oceanía es muy temprana, quizá a partir del siglo XIII o XIV (Figura 3.2). Actualmente se cultiva en todo el mundo. Es un cultivo muy importante en países tropicales de Asia, África y América Latina, y es visto como una de las especies que pueden ayudar a solucionar problemas de seguridad alimentaria. El camote es básicamente un cultivo amiláceo, subsidiario de la papa en la dieta caucasoide, pero que en El Caribe y en varios países de África forma parte importante de la dieta, aportando más de 20% de la ingesta calórica o de carbohidratos, mientras que en Asia, Australia y Oceanía alcanza el segundo lugar como cultivo importante, luego del arroz (*Oryza sativa*) o del taro (*Colocasia esculenta*) [6], [11].



**Figura 3.2** Mapa de la distribución mundial del cultivo de camote [6].



### 3.2 Producción de camote

El camote es el séptimo cultivo alimenticio en el mundo [12]. Se siembra en más de 100 países tropicales en vías de desarrollo y en 50 de ellos se ubica entre los cinco más importantes. Es un cultivo de pequeños productores, poco demandante, que se siembra en suelos marginales [13].

La producción mundial de camote es de unos 150 millones de toneladas cultivadas en 15 millones de hectáreas, con China como el principal productor, registrando cosechas de hasta 13 millones de toneladas al año en el sureste asiático y de 6 millones de toneladas en África y Oceanía. En Japón el camote es el segundo cultivo en importancia y es fuente de almidón para uso industrial. En México se siembran cerca de 3000 hectáreas y se cosechan alrededor de 50 000 toneladas por año (Tabla 3.1). A pesar de que el camote es una de las plantas comestibles más importantes en los trópicos y subtrópicos, y de ser la raíz más consumida como fuente de calorías, por su contenido de vitaminas y minerales, su consumo en México no es abundante y generalmente se consume más en dulce [6].

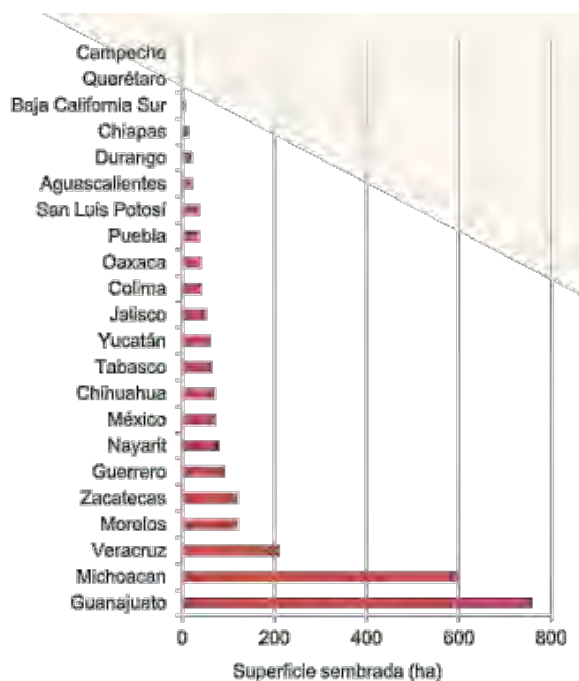
**Tabla 3.1** Países y regiones productoras de camote (FAO 1999; SIAP 2010) [6].

País	Producción (millones t/año)
China	120
Sureste asiático	13.0
África	6.0
Oceanía	6.0
América	2.9
EUA	0.7
Japón	1.5
Nueva Zelanda	0.6
México	0.05





En México el camote se produce principalmente en la zona centro sur de la costa del Golfo, en la Península de Yucatán, Chiapas y Oaxaca, la región del Bajío y en algunos puntos de la vertiente del Pacífico en los estados de Colima, Jalisco, Michoacán, Nayarit y Sinaloa; también se cultiva en algunos municipios de Chihuahua y Tamaulipas. Se tienen dos ciclos de cultivo; el de temporal, que ocurre en los meses de junio a octubre y noviembre; y el de invierno, en los meses de diciembre a mayo y hasta junio. En el primero la cosecha abastece la principal temporada de demanda que ocurre en noviembre, mientras que en el segundo se produce la “semilla” que se utilizará para la plantación de verano o de temporal. De acuerdo con datos de SAGARPA (2010), el camote se cultiva en 22 estados (Figura 3.3) y en 2010 se sembraron 2121.26 ha, con un rendimiento promedio de 17.5 ton/ha, registrando a la región del Bajío (Guanajuato y Michoacán) como los principales productores, con su producción destinada al mercado nacional. Con base en las colecciones de herbario se reporta además la presencia de camote en los estados de Hidalgo, Sinaloa, Tamaulipas y Quintana Roo, sumando así la presencia de este cultivo en 26 de los 32 estados de México.



**Figura 3.3** Producción de camote en México [6].





En México existe una gran diversidad de camotes, con numerosas variantes criollas. Es una especie de importancia alimentaria y cultural que se encuentra pobremente representada tanto en los herbarios como en los bancos de germoplasma nacionales, tomando en cuenta que en México se cultiva en más de 100 municipios de 26 estados [6].

### 3.3 Planta de camote (*Ipomoea batatas* (L.) Lam)

Nombre común o vulgar: **Batata, Batatas, Boniato, Boniatos, Camote, Moniato, Papa dulce, Batata azucarada, Patata dulce, Batata de Málaga, Patata de Málaga.** [14] (última consulta 04-06-16).

*Descripción botánica:*

Taxonomía

Familia: Convolvulaceae

Género: *Ipomoea*

Sección: *Eriospermum*

Especie: *Ipomoea batatas* L. (Lam)

El camote es una especie hexaploide con 90 cromosomas y con presencia de autoincompatibilidad, por lo que la única vía para producir frutos es la polinización cruzada.



**Figura 3.4** Planta de camote [18].

El camote es una planta herbácea (Figura 3.4), voluble [15], perenne que se propaga vegetativamente y se cultiva como planta anual. Debido a que no tiene una madurez definida, puede cosecharse siguiendo períodos de cultivo de duración ampliamente variable.

La planta es por lo general de hábito rastrero con tallos que se extienden horizontalmente sobre el suelo desarrollando un follaje relativamente bajo. Se

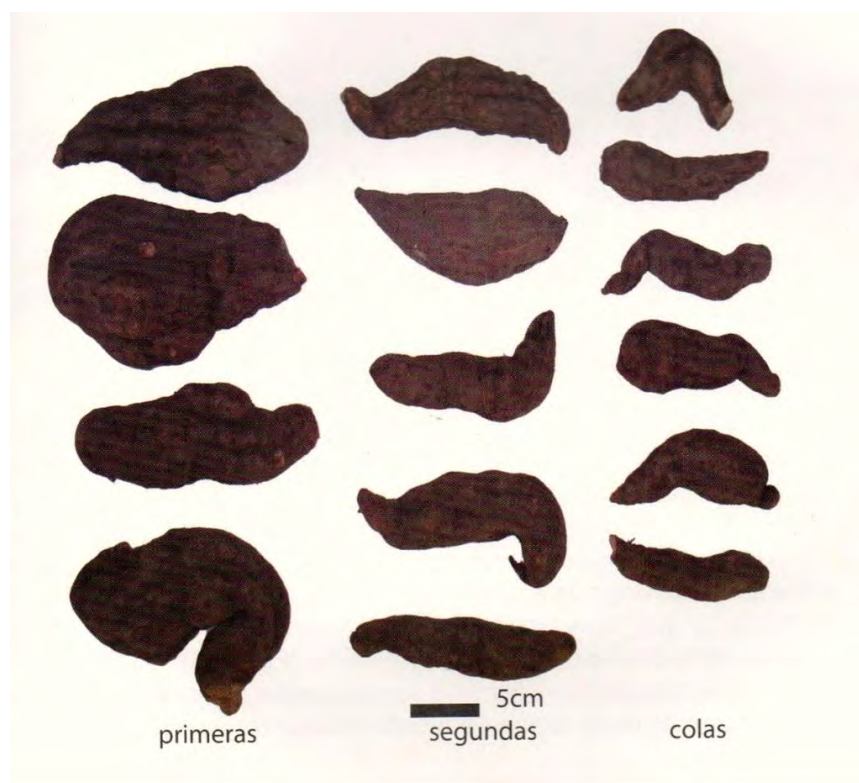


puede diferenciar cuatro tipos generales de plantas: erecta, semierecta, extendida y muy extendida.

### 3.3.1 Raíz tuberosa

Las plantas originadas de semilla presentan una raíz típica con un eje central y ratificaciones laterales. En las plantas producidas por guías o plantines, se desarrolla un vigoroso sistema radicular que puede llegar hasta 1,60 metros de profundidad. Se originan normalmente en los nudos del tallo que se encuentra bajo tierra y pueden desarrollarse hasta adquirir una longitud de unos 30 centímetros y un diámetro de 20 centímetros. En las raíces tuberosas, se distingue un pedúnculo proximal, una parte dilatada central o tuberización y el extremo distal delgado.

Se reconocen tres clases de camote dependiendo del tamaño de las raíces, primeras, segundas, terceras o colas (Figura 3.5) [16].



**Figura 3.5** Clases de camote, de acuerdo a su tamaño.[16].

Las raíces tuberosas o batatas, son la parte comercial de la planta de camote y el color de la pulpa puede ser amarillo, naranja, rojo, marrón o púrpura. Su cáscara varía de amarillento a blanco, rojo, rosa, violeta, amarillo, naranja y morado. Dentro de las variedades de camote las de color blanco o amarillo pálido son menos dulce y húmedas que aquellas rojas, rosas o naranjas. [9].

El color y la variedad (Figura 3.6) además pueden influir en los perfiles y niveles de antocianinas y carotenoides, así como de ácidos fenólicos, la variedad de pulpa blanca contiene mayor cantidad de ácido clorogénico, mientras que una variedad de pulpa color morada tiene los niveles más altos de cada uno de los di-CQAs. [17].



**Figura 3.6** Diferentes variedades de color de la raíz tuberosa.

### 3.3.2 Tallo

Vulgarmente llamado guía o bejuco (Figura 3.7) es de hábito rastrero con diferentes dimensiones de longitud y grosor de acuerdo a la variedad. La superficie puede ser glabra o pubescente, de color verde, púrpura o rojizo, con una o dos yemas por axila foliar. Algunos cultivares presentan la torsión de las guías típica de las convolvuláceas (enredadera).

Dependiendo de los cultivares [18], las concentraciones de antocianinas en los tallos puede variar. También, se han detectado concentraciones considerables de ácidos clorogénicos en este órgano de *I. batatas*.



**Figura 3.7** Tallos de la planta *I. batatas* L. Lam.

### 3.3.3 Follaje

Las hojas se distribuyen en espiral en los tallos y según el cultivar, varían ampliamente en tamaño, largo del pecíolo y forma. La lámina puede variar de profundamente dentada o lobulada a ancha y entera. La forma y el tamaño de las hojas pueden también ser muy distintos en una misma planta. Su color es por lo común verde, pero a veces se presenta una pigmentación púrpura, especialmente a lo largo de las venas y pueden tener diversos grados de pubescencia. El



dimorfismo foliar presente en la batata es utilizado para la diferenciación de variedades [18]. El follaje (Figura 3.8) de la planta de camote puede ser de color verde, verde-amarillento, o puede tener pigmentación púrpura en parte o la totalidad de las láminas foliares, esto modifica los perfiles de compuestos bioactivos, tales como las antocianinas y los ácidos hidroxicinamoilquínicos.



**Figura 3.8** Follaje de la planta *I. batatas* L. Lam.

### 3.3.4 Flor

Las flores (Figura 3.9) se encuentran agrupadas en inflorescencias del tipo de cima bípara, con raquis de hasta 20 centímetros de longitud, de forma campanulada de 2.5-3.5 cm de largo, el tubo blanquecino en el exterior, lila a púrpura en el interior [19].

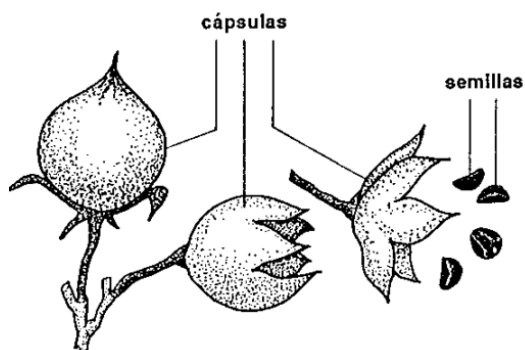


**Figura 3.9** Flor de la planta *I. batatas* L. Lam.

En la flor de la planta de camote, se han reportado cantidades apreciables de ácido clorogénico, y de los ácidos 3-5 y 3-4 DCQ [20].

### 3.3.5 Fruto

Es una pequeña cápsula redondeada de aproximadamente 3 a 7 milímetros de diámetro. Cada cápsula contiene de 1 a 4 pequeñas semillas y cada una tiene entre 2 a 4 milímetros de diámetro, de forma irregular a redondeadas negras a marrones y el peso de mil semillas (Figura 3.10) varía entre 20 a 25 gramos [21].



**Figura 3.10** Fruto de la planta *I. batatas* L. Lam [18]





### 3.4 Importancia nutrimental de *Ipomoea batatas* (L.) Lam

El valor nutrimental del camote (*Ipomoea batatas* L. Lam) se muestra en la tabla 3.2.

**Tabla 3.2** Valor nutrimental por cada 100g de camote [9].

<i>Energía</i>	360 KJ (56 kcal)
<i>Carbohidratos</i>	20.1 g
<i>Almidón</i>	12.7 g
<i>Azúcar</i>	4.2 g
<i>Fibra dietética</i>	3.0 g
<i>Lípidos</i>	0.1 g
<i>Proteínas</i>	1.6 g
<i>Vitamina A (equivalentes)</i>	709 µg (89%)
- <i>Beta caroteno</i>	8509 µg (79%)
- <i>Luteína y zeaxantina</i>	0 µg
<i>Tiamina (Vitamina B1)</i>	0.1 mg (9%)
<i>Riboflavina (Vitamina B2)</i>	0.1 mg (8%)
<i>Niacina (Vitamina B3)</i>	0.61 mg (4%)
<i>Ácido pantoténico (Vitamina B5)</i>	0.8 mg (16%)
<i>Vitamina B6</i>	0.2 mg (15%)
<i>Folato (Vitamina B9)</i>	11 µg (3%)
<i>Vitamina C</i>	2.4 mg (3%)
<i>Vitamina E</i>	0.26 mg (2%)
<i>Calcio</i>	30 mg (3%)
<i>Hierro</i>	0.6 mg (5%)
<i>Magnesio</i>	25.0 mg (7%)
<i>Fósforo</i>	47.0 mg (7%)
<i>Potasio</i>	337 mg (7%)
<i>Sodio</i>	55 mg (4%)
<i>Zinc</i>	0.3 mg (3%)

La planta de camote se utiliza como alimento básico (incluidas sus raíces carnosas, hojas tiernas, y pecíolos). Las raíces son una valiosa fuente de hidratos de carbono, vitaminas (proporciona el 100% de la cantidad diaria recomendada [RDA] para la vitamina A y el 49% de la dosis diaria recomendada de vitamina C) y minerales (que proporciona de la dosis diaria recomendada 10% de hierro (Fe) y 15% de potasio (K)). Además de otros minerales vitales como el calcio (Ca), magnesio (Mg) y



manganeso (Mn) que son esenciales para las enzimas, proteínas y metabolismo de carbohidratos.

También contiene almidones simples, son ricos en hidratos de carbono complejos, fibra dietética y contienen muchas vitaminas esenciales tales como el ácido pantoténico (vitamina B5), piridoxina (vitamina B6), y tiamina (vitamina B1), así como niacina y riboflavina. Estas vitaminas son esenciales en el sentido de que el cuerpo los requiere de fuentes externas y funcionan como cofactores para varias enzimas durante el metabolismo [9].

En varios estudios realizados en África, se encontraron camotes que contienen entre 100-1,600 microgramos de equivalentes de actividad de retinol (RAE) de vitamina A en cada 3.5 oz; suficiente, en promedio, para cumplir con el 35% de todas las necesidades de vitamina A. En muchos casos, los camotes contienen suficiente RAE para satisfacer más del 90% de las necesidades de vitamina A [9].

La raíz tuberosa es uno de los alimentos con un contenido promedio de almidón y proporciona 90 calorías / 100 g contra 70 calorías / 100 g de otros tipos de raíces como la papa (*Solanum tuberosum*). Sin embargo, el camote tiene un contenido de amilosa superior a la proporción de amilopectina en comparación con *S. tuberosum*. La amilosa presente [22] eleva los niveles de azúcar en la sangre lentamente en comparación con los azúcares simples, y se recomienda como una sustancia alimenticia saludable, incluso para los pacientes con diabetes.

Las hojas tiernas de camote se cocinan como verdura en muchas partes del mundo [23] especialmente en países asiáticos [24]; y son de hecho más nutritivas que la propia raíz tuberosa. Contienen cantidades apreciables de proteína cruda, grasa cruda, fibra cruda, cenizas, carbohidratos, contenido de humedad y la energía, elementos minerales (zinc (Zn), potasio (K), sodio (Na), manganeso (Mn), calcio (Ca), magnesio (Mg) y hierro (Fe)), vitaminas (vitamina A y vitamina C), bajos niveles de sustancias tóxicas (ácido fítico, cianuro, taninos, y oxalato total), y pueden incluirse como suplementos dietéticos con nutrientes esenciales [9].





Las hojas de camote presentan concentraciones altas de luteína, que tiene beneficios para el ojo, sobre todo en la prevención de la degeneración macular relacionada con la edad y cataratas. También son ricas en antioxidantes, que ayudan a combatir los radicales libres, evitando así el envejecimiento prematuro. Ellos refuerzan el sistema inmunológico y ayudan a prevenir infecciones. Los polifenoles presentes en las hojas han mostrado diversos tipos de funciones fisiológicas como eliminación de radicales, actividad anti-mutagénica, anticancerígeno, antidiabético, y actividad antibacteriana *in vitro e in vivo*, que pueden ser útiles para mantener y promover la salud humana [9].

Algunos estudios han demostrado que hojas de camote contienen mayor cantidad de vitaminas, minerales y nutrientes que otras hojas comestibles como la espinaca. El contenido de estos nutrientes difiere de acuerdo a la cosecha, período y variedad [23].

### **3.5 Actividad biológica de *Ipomoea batatas* (L.) Lam**

Estudios recientes se han centrado en las capacidades antioxidantes de camote debido al contenido de fenoles, flavonoides,  $\beta$ -caroteno, antocianinas, y derivados de los ácidos cafeoilquínicos [25].

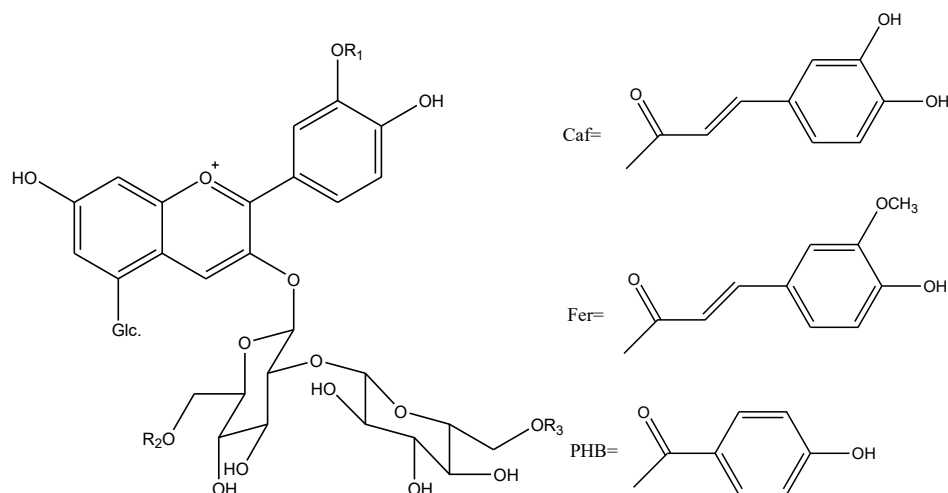
El camote de pulpa anaranjada es la variedad más común y es una buena fuente de  $\beta$ -caroteno, que es un interceptor de radicales libres. Los carotenoides tienen capacidades antioxidantes e inhiben la mutagénesis en las células. Y de terpenoides que reducen la lipoproteína de baja densidad (LDL), los niveles de colesterol y actúan como anticancerígeno [9].

El camote de pulpa morada es una buena fuente de antocianinas, que poseen actividades antioxidantes [26], [27]. Y, en ciertos ensayos en donde se ha comparado la actividad antioxidante entre el camote blanco, amarillo y morado, se reportó que el último presentó mayor actividad; esto se atribuyó al sinergismo de cada una de las antocianinas contenidas en él [28]. Los genes en el camote morado



(IbMYB1 y IbMYB2) se activan para producir antocianinas que son las responsables de los tonos púrpuras (morados) de la pulpa. Las antocianinas presentes en el camote morado son principalmente peonidina y cianidina aciladas con ácidos hidroxibenzoicos [29] (cafeico, cumárico, *p*-hidroxibenzoico y ferúlico) (Figura 3.11) con importante actividad antioxidante y anti-inflamatorias, sobre todo al pasar por el tracto digestivo.

Se ha reportado que las antocianinas aciladas poseen actividad antioxidante y anti-mutagenicidad elevada. Las actividades biológicas de grupos acilo específicos están aún en evaluación, sin embargo, se cree que los grupos hidroxilo fenólicos libres adicionales pueden elevar la bio-funcionalidad de antocianinas.[30].



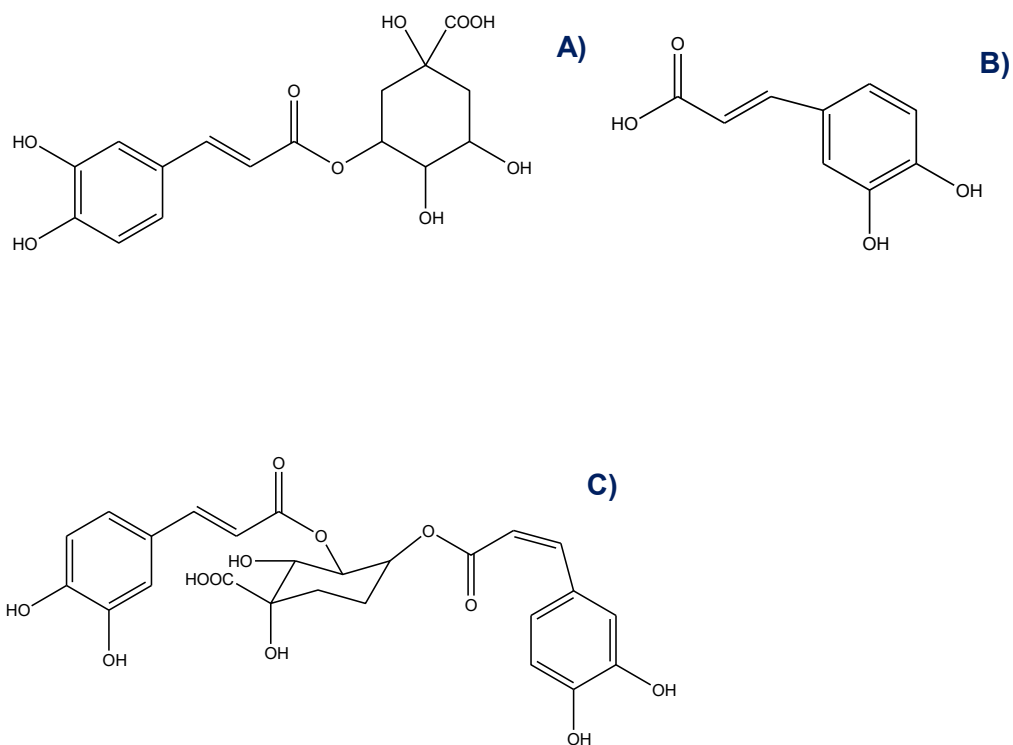
Compuesto	R1	R2	R3	Abreviatura	m/z
A	H	Caf	H	Cian-CafSof-Glc	935
B	H	Caf	Caf	Cian-diCafSof-Glc	1097
C	H	Caf	PHB	Cian-CafPHBSof-Glc	1055
D	Me	Caf	H	Peon-CafSof-Glc	949
E	H	Caf	Fer	Cian-CafFerSof-Glc	1111
F	Me	Caf	Caf	Peon-diCafSof-Glc	1111
G	Me	Caf	PHB	Peon-CafPHBSof-Glc	1069
H	Me	Caf	Fer	Peon-CafFerSof-Glc	1125

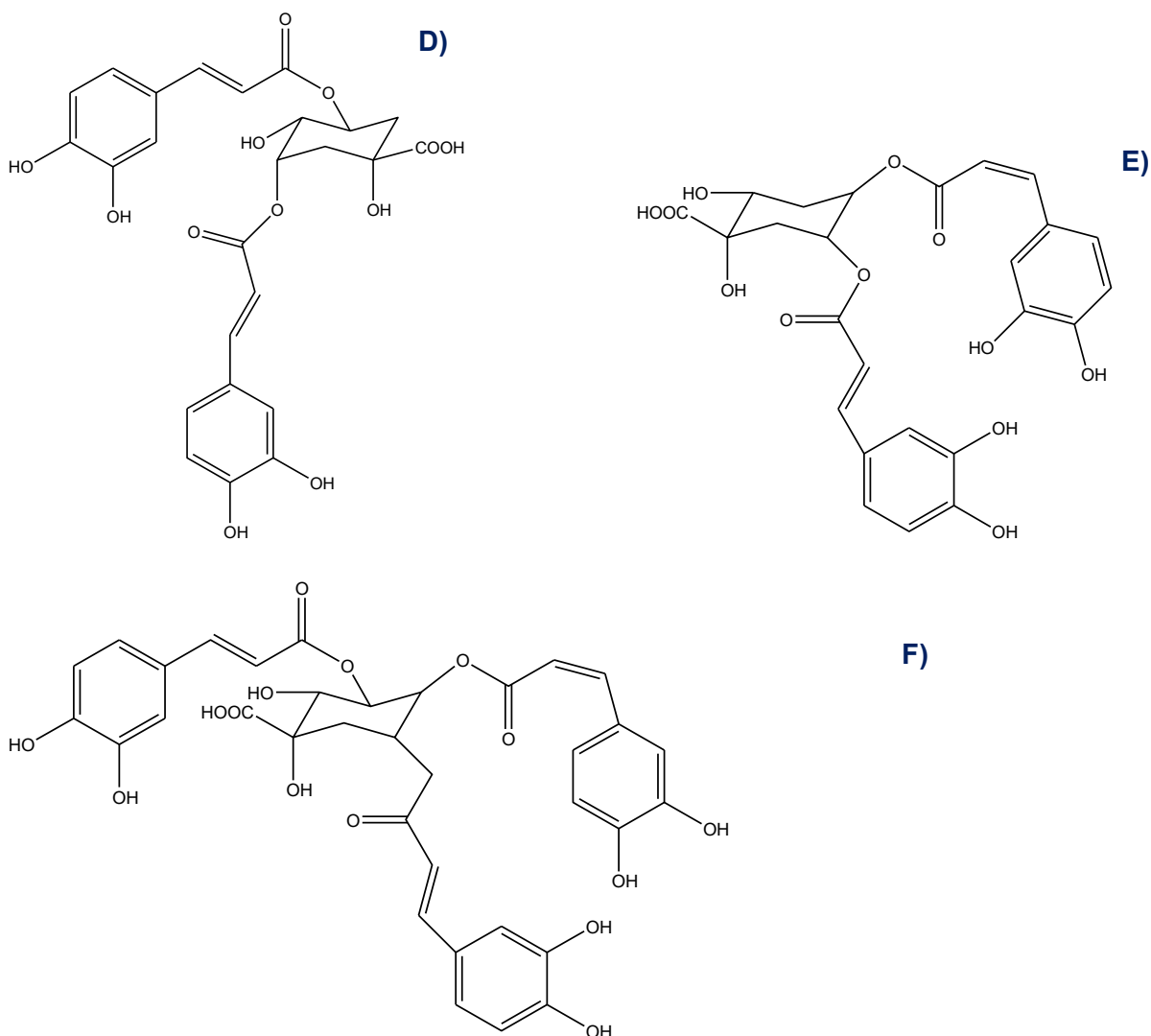
**Figura 3.11** Estructura de las antocianinas presente en *I. batatas* variedad morada.



Los alcaloides, compuestos fenólicos, y glicolípidos son otros de los componentes biológicamente activos más comunes de *I. batatas*.

A partir de la hoja de camote, se han aislado los derivados de ácido cafeoilquínico tales como el ácido 3-mono-O-cafeoilquínico (ácido clorogénico), ácido 3,4-di-O-cafeoilquínico (3,4-diCQA), ácido 3,5-di-O-cafeoilquínico (3,5-diCQA), ácido 4,5-di-O-cafeoilquínico (4,5-diCQA), ácido 3,4,5-tri-O-cafeoilquínico (3,4,5-triCQA), y el ácido cafeico (AC) [31] (Figura 3.12). Estos compuestos poseen una amplia gama de propiedades farmacológicas incluyendo hepatoprotector, anti-bacteriana, antihistamínico, y otros efectos biológicos como inhibidores de la replicación del VIH [20], [32], [33] e hipoglucémico, captación de radicales y actividades antimutagenicas. También se encontraron para prevenir la proliferación de las células cancerosas humanas derivadas de cáncer de estómago, cáncer de colon y leucemia promielocítica [17].

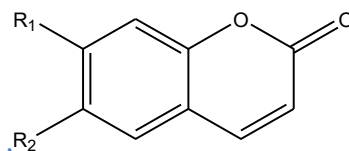




**Figura 3.12** Estructura de los ácidos fenólicos presentes en *I. batatas* A) ácido clorogénico, B) ácido cafeico, C) ácido 3,4-DCQ, D) ácido 3,5-DCQ, E) ácido 4,5-DCQ y F) ácido 3,4,5-TCQ [9].

*I. batatas* contienen las cumarinas: esculetina y umbelliferona (Figura 3.13) con propiedades antioxidantes, anticoagulante e inhiben la replicación de VIH [9]. La escopoletina (Figura 3.13) también está presente y posee actividad como hepatoprotector [34], antioxidante, espasmolítico, e inhibidora de la acetilcolinesterasa, así como inhibe la proliferación mediante la inducción de la apoptosis [35] de las células de adenocarcinoma de próstata, la escopoletina es una de las fitoalexinas de *I. batatas*.

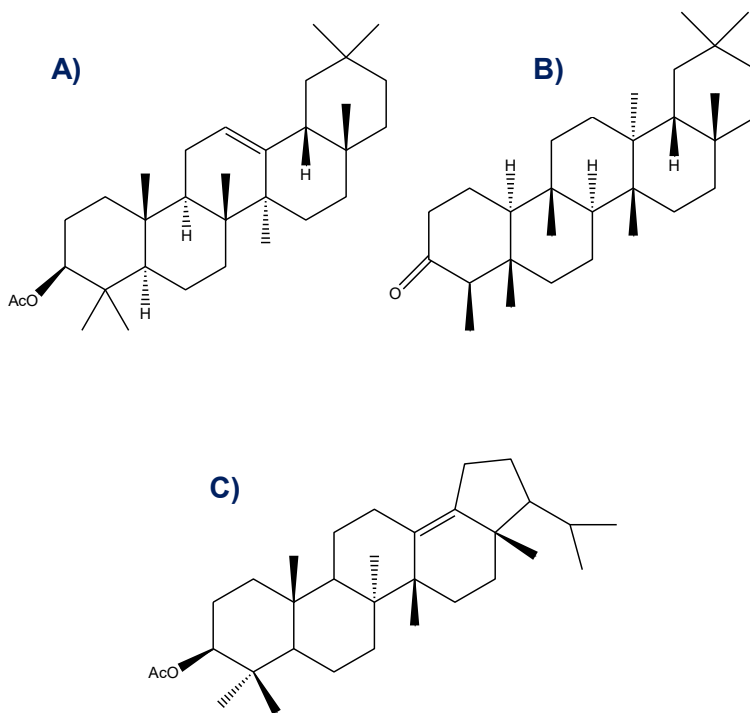




- A) R<sub>1</sub>=OH; R<sub>2</sub>=OMe
- B) R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=OH
- C) R<sub>1</sub>= OH; R<sub>2</sub>=H

**Figura 3.13** Estructura de las cumarinas presentes en *I.batatas*. A) escopuletina, B) esculetina y C) umbeliferona.

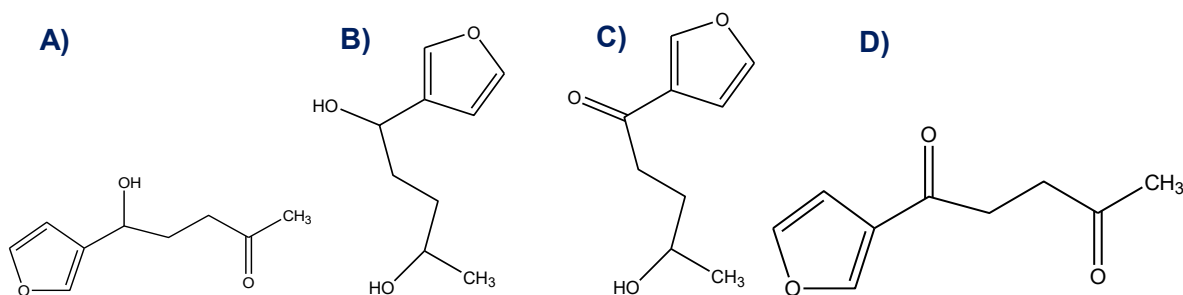
Los triterpenos bioactivos [36] (Figura 3.14) que se encuentran en *I. batatas* son: acetato de boemerilo, que actúan como estimulantes de oviposición para el gorgojo del camote; *Cylas formicarius elegantulus* (Summers); friedelina que demuestra una buena actividad frente a *S. aureus*, en comparación con ampicilina y amoxicilina, y una buena actividad antifúngica contra *Pseudallescheria boydi*; acetato de β-amirina mostró pronunciada actividad antinociceptiva en el ensayo de retorcimiento y formalina prueba en ratones.



**Figura 3.14** Estructura de los triterpenos presentes en *I.batatas*. A) acetato de β-amirina, B) acetato de boemerilo y C) friedelina.

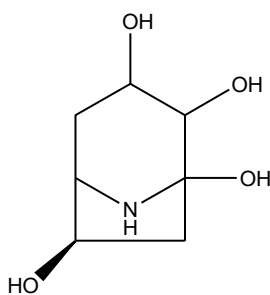


Un grupo de furanoterpenoides 9-carbono (Figura 3.15) (1-ipomeanol, 4-ipomeanol, 1,4-Ipomoneadiol, y Ipomeanina) se han aislado a partir de tejido del camote infectadas con *Fusarium solani*. 4-ipomeanol es un metabolito conocido por ser citotóxico de *F. solani* que infectó al camote que era primer aislado en 1972 por Boyd, *et.al.* [9].



**Figura 3.15** Estructura de los furanoterpenoides presentes en *I.batatas*. A) 1-ipomeanol, B) 4- Ipomeanol, C) 1,4- Ipomoneadiol, D) Ipomoeanina.

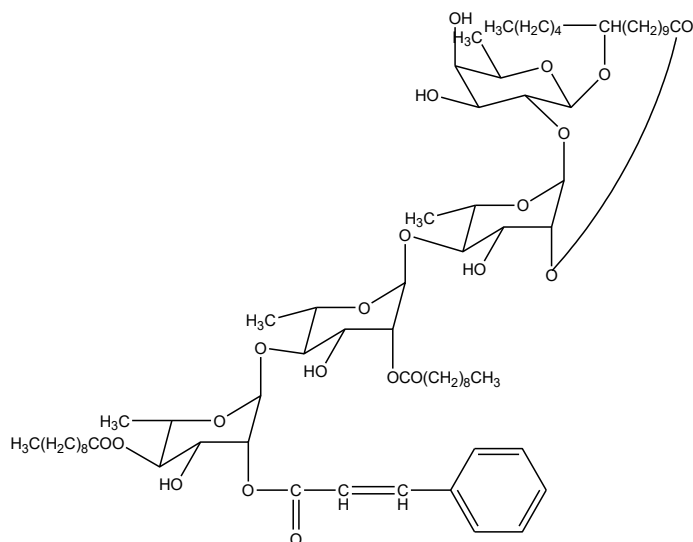
Los alcaloides presentes en *Ipomoea batatas* son calistegina (Figura 3.16) B1, B2 y C1 que presentan potente actividad inhibitoria de la  $\beta$ -glucosidasa lisosomal en ratas [37].



**Figura 3.16** Alcaloide presente en *I.batatas*. Calistegina.

Por otro lado [38] aislaron 5 simoninas (glicolipidos) de la raíz de *I.batatas*. siendo la mayoritaria la simonina 4 (Figura 3.17) presentando actividad como fitototóxico.





**Figura 3.17** Glicolípido simonina en *I. batatas*.

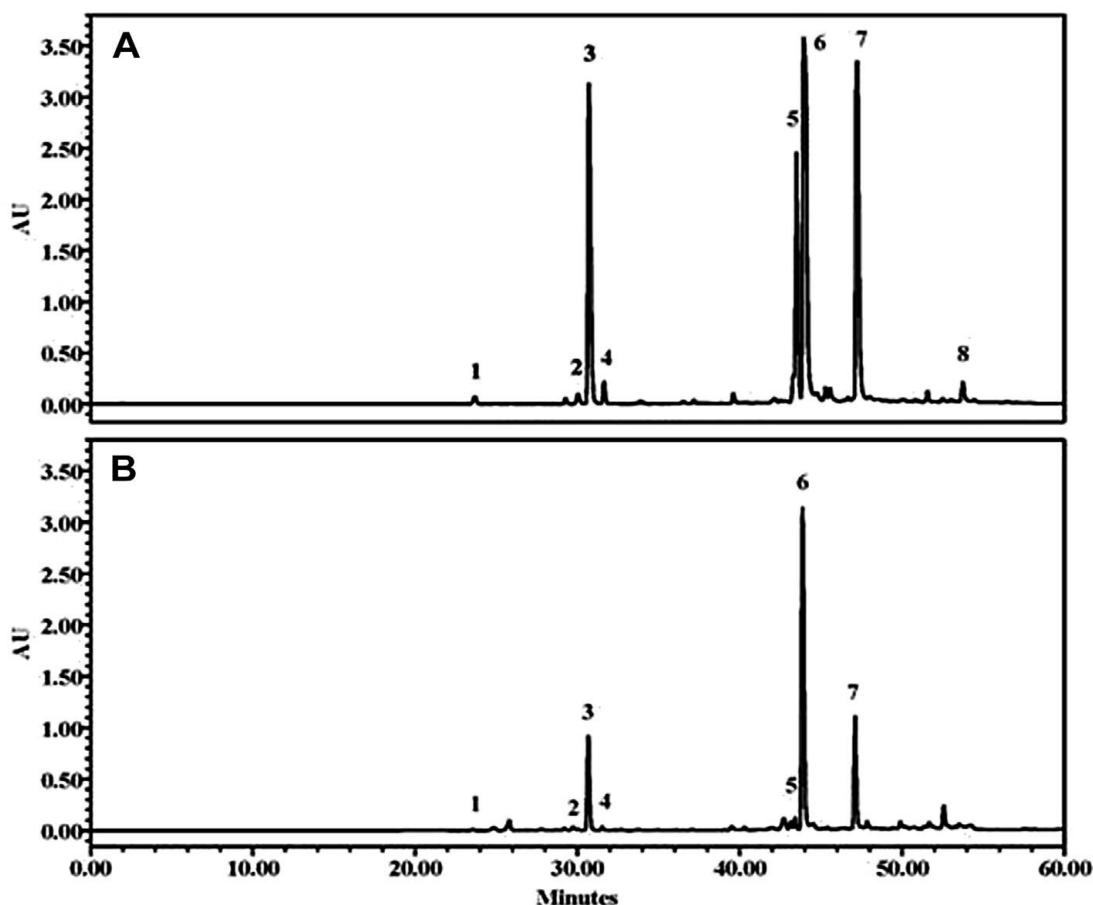
### 3.6 Principales compuestos bioactivos en *Ipomoea batatas* (L.) Lam. variedad morada

El camote contiene una gran cantidad de compuestos con actividad biológica, tales como: alcaloides, triterpenos, cumarinas, glicolípidos, furanoterpenoides, ácidos fenólicos y antocianinas.

Los niveles de compuestos fenólicos en camote son elevados, incluyendo ácidos clorogénicos, tres isómeros del ácido mono cafeoilquínico: ácido 3-cafeoilquínico (ácido neoclorogenico), ácido 4-cafeoilquinico, ácido cripto clorogénico y ácido 5-cafeoilquinico (ácido clorogénico), y tres ácidos dicafeoilquínico: ácido 3,5-dicafeoilquínico, 3,4-dicafeoilquínico ácido y 4,5-dicafeoilquínico (Figura 3.18).

Se ha estudiado la distribución de los compuestos fenólicos entre diferentes partes de la planta de camote. Los resultados mostraron que el extremo del tallo de la raíz tuvo significativamente más fenólicos y los ácidos clorogénicos predominantes presentes eran ácido 5-cafeoilquínico y ácido 3,5-dicafeoilquínico [39].





**Figura 3.18** Cromatogramas de HPLC de los derivados de ácido cafeoilquínico en *Ipomoea b.* (A) Hoja expandida (B) Flor. Pico 1: Ácido neoclorogénico, pico 2: Ácido cafeico, pico 3: Ácido clorogénico, pico 4: ácido 4-O-cafeoilquíco, pico 5: Ácido 4,5-di-o-cafeoilquínico, pico 6: ácido 4,3-di-o- cafeoilquínico, pico 7: 5,3- di-o-cafeoilquínico, pico 8: 3,4,5 tri-cafeoilquínico [3] .

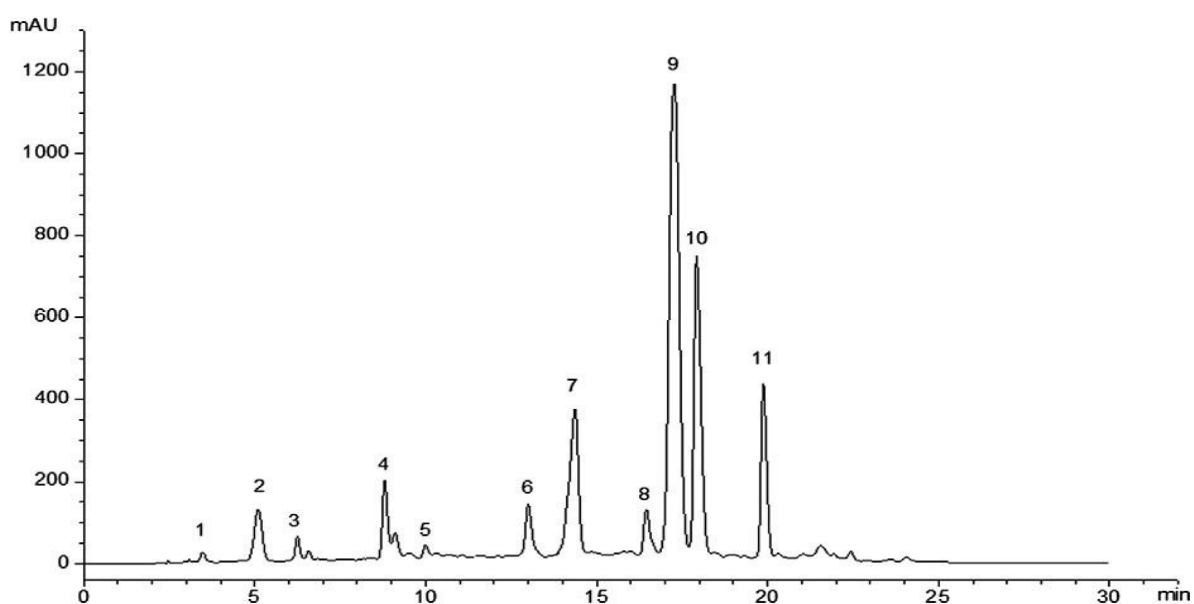
Los camotes de pulpa morada contienen grandes cantidades de antocianinas (alrededor de 802-1747 mg/kg de peso fresco), con excelentes propiedades biológicas y valor potencial como colores naturales para alimentos.

Las principales antocianinas en *I. batatas* son derivados de 3,5-diglucósido de cianidina y peonidina, aciladas con ácido *p*-hidroxibenzoico, ácido ferúlico, o ácido cafeico. Estos pigmentos acilados constituyen más del 98% del contenido de antocianina total en las raíces.





Se han identificado [1] por HPLC (cromatograma en la Figura 3.19) en el cultivar de camote morado Jihei No.1, 13 antocianinas (mostradas en la Tabla 3.3). La cianidina y peonidina fueron las principales agliconas, y los glicósidos fueron glucosa y soforosa. Además, casi todas las antocianinas tuvieron residuos de azúcar acilados con ácido *p*-hidroxibenzoico, ácido ferúlico, o ácido cafeico. Cabe destacar que una delfinidina (delfinidina 3,5 diglucósido), que nunca se había informado estuviera presente en esta raíz, fue identificada. Esta antocianina se ha encontrado sólo en el cultivo de camote morado Jihei No. 1.



**Figura 3.19** Cromatograma de HPLC de las antocianinas del camote morado del cultivar Jihei No. 1

**Tabla 3.3** Espectroscopia de masas. Antocianinas presentes en camote morado cultivar: Jihei No. 1.

Pico	M+ (m/z)	Fragmentos (m/z)	Antocianina
1	773.4	611.2, 449.1, 286.8	cinidina-3-soforósido-5-glucósido
2	787.7	625.2, 463.0, 300.8	peonidina-3-soforósido-5-glucósido
3	893.9	731.3, 449.1, 286.8	cianidina-3- <i>p</i> -hidroxibenzoil soforósido-5-glucósido



4	907.5	745.3, 463.1, 300.8	peonidina-3- <i>p</i> -hidroxibenzoil soforósido-5-glucósido
5	627.7 949.9	465.0, 302.8 787.4, 449.1, 286.8	delfinidina-3-,5-diglicósido cianidina-3-(6''-feruloil soforósido) -5-glucósido
6	963.5	801.3, 463.0, 300.8	peonidina-3-(6''- feruloil soforósido)-5-glucósido
7	936.0 1055.6	773.3, 449.1, 286.9 893.5, 449.8, 286.8	cianidina-3-(6''-cafeoil soforósido)-5-glucósido cianidina-3-cafeoil- <i>p</i> -hidroxibenzoil soforósido-5-glucósido
8	1111.6	950.2, 449.0, 286.8	cianidina-3-(6''-cafeoil-6'''-feruloil soforósido)-5- glucósido
9	950.0	787.4, 463.1, 300.8	peonidina-3-cafeoil soforósido-5 glucósido
10	1070.2	907.6, 463.1, 300.8	peonidina-3- cafeoil- <i>p</i> -hidroxibenzoil soforósido- 5 glucósido
11	1125.7	963.5, 462.9, 300.8	peonidina-3-(6''-cafeoil-6'''-feruloil soforósido)-5-glucósido

La acilación con diversos ácidos fenólicos hace a las antocianinas de camote morado únicas y también proporciona algunas ventajas en el pH y resistencia al calor, sensibilidad a la luz y estabilidad general [40]. El aumento de la estabilidad se logra mediante la asociación intermolecular entre la antocianidina y los grupos acilo aromáticos, imposibilitando que una molécula de agua ataque la posición 2 de la antocianidina del anillo C, mantenimiento así a las antocianinas en sus formas estables (catión flavilio o forma quinoidal) [41].

### 3.7 Métodos de extracción y caracterización de compuestos bioactivos de *Ipomoea batatas* L. Lam variedad morada

La extracción es una técnica de separación que afecta el rendimiento, la calidad y composición de los compuestos. Un método de extracción eficaz maximiza la obtención de compuestos de interés con mínima degradación y se basa en las tecnologías respetuosas con el medio ambiente.



La extracción convencional de las antocianinas, se basa en el método de agitación en un baño de agua, se lleva a cabo en soluciones ácidas para obtener el rojo de cationes flavilio estable. En comparación con la extracción convencional, la extracción asistida por ultrasonido, que se ha utilizado en la extracción de antocianinas y otros compuestos fenólicos, tienen varias ventajas, incluyendo la reducción del tiempo de procesamiento y el volumen de disolvente. Además, tiene una transferencia de masa efectiva y la penetración de disolvente a través de la ruptura de las paredes celulares de las plantas a través de la cavitación acústica [42].

Sin embargo, el procesamiento de camote morado para la recuperación de fenoles comerciales ofrece retos únicos, entre los que están la capacidad de inactivar rápidamente la polifenoloxidasas y la extracción ineficiente de pigmentos de la estructura de tejido denso [43]. La mayor parte de la literatura reporta la extracción de los compuestos bioactivos de esta raíz tuberosa sin tratamientos previos para la inactivación enzimática.

Con el fin de potencializar la actividad antioxidante en camotes, se han estudiado métodos de secado; ya que los métodos convencionales son de secado por aire caliente y el secado solar, pero muy pocos informes se refieren al secado por microondas y la liofilización. Una desventaja asociada con secado por aire caliente es que utiliza tiempos largos a altas temperaturas, lo que puede causar daños en el sabor, el color y los nutrientes en productos secos. Reportando [44] que el secado por microondas el que conserva más eficientemente la actividad antioxidante y concentración de fenoles totales.

Por otro lado, los métodos de purificación de polifenoles de las plantas son de extracción, métodos de separación de membrana con solventes principalmente orgánicos y extracción con fluidos supercríticos. Sin embargo, estos métodos tienen algunas desventajas, tales como ciclos de producción largos o alto costo, que los hacen inadecuados para su uso a escala industrial. Resinas macroporosas son polímeros duraderos polares, no polares o ligeramente hidrófilos con altas



capacidades de adsorción para moléculas orgánicas. Pueden adsorber selectivamente los constituyentes específicos de sistemas acuosos y no acuosos a través de fuerza electrostática, interacciones de enlace de hidrógeno, formación de complejos y el tamaño de tamizado. Por lo tanto, las resinas macro porosas han sido ampliamente utilizados en la separación y purificación de sustancias biológicamente activas debido a su estabilidad físico-química, alta selectividad de adsorción y fácil reciclaje. AB-8 resinas macroporosas son resinas polares débiles y han sido ampliamente utilizados en la purificación de polifenoles vegetales debido a su área de superficie apropiado y tamaño de poro nuclear. Sin embargo, sólo hay información limitada sobre la purificación de polifenoles de la hoja de camote por resina AB-8 macroporosa [45].

Las técnicas empleadas para el análisis de los compuestos bioactivos en camotes morados son utilizando HPLC por tiempos de retención, HPLC-ESI-MM/MM por pesos moleculares y patrón de fragmentación.

Las antocianinas de camote morado 3-O-(6-O-trans-cafeoil-2-O-glucopiranosil-3-glucopiranosido)-5-O-glucósido de cianidina y peonidina fueron separadas por múltiples técnicas tales como la cromatografía en papel, cromatografía de capa fina y cromatografía de permeación en gel [46]. Sin embargo, estos métodos son más complejos, tienen baja reproducibilidad, y el resultado en la adsorción es irreversible y provoca la desnaturalización de los compuestos de interés [47].

Actualmente, la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) representa la técnica analítica más frecuente y fiable, en comparación con la cromatografía de gases, electroforesis capilar, etc., para la determinación de compuestos fenólicos. La detección por red de diodos (DAD) permite la grabación en tiempo real de los espectros de absorción completa UV-vis 200-700 nm y, por tanto, puede proporcionar información adicional para la identificación del pico. La espectrometría de masas (MS), incluyendo tándem MS (MS / MS) e incluso múltiples EM (MSN), ha sido reconocida como una herramienta poderosa para la identificación y



elucidación estructural compuestos de desconocidos tales como las antocininas [24] [48].

### 3.8 Enzimas en *Ipomoea batatas* (L.) Lam

Dentro de las principales enzimas en la planta de camote se encuentra las amilasas y las oxidasas [49].

La raíz tuberosa de *I. batatas* se convierte en dulce debido a la formación de maltosa durante la cocción a través de la acción de  $\alpha$ -amilasa (E.C. 3.2.1.1) y  $\beta$ -amilasa (E.C. 3.2.1.2) en el almidón.

*Ipomoea batatas* es una de las principales fuentes de  $\beta$ -amilasa, que representa aproximadamente el 5% de proteína soluble total. Otras raíces tuberosas contienen sólo pequeñas cantidades de actividad de la  $\beta$ -amilasa, pero se distribuye en otras plantas superiores tales como soja y cebada, y también en varios tipos de bacterias y hongos.  $\beta$ -amilasa es una exocarbohidrolasa que hidroliza los enlaces glicosídicos ( $\alpha$  (1,4)) del almidón [50].

Por otro lado, muchos estudios se han dedicado al oscurecimiento enzimático que ocurre en frutas y verduras durante el post manejo de la cosecha, el procesamiento y el almacenamiento. Tanto PFO (polifenoloxidasas) y POD (peroxidasa) han sido implicados en el pardeamiento enzimático de los tejidos vegetales. Pero el pardeamiento oxidativo de las frutas se debe principalmente a la polifenoloxidasas [51].

Las polifenoloxidasas (PFO) son oxidorreductasas que contiene cobre que catalizan la hidroxilación y la oxidación de compuestos fenólicos en presencia de oxígeno molecular. Aproximadamente, casi el 50% de las frutas tropicales se descartan debido a defectos de calidad resultantes de pardeamiento enzimático. El pardeamiento es catalizada principalmente por la enzima polifenoloxidasas.





(A)

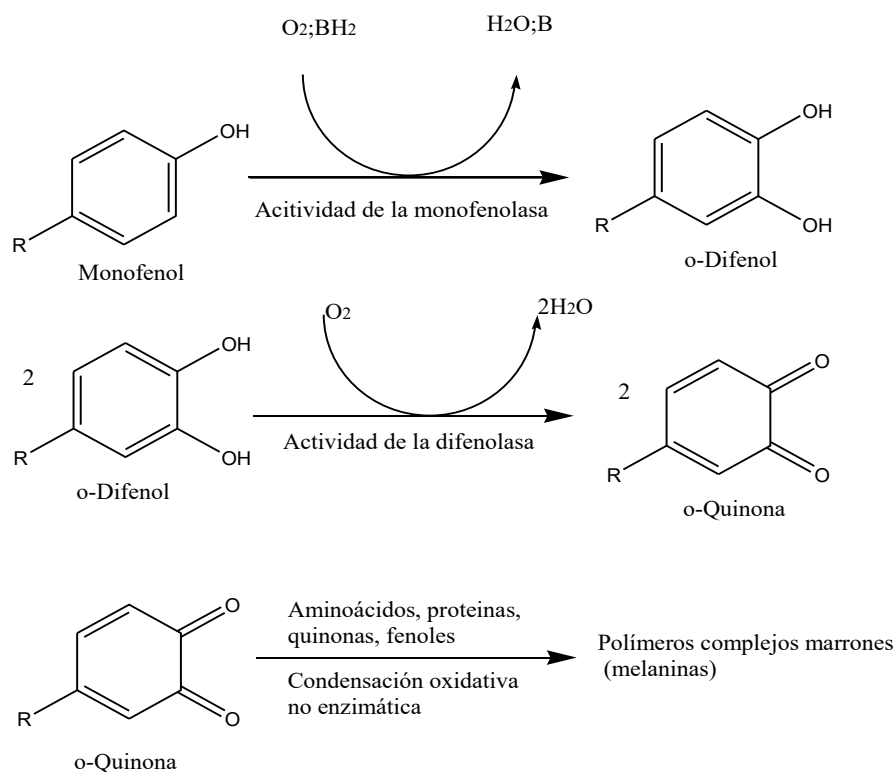


(B)

**Figura 3.20** Oxidación del camote morado. A) Camote fresco. B) camote oxidado.

El camote es susceptible a reacciones de pardeamiento (Figura 3.20) que afectan a la calidad y la aceptación del consumidor. Este se decolora cuando se troquelea, corta y se expone al oxígeno o es procesado por calor; el daño a los tejidos causado por estos procesos resulta en la activación de PFO y conduce a la decoloración del producto.

En las plantas las PFO se encuentran principalmente en la membrana tilacoide de los cloroplastos y las mitocondrias. Cuando ocurre la disrupción de los tejidos estas enzimas se liberan e interactúan con oxígeno dando reacciones de acoplamiento oxidativo con los fenoles presentes. La secuencia de reacciones de las PFO son: el monofenol se hidroxila a o-difenol (actividad oxidasa monofenol), y posteriormente el difenol se puede oxidar a las o-quinonas (actividad oxidasa difenol), que luego dan reacciones en cadena para producir biopolímeros de color marrón oscuro, como se muestra en la Figura 3.21 [52].



**Figura 3.21** Representación esquemática del pardeamiento enzimático [53].

Aunque no se considera sustratos para PFO, las antocianinas se degradan rápidamente con una interrupción del tejido y posterior co-oxidación de peróxido de hidrógeno y la generación de o-quinona. Sin embargo, algunos informes han indicado una acción directa de la PFO en antocianinas en los arándanos frescos machacados, y la adición de ácido clorogénico estimulando reacciones de pardeamiento, que llevaron adicionalmente a la destrucción del pigmento [53].

Las peroxidasa (PO; EC 1.11.1.7) que descomponen los hidroperóxidos endógenos, y los compuestos formados a partir de la acción de la PFO puede servir para exacerbar la degradación de antocianinas en las superficies de corte [43].

Las peroxidasa contiene hierro y son enzimas capaces de oxidar compuestos fenólicos a quinonas en la presencia de peróxido de hidrógeno. Las peroxidasa se

encuentra en la mayoría de los tejidos de la planta, pero el bajo nivel de peróxido de hidrógeno es el factor que limita su actividad [51].

La acción desfavorable de las oxidasas sobre los compuestos bioactivos de camote morado puede ser controlada a través del uso de métodos físicos y químicos; que además puede optimizar o bajar la eficiencia de extracción, tales como: ajuntando las condiciones de pH, sales inhibitorias, procesos térmicos, campos eléctricos pulsados, eliminación de oxígeno, secado, etc.

### **3.9 Alimentos preparados a base de camote**

El cultivo de camote es muy importante a nivel mundial, por las grandes posibilidades que tiene como alimento humano, animal y aun como componente de procesos industriales. Se habla de la importancia de la batata en la alimentación humana como un sustituto de harinas que se preparan en fresco, como papa y yuca, al igual que de productos de alto valor energético, como la harina de trigo y el arroz.[7].

El principal uso es para la alimentación humana, consumiéndose de diversas formas: cocido, acaramelado, asado, como papilla para bebe y harina para la preparación de galletas y pasteles [54].

Su textura y sabor se adaptan a muchas recetas. A partir del camote se pueden obtener harina para fabricar pan, con el atractivo de su mayor valor nutritivo comparada con la harina de trigo. El principal inconveniente de ese pan es que carece de gluten, el que le otorga cierta esponjosidad. Pero como esa carencia es una importante virtud para quienes padecen de enfermedad celíaca o algún otro tipo de trastorno asociado con el gluten, investigadores del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos usaron harina de camote para elaborar panqueques esponjosos libres de ese compuesto proteico.





Las hojuelas fritas de camote, similares a las hechas con papa, tienen buena difusión en varios países, aunque durante mucho tiempo su elaboración no prosperó debido al oscurecimiento de la pulpa antes y durante la fritura, y a la alta retención de aceite por las laminillas, que resultaban poco crocantes. Esos problemas fueron superados y hoy se obtienen hojuelas de excelente calidad. Con camote de pulpa morada se han elaborado productos como jugos, cervezas y colorantes para alimentos. El shochu, por lo común conocido por su nombre coreano de soju (Figura 3.22) en los Estados Unidos, es un aguardiente claro, tradicional en algunas regiones del Japón, en especial la isla Kyushu y el oeste de Honshu.



**Figura 3.22** Imagen del Soju [55].

Actualmente se evalúa la posibilidad de usar residuos industriales de batata para producir aditivos de alimentos o suplementos nutricionales, ya que pueden ser fuente de fibras, compuestos antioxidantes y otras sustancias con efectos positivos sobre la salud. Por ejemplo, en Japón, donde la batata se utiliza principalmente como materia prima para fabricar almidón, se aprovechan residuos de esa industria como fibra alimentaria. La medicina tradicional japonesa ha recurrido por años a la



batata para tratar la diabetes y otras enfermedades. Las raíces también pueden ser utilizadas para fabricar productos fermentados, como vino, butanol, ácido láctico, acetona y etanol, el último de los cuales tiene creciente uso como sustituto de combustibles fósiles [56].

En México los camotes se cultivan en la región de Querétaro-Guanajuato desde la época prehispánica y siguen siendo muy populares; en la actualidad en Puebla y Veracruz se usan como base en la preparación de golosinas (Figura 3.23) o como parte de guisado, los que son usados como platillos tradicionales en diversas celebraciones; como las panochas de coco y camote del Jueves Santo; los camotes durante la Conmemoración del Grito de Dolores el 15 y 16 de Septiembre, en las fiestas de San Juan Bautista de San Juan del Rio, Qrt. el 24 de junio, o en las fiestas de San Antonio el 21 de septiembre; los camotes cubiertos el 12 de diciembre para festejar a la Virgen de Guadalupe [10].



**Figura 3.23** Imagen del camote morado y amarillo cristalizado [57].

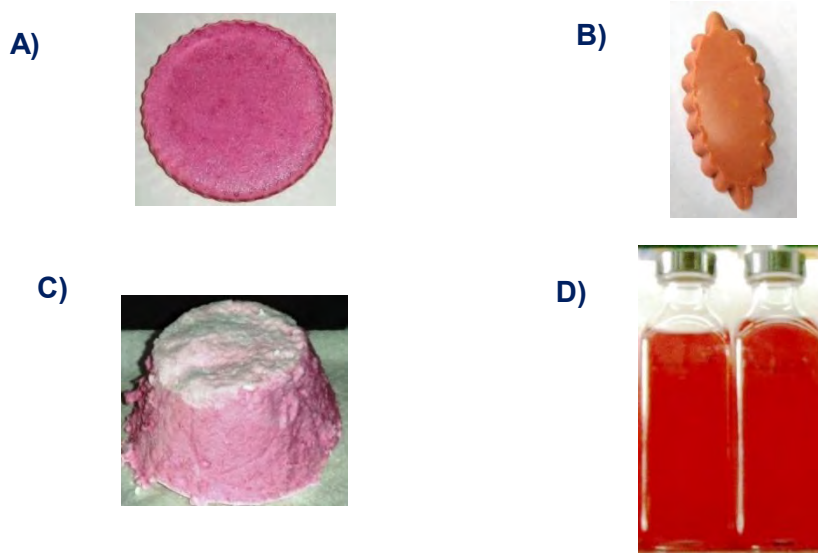
Como fuente de antocianina aciladas, la raíz tuberosa ha mostrado excelentes propiedades como colorantes en numerosos alimentos ácidos y neutros comparado con el colorante sintético rojo # 40 (FD&C).

En Japón, el puré de camote morado es un colorante natural, popular y de ingredientes funcionales en los dulces, jugos, bebidas, y en las industrias de alimentos lácteos y panadería. Con el fin de ser utilizado como un aditivo,



generalmente el camote morado se transforma en puré cocido, se seca y en polvo; estos procesos conducen a la degradación de la pigmentación a lo largo de los tratamientos térmicos y de la exposición al oxígeno. Por lo tanto, la estabilidad térmica de antocianina es reconocido como una propiedad clave que afecta a la calidad en general.[30].

En México también se han desarrollado tecnologías para la obtención de un colorante natural de pulpa y cáscara de camote morado, mostrando propiedades termoestables y ha sido aplicado en alimentos procesados como caramelos, malvaviscos, chocolates y bebidas pasteurizadas [58] (Figura 3.24).



**Figura 3.24** Imagen de los productos desarrollados con colorante de camote morado. A) Caramelo, B) Manteca de cacao, C) Bombón D) bebida pasteurizada.

También, se ha reportado el consumo de las hojas tiernas como verdura en sopas y ensaladas, atribuyéndosele propiedades medicinales. Son pocos los reportes que han propagado las propiedades medicinales del camote morado, sin embargo, el camote amarillo es conocido por tratar enfermedades que están relacionadas con deficiencias nutricionales como el escorbuto. Esto se debe a que el camote contiene una gran cantidad de vitaminas y carotenos [54].

## 4 HIPÓTESIS

En investigaciones previas se ha reportado la presencia de antocianinas aciladas y ácidos fenólicos en camotes de diferentes variedades por lo que se espera que la variedad morada mexicana presente dichos compuestos bioactivos en igual o mayor concentración y garantizar la presencia de dichos compuestos en alimentos procesados.

## 5 OBJETIVOS

- OBJETIVOS GENERAL

- Caracterizar y cuantificar las antocianinas, ácidos hidroxicinamoilquínicos e hidroxicinámicos en la planta de camote morado (*Ipomoea batatas (L.) Lam*) y en un snack elaborado con harina y pulpa a base de la variedad de raíz tuberosa que presente la mayor concentración de compuestos bioactivos.

- OBJETIVOS PARTICULARES

- Selección de la variedad de camote morado provenientes de las principales regiones productoras del país, en función del contenido de antocianinas y fenoles totales.
- Inactivación de las enzimas (polifenoloxidasas y peroxidasa) involucradas en la degradación de compuestos fenólicos.
- Caracterización de compuestos bioactivos en hojas, pulpa y cáscara
- Cuantificación de los principales compuestos bioactivos en raíz, hojas, tallos y flor.
- Formulación de un snack de camote.
- Análisis químico en función de sus compuestos bioactivos en un snack de camote, así como análisis instrumental y sensorial del mismo.



## 6 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

### ● MATERIAL

- Placas de sílice de 0.2 y 2 mm
- Sephadex LH-20
- Amberlita XAD-7HP
- Metanol, Acetona, acetato de etilo, butanol, hexano,
- Ácido acético, fórmico, láctico(sigma)
- Agua destilada
- Agua desionizada
- Metanol y ácido trifluoroacético deuterados
- TMS

### ● EQUIPO

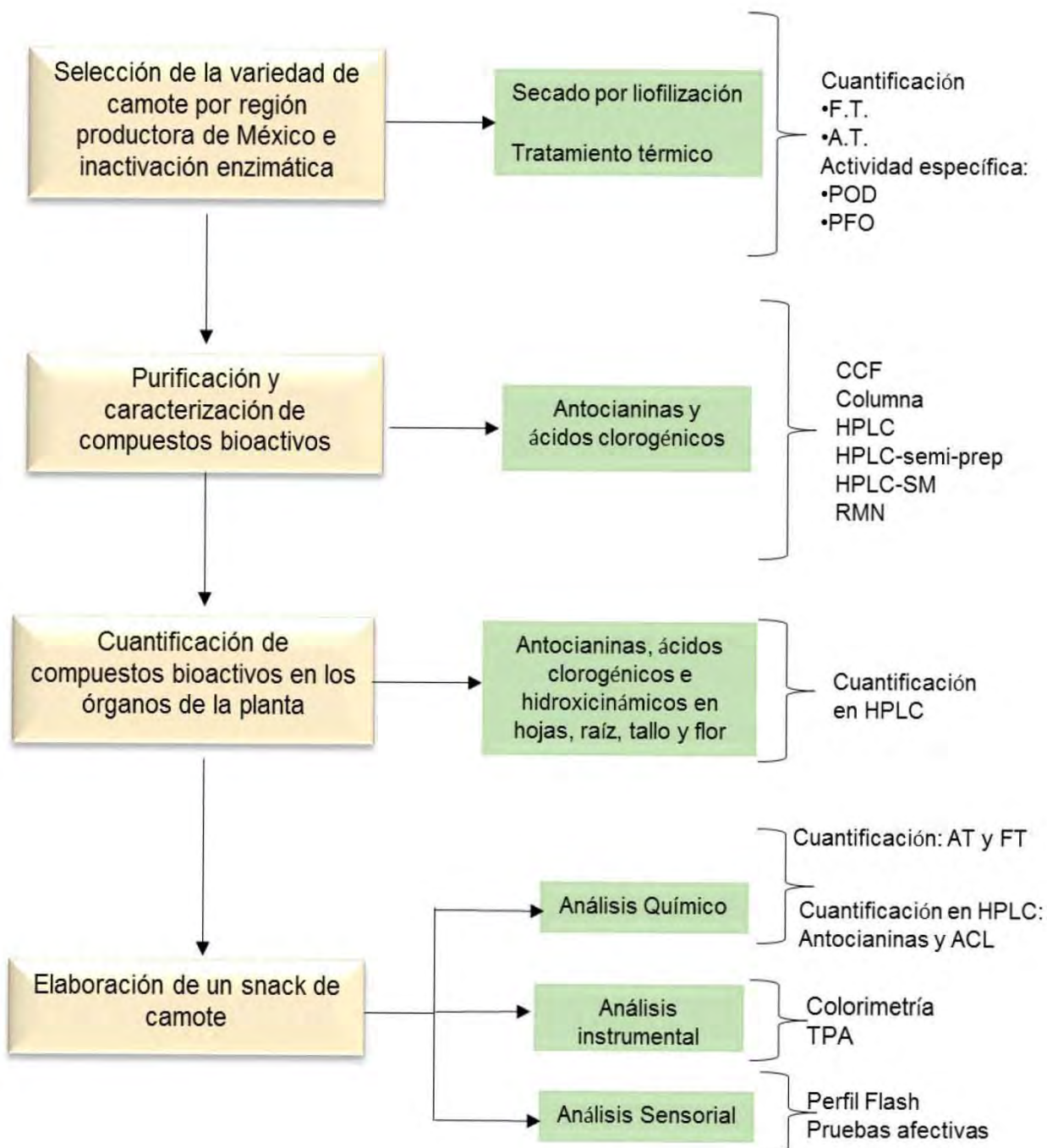
- Molino para café casero KRUPS GX 4100
- Vaporera Tefal VC 1002 ULTRA COMPACT
- Lámpara UV
- Liofilizadora Labconco 7522900
- Congelador -80°C Revco Harris
- Sonificador Branson 3510 potencia: 100W, 42 Hz
- Rotavapor (Büchi) R-215, baño de calentamiento B-491, bomba de vacío V-700.
- Balanza analítica OHAUS AP1105
- Cromatógrafo de líquidos de alta resolución HPLC: Auto inyector waters 2707, bomba waters 1525, detector UV Waters 2478 y desgasificador. Software Empower
- Cromatógrafo de líquidos de alta resolución HPLC: Agilent
- Columna Hypersil GOLD 250x4.6mm, 5µm. Thermo Scientific
- Columna Hypersil GOLD semi preparativa 250x10 mm, 5 Thermo Scientific µm
- Espectrofotómetro GBC-CINTRA 101



- Espectrofotómetro de RMN (Agilent DD2 600 con One NMR Probe) 600 MHz
- Espectrofotómetro de masas (Bruker micro TOF-Q II, Bruker Daltonics, Bremen, Germany).
- Colorímetro CIE y Hunter, iluminante D65 y componente especular excluido (SCE).
- Texturómetro *Stable Micro Systems*) TA-XT2 Plus (Haslemere, Inglaterra)



Para cumplir con los objetivos planteados, la metodología experimental que se planteó se muestra en el siguiente diagrama:



**Figura 6.1** Esquema de la metodología experimental general.





## 6.1 Etapa 1. Selección de la variedad de camote morado por región productora de México y optimización de la extracción de compuestos bioactivos

En esta primera etapa se estudiaron 12 variedades de camote morado, provenientes de las principales regiones productoras, que a continuación se enlistan:

**Tabla 6.1** Claves de las variedades estudiadas por región producto de camote morado en México.

Clave	Entidad	Fecha reportada
C1	Consepción Pilcaya, Guerrero	23-10-2013
C2	Ejidos de Zacahualpan, México	24-10-2013
C3	S. Nicolas, Salvatierra, Guanajuato (JCG 183)	-----
C4	Malinaltenango, Estado de México (Isaias Jaimes)	Nov-2013
C5	Ejidos de Zacahualpan, México (Salomón Juárez)	Nov-2013
C6	S. Nicolas, Salvatierra, Guanajuato (JCG 184)	-----
C7	S. Nicolas, Salvatierra, Guanajuato (JCG 186)	-----
C8	S. Nicolas, Salvatierra, Guanajuato (JCG 188)	-----
C91	Atlixco, Puebla	Nov-2014
C92	Atlixco, Puebla	Nov-2014
C93	Atlixco, Puebla	Nov-2014
CNI	Camote comercial (central de abastos)	Sep-2012





A cada una de las variedades se les sometió a dos tratamientos: térmico (a vapor por 40 min) y secado por liofilización (36 h); se les cuantificó antocianinas y fenoles totales. En función de estos compuestos bioactivos se seleccionó la variedad por región productora de camote morado con la mayor concentración. Posteriormente se le midió a dicha variedad actividad enzimática de la POD y PFO.

Las metodologías utilizadas fueron las siguientes:

### 6.1.1 Tratamientos de la muestra

- Tratamiento Térmico: El camote morado fresco se colocó en una vaporera a 90°C por 40 minutos, se congelaron a -80°C y liofilizaron por 12 horas.
- Secado por liofilización: El camote morado fresco se cortó en rebanadas de 5 mm de espesor y se congeló a -80°C durante 1 hora; la muestra se liofilizó por 36 horas, una vez transcurrido el tiempo de secado, la muestra se pulverizó y se tamizó a malla 40.

NOTA: Para que las mediciones fueran comparables, todas fueron consideradas en base seca (B.S.). Por lo que se determinó la humedad en cada una de las variedades de camote morado y se consideró dicha humedad en las comparaciones con el camote fresco (blanco).

### 6.1.2 Cuantificación de antocianinas totales (método de pH-diferencial)

Para la medición de antocianinas totales se pesó 1 g de la muestra y se colocó en un matraz de 25 mL al cual se agregaron 20 mL de una solución de acetona: agua 40:60% y 1% de ácido tartárico; posteriormente la solución se sonicó durante 40 minutos a 60°C. Por último, se filtró al vacío con un embudo *Büchner*. Y se leyó en el espectrofotómetro siguiendo el método de pH-diferencial.

La metodología del pH diferencial que se llevó a cabo fue la descrita por Giustu y Wrolstad, 2001 [59]. Ésta se basa en las transformaciones estructurales que sufren



las antocianinas monoméricas con un cambio en el pH; estos compuestos adquieren la conformación de catión flavilio (color rojo intenso) a pH 1 y la forma hemiacetal (incolores) a pH 4.5.

La medición se hizo tomando 200 µL del extracto obtenido, mezclándose con 1800 µL de buffer de cloruros 0.025 M pH 1 en un tubo de ensaye, y se tomaron otros 200 µL de extracto con 1800 µL de buffer de acetatos 0.4 M pH 4.5.

Para cada solución, se midió la absorbancia a 510 nm (longitud de onda de máxima absorbancia de las antocianinas) y a 700 nm en un espectrofotómetro UV visible usando agua destilada como blanco. El contenido de antocianinas totales se expresa como mg/L de cianidina 3-glucósido. La absorbancia final se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$A^* = (A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH}1} - (A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH}4.5}$$

$$AT = \frac{A^* \times PM \times FD \times 1000}{\Sigma \times 1}$$

Donde:

PM= peso molecular de la cianidina 3-glucósido = 449.2 g/mol

FD = Factor de dilución=10

Σ= absorptividad molar de la cianidina 3-glucósido= 26900 L/cm mg

La concentración final se obtiene en función del volumen de disolvente empleado y peso de la muestra obteniéndose unidades de mg de antocianinas totales/g de muestra.

### 6.1.3 Cuantificación de fenoles totales

Se pesó 1 g de la muestra y se colocó en un matraz de 25 mL al cual se agregaron 20 mL de una solución de acetona: agua 40:60% y 1% de ácido tartárico; posteriormente la solución se sonicó durante 40 minutos a 60°C. Por último, se filtró



al vacío con un embudo *Büchner* y se utilizó el método de Folin-Ciocalteu: se tomó 100 µL del extracto filtrado, se adicionó 2 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 2%, después de 2 min se agregó 100 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu (diluido con H<sub>2</sub>O 1:1).

Transcurridos 30 min se midió la absorbancia a 750 nm en el espectrofotómetro. Expresando los resultados como mg de ácido tánico/ g muestra. (La curva patrón se realizó con ácidos tánico en estas mismas condiciones experimentales. La regresión lineal que se obtuvo fue  $Y=2.12X+0.0834$ ;  $R^2=0.9919$ )

Los polifenoles en extractos de plantas reaccionan con reactivos redox específicos (reactivo de Folin-Ciocalteu) para formar un complejo azul que se puede cuantificar por espectrofotometría de luz visible.

La reacción forma un cromóforo azul constituida por un fosfomolibdeno fosfotúngstico complejo, donde la máxima absorción de los cromóforos depende en la solución alcalina, y la concentración de compuestos fenólicos [60].

#### **6.1.4 Medición de la actividad de la enzima PFO**

Para determinar la actividad enzimática se pesó 1g de muestra y se colocó en un matraz de 25 mL al que se le adicionaron 10 mL de buffer de fosfatos y 0.25 g de carbón activado. Para separar la fase sólida se filtró al vacío empleando un embudo *Büchner* y una cama de Celita.

De la fase líquida se tomó una alícuota de 1 mL en un tubo de ensayo y se le agregaron 4 mL de catecol (4mg/mL) como sustrato; inmediatamente después de adicionar el catecol se realizó la medición de la absorbancia a 420nm cada 10 segundos durante 3 minutos. Se emplearon celdas de cuarzo de 2 mL.



### 6.1.5 Medición de la actividad de la enzima POD

Para determinar la actividad enzimática se pesó 1g de muestra y se colocó en un matraz de 25 mL al que se le adicionaron 10 mL de buffer de fosfatos y 0.25 g de carbón activado. Para separar la fase sólida se filtró al vacío empleando un embudo *Büchner* y una cama de Celita.

De esta solución se tomó una alícuota de 1.4 en un tubo de ensaye, se agregó 200  $\mu$ L de guayacol al 1% en etanol y 100  $\mu$ L de peróxido de hidrógeno al 1% en agua y se midió en celdas de cuarzo la absorbancia a 470 nm en intervalos de 10 s. durante 3 min.

### 6.1.6 Cuantificación de la concentración de proteína total

La cuantificación de la proteína se determinó por el método de Bradford; el cual cuantifica la unión del colorante Azul de Coomasie a una proteína desconocida y se compara con el estándar de diferentes concentraciones de proteína suero de albúmina bovina (BSA) [61].

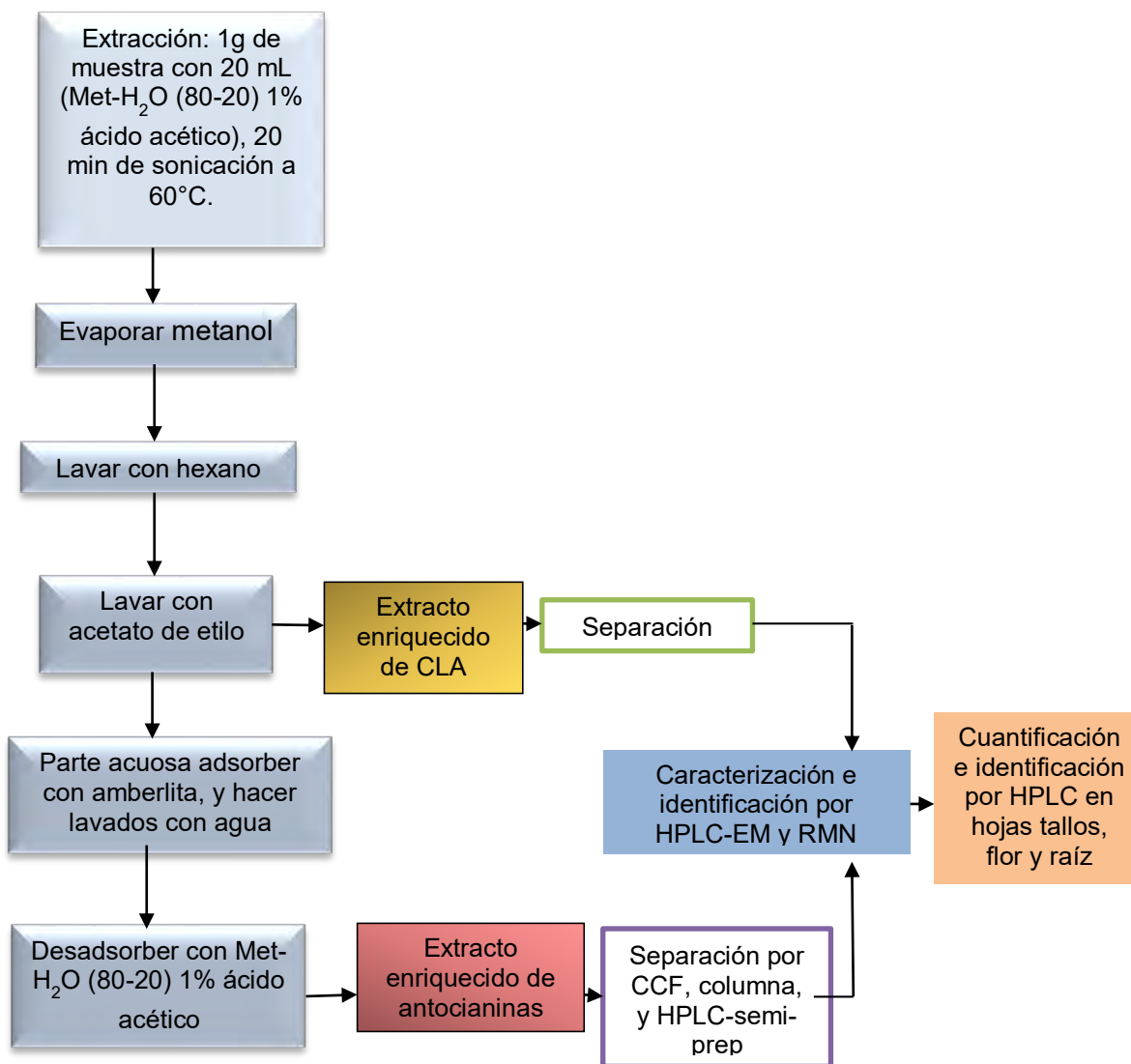
Para cada tratamiento de inactivación de la PFO y de PFO respectivamente se tomaron 0.10g de muestra y se colocaron en un matraz de 25mL al que se le adicionaron 20 mL de buffer de fosfatos pH 7 y 0.25 g de carbón activado. La solución se filtró al vacío con un embudo *Büchner* y una cama de Celita. De la fase líquida se tomó una alícuota de 1 mL y se le agregó 1 mL de reactivo de Bradford; posteriormente se vertió en una celda de cuarzo de 2 mL y se leyó en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 595 nm.

## 6.2 Etapa 2. Caracterización y cuantificación de compuestos bioactivos en *Ipomoea batatas* (L.) Lam variedad morada

En la etapa 2 se efectuó la identificación y caracterización de las principales antocianinas y ácidos fenólicos presentes en la raíces y hojas moradas de la variedad que se seleccionó en la etapa 1. Subsecuentemente se llevó acabo la



cuantificación de las antocianinas, ácidos clorogénicos e hidroxicinámicos purificados, en los diferentes órganos de la planta (hojas, flor, tallo y raíz). A continuación, se muestra un esquema de la purificación que se realizó para poder aislar los ácidos clorogénicos y antocianinas en hojas y raíz morada.



**Figura 6.2** Metodología para la caracterización de compuestos bioactivos de / batatas variedad morada.

### 6.2.1 Identificación de ácidos hidroxicinamoilquínicos e hidroxicinámicos

La fracción de acetato (Figura 6.2) se concentró, se pesó y se diluyó en metanol en una relación 1:20 para la identificación de los ácidos clorogénicos e hidroxicinámicos, por medio de CCF; utilizando placas de aluminio de gel de sílice, se eluyeron con la siguiente mezcla de disolventes: acetato de etilo: H<sub>2</sub>O: ácido fórmico (85:15:10); y se compararon sus RF's con los siguientes estándares comerciales (ChengDu Biopurify Phytochemicals):

- I. Ácido clorogénico
- II. Ácido cafeico
- III. Ácido 1,5 dicafeoil quínico
- IV. Ácido 1,3 dicafeoil quínico
- V. Ácido 3,4 dicafeoil quínico
- VI. Ácido 3,5 dicafeoil quínico
- VII. Ácido 4,5 dicafeoil quínico

Así mismo se efectuó la identificación por HPLC (Waters) (método modificado reportado por [62]) a una longitud de onda de 325 nm, en donde se utilizó una columna Hipersil-Gold C18 (250x4.5 mm, 5µm), 20 µL de inyección, flujo de 1.2 ml/min; las fase móviles que se utilizaron fueron A:H<sub>2</sub>O/ácido fórmico/ACN (87:10:03) y B: ACN (100) con el siguiente gradiente de elución:

**Tabla 6.2** Gradiente de elución en HPLC para la identificación de ácidos fenólicos.

Tiempo	%A	%B
-	97	3
45	75	25
47	70	30
56	97	3



Por tiempos de retención se hizo la asignación tentativa, comparando con los estándares comerciales previamente mencionados.

### **6.2.2 Separación y caracterización de los ácidos hidroxicinamoilquínicos**

Una vez que se llevó a cabo la identificación de los ácidos clorogénicos y se estableció el sistema de elución por cromatografía en capa fina y HPLC, se prosiguió a realizar la caracterización:

Se realizó una CCF- preparativa de 2 mm de espesor, en donde se colocaron 20 mg de extracto concentrado de acetato de etilo y se eluyó con acetato de etilo: H<sub>2</sub>O: ácido fórmico (85:15:10), y cada fracción de la placa fue extraída con metanol y concentrada

La fracción más abundante se analizó por espectrometría de masas modo positivo (IES<sup>+</sup>) con un potencial de capilar de -4.5Kv, con una temperatura de gas de secado de 200°C y flujo de 4 L/min. También se obtuvieron los espectros de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C de resonancia magnética nuclear, el extracto purificado se diluyó con metanol deuterado y se utilizó como estándar interno TMS, también se llevaron a cabo los experimentos bidimensionales: COSY, HMBC y HSQC (Anexo 1).

### **6.2.3 Cuantificación de ácidos hidroxicinamoilquínicos**

La identificación y cuantificación de los ácidos clorogénicos e hidroxicinámicos presentes en las raíces tuberosas, hojas verdes y moradas, tallos y flor de la variedad morada de Atlixco, Puebla. Se efectuó haciendo las curvas con los estándares comerciales en HPLC, con el método previamente mencionado.

### **6.2.4 Identificación de antocianinas**

El extracto purificado de antocianinas que resultó de la última fracción desadsorbida de la Amberlita con Met-H<sub>2</sub>O (80-20) y 1% ácido acético (figura 6.2); se concentró. Posteriormente, se efectuó la identificación de este por HPLC (Waters) a una



longitud de onda de 510 nm, en donde se utilizó una columna Hipersil-Gold C18, (método reportado por [62]) a una longitud de onda de 325 nm, en donde se utilizó una columna Hipersil-Gold C18 (250x4.5 mm, 5µm), 20 µL de inyección, flujo de 1.2 ml/min; las fases móviles que se utilizaron fueron A:H<sub>2</sub>O/ácido fórmico/ACN (87:10:03) y B: ACN (100) con el siguiente gradiente de elución:

**Tabla 6.3** Gradiente de elución en HPLC para la identificación de antocianinas.

Tiempo	%A	%B
-	97	3
45	75	25
47	70	30
56	97	3

Por tiempos de retención se efectuó la asignación tentativa de cada una de las antocianinas de acuerdo a la literatura.

### 6.2.5 Separación y caracterización de las antocianinas

Primero, el extracto purificado de antocianinas, se caracterizó por HPLC-EM modo positivo (IES<sup>+</sup>) Con un potencial de capilar de -4.5 Kv, con una temperatura de gas de secado de 200°C y flujo de 4 L/min, en donde se obtuvieron los pesos moleculares de 6 antocianinas en hojas moradas y 7 antocianinas en raíz tuberosa que fueron asignadas las estructuras con una biblioteca de antocianinas reportada en la literatura.

Por otro lado, se establecieron 3 métodos de separación para la obtención de estándares de antocianinas:

- En el primero; se llevó acabo la separación de antocianinas, aplicando 20mg del extracto purificado a una placa de aluminio de gel de sílice de 2 mm y se eluyó





con BAW: (6:1:3), método descrito por [63]. Cada zona colorida fue extraída con metanol-agua (80-20), 1% de ácido acético, y se analizó por  $^1\text{H-RMN}$  y  $^{13}\text{C-RMN}$ .

- En el segundo; se realizó una columna empacada con Shephadex (7g) y se le agregó 30mg del extracto purificado de antocianinas, y se eluyó con el siguiente gradiente al 1% de ácido acético:

H<sub>2</sub>O-----100%

H<sub>2</sub>O-Met----- 60-40%

H<sub>2</sub>O-Met----- 40-60%

Met----- 100%

- Cada fracción se concentró y se analizó por HPLC para asegurar la pureza de la posible antocianina y posteriormente analizó por  $^1\text{H-RMN}$  y  $^{13}\text{C-RMN}$ .
- En el tercer método de separación; se utilizó un HPLC (Agilent) en condiciones semi-preparativas. Las características de trabajo fueron previamente establecidas de acuerdo a la separación obtenida en el HPLC analítico. La columna con la que se usó fue la Hipersil-Gold semi- preparativa C18 (250x10 mm, 5 $\mu\text{m}$ ), 50  $\mu\text{L}$  de inyección, flujo de 2.5 ml/min; las fases móviles que se utilizaron fueron A: H<sub>2</sub>O/ácido fórmico/ACN (87:10:03) y B: ACN (100) con el siguiente gradiente de elución:

**Tabla 6.4** Gradiente de elución en HPLC- semi-preparativo para la separación de antocianinas.

Tiempo	%A	%B
-	97	3
45	75	25
47	70	30
56	97	3



Se colectaron las fracciones en los siguientes intervalos de tiempo:

**Tabla 6.5** Fracciones colectadas en HPLC- semi-preparativo para la separación de antocianinas.

Fracción	Tiempo (min)
1	8.5-11
2	12-14
3	17-20
4	20.5-24
5	24-26
6	28-29

Cada una de las fracciones se concentró y las más abundantes (3 y 4) fueron analizadas por resonancia magnética nuclear.

Se obtuvo la resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  del compuesto aislado que se encontró en mayor proporción en los métodos 1, 2 y 3 (Fracción 4) diluidos en metanol deuterado y 1% de ácido trifluoroacético, el estándar interno que se utilizó fue TMS; además, se llevaron a cabo los experimentos bidimensionales: COSY, HSQC y HMBC (Anexo 2).

Del método de separación 3, se analizó la fracción 3 únicamente por  $^1\text{H}$ -RMN, en las mismas condiciones experimentales, que anteriormente fueron mencionadas. (Anexo 3).

### 6.2.6 Cuantificación de antocianinas

Se realizó la cuantificación de las antocianinas previamente separadas y caracterizadas en las raíces tuberosas, hojas moradas, tallos y flor, haciendo curvas estándares en HPLC, con el método previamente mencionado.



### 6.3 Etapa 3. Elaboración de un *snack* de camote

Se elaboraron dos formulaciones de *snack*: pulpa (raíz cocida a vapor por 40 min) y harina (raíz liofilizada por 36h). Se utilizó la variedad mexicana de camote morado que presentó la mayor cantidad de compuesto bioactivos.

Las formulaciones a base de la raíz morada se propusieron con el propósito de inactivar a las enzimas (POD y PFO) y conservar las antocianinas y ácidos clorogénicos. A continuación, se describen las formulaciones:

- Formulación 1. *Snack* con harina de camote morado (SP)
  1. Se mezcló 20% harina de trigo con 20% de harina de camote y 1.8% de levadura.
  2. Por aparte se mezcló 30% de azúcar con 25% de mantequilla y 5% de huevo.
  3. Finalmente, se le adicionó la parte 1. a 2. y se horneó a 175°C por 20 min.
  
- Formulación 2. *Snack* con pulpa de camote morado (SH)
  1. Se mezcló 25% de harina de trigo con 1.8% de levadura
  2. Por separado se mezcló 25% de azúcar 15% de mantequilla y 2.5% de huevo.
  3. Y se agregó la mezcla 1. a 2. más 30% de pulpa de camote que previamente se coció y 10% de leche.

#### 6.3.1 Análisis químico

El análisis químico consistió en la identificación y cuantificación de antocianinas y ácidos clorogénicos en la masa antes y después de hornear de ambas formulaciones.



La extracción se realizó con acetona-agua (40-60) y 1% de ácido láctico, 20 min de sonicación a 60°C; posteriormente se hizo un lavado con hexano para eliminar las grasas y no interfiriera con las siguientes mediciones:

- Fenoles totales: por el método de Folin- Cicaltiuae, (ver parte experimental de la etapa 1).
- Antocianinas totales: por el método de pH-diferencial, (ver parte experimental de la etapa 1).
- Identificación y cuantificación de los ácidos clorogénicos por HPLC a 325 nm. (ver parte experimental de la etapa 2).
- Identificación y cuantificación de las antocianinas por HPLC a 510 nm, (ver parte experimental de la etapa 2).

### 6.3.2 Análisis instrumental

- Colorimetría

La evaluación de color en las dos formulaciones de snack (pulpa y harina) se llevó a cabo midiendo la reflectancia, utilizando el sistema CIE L\*a\*b\* C\* h y Hunter L a b, con el iluminante D65 (corresponde a la mezcla de luz solar y cielo nublado), y el componente especular excluido (SCE), se midió el color, apariencia, y se evaluó la diferencia de brillos.

Para la comparación de las formulaciones en cada uno de los parámetros evaluados se realizó un análisis de varianza (ANOVA), mediante un paquete estadístico STATGRAPHICS versión centurión XVII (Anexo 4).

- Evaluación instrumental de textura

Esta prueba en las dos formulaciones de snacks se realizó con un Texturómetro (*Stable Micro Systems*) TA-XT2 Plus (Haslemere, Inglaterra), con una sonda cilíndrica de aluminio, diámetro 50 mm (P50); para llevar a cabo la prueba de TPA



en donde se evaluaron los parámetros: Dureza, Adhesividad, Elasticidad, Cohesividad y Masticabilidad.

Para evaluar la diferencia estadística se realizó una prueba de medias LSD de Fisher.

### 6.3.3 Análisis sensorial

El análisis sensorial se hizo con el fin de comparar las dos formulaciones de *snack* (SP y SH) y analizar las preferencias del consumidor, asociadas principalmente al color. Las pruebas que se hicieron fueron un perfil Flash y pruebas afectivas.

#### - Perfil Flash

Para conocer el perfil sensorial de las muestras se evaluaron utilizando la metodología de perfil Flash, que consiste en la combinación del perfil libre elección y la evaluación comparativa, donde las personas que realizan la prueba describen los productos y escogen sus propios términos para evaluar los mismos. Los datos obtenidos pueden ser analizados por técnicas estadísticas [64].

Esta prueba se ejecutó con un panel integrado por 15 jueces entrenados, y calificaron ambos *snacks* utilizando una escala de intervalos estructurada, posteriormente fueron agrupados los atributos característicos de sabor y olor y apariencia y textura en dos dimensiones.

Los resultados de esta prueba se analizaron mediante el análisis Procrustes Generalizado (GPA) que es una técnica multivariante que tiene en cuenta los perfiles de libre elección; para generar consenso entre los panelistas, GPA transformó las matrices de datos individuales y así permitió la comparabilidad óptima [65]. Y se hizo un análisis de componentes principales (PCA) que es una técnica estadística, se utilizó para reducir el conjunto de variables dependientes (es decir, atributos) a un conjunto más pequeño de variables subyacentes (llamados factores) en base a los patrones de correlación entre las variables originales [66].



- Pruebas afectivas

Las pruebas afectivas, son pruebas en donde el panelista expresa el nivel de agrado, aceptación y preferencia de un producto alimenticio, puede ser frente a otro [67]. Se utilizó una escala hedónica para la calificación de las muestras

La prueba se realizó el 3 de septiembre de 2015 en el Anexo del Laboratorio 4D de la Facultad de Química bajo condiciones de: 23.4°C y 62% de Humedad. La evaluación fue aplicada un total de 53 consumidores de la Facultad de Química, los detalles se muestran en la Figura 6.3.



**Figura 6.3** Porcentaje de género de los consumidores evaluados.

Del total de consumidores, el 94% nunca ha consumido snacks de camote morado, y el 6% que lo ha hecho lo frecuenta una vez cada quince días.

## 7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1 Etapa 1. Selección de la variedad de *Ipomoea batatas* L. Lam por región productora y optimización de la extracción de compuestos bioactivos

En esta primera etapa se estudiaron variedades de camote morado por zona productora de México, y se seleccionó la que presentó mayor concentración de compuestos bioactivos (antocianinas totales (A.T.) y fenoles totales (F.T.), para su posterior análisis.

Asimismo, debido a que se observó que el camote morado (al ser partido en trozos pequeños comenzó a oscurecerse y posteriormente a endurecerse) contiene dentro su estructura PFO y POD, enzimas involucradas en la degradación de los compuestos fenólicos; se realizaron un par de tratamientos: térmico y secado por liofilización para detener dicha actividad, garantizar la conservación y optimizar la obtención de los compuestos bioactivos; por lo que a cada variedad se le cuantificó AT y FT en los dos tratamientos y en fresco; que se presentan en la Figura 7.1.

#### 7.1.1 Antocianinas totales por tratamiento para todas las variedades

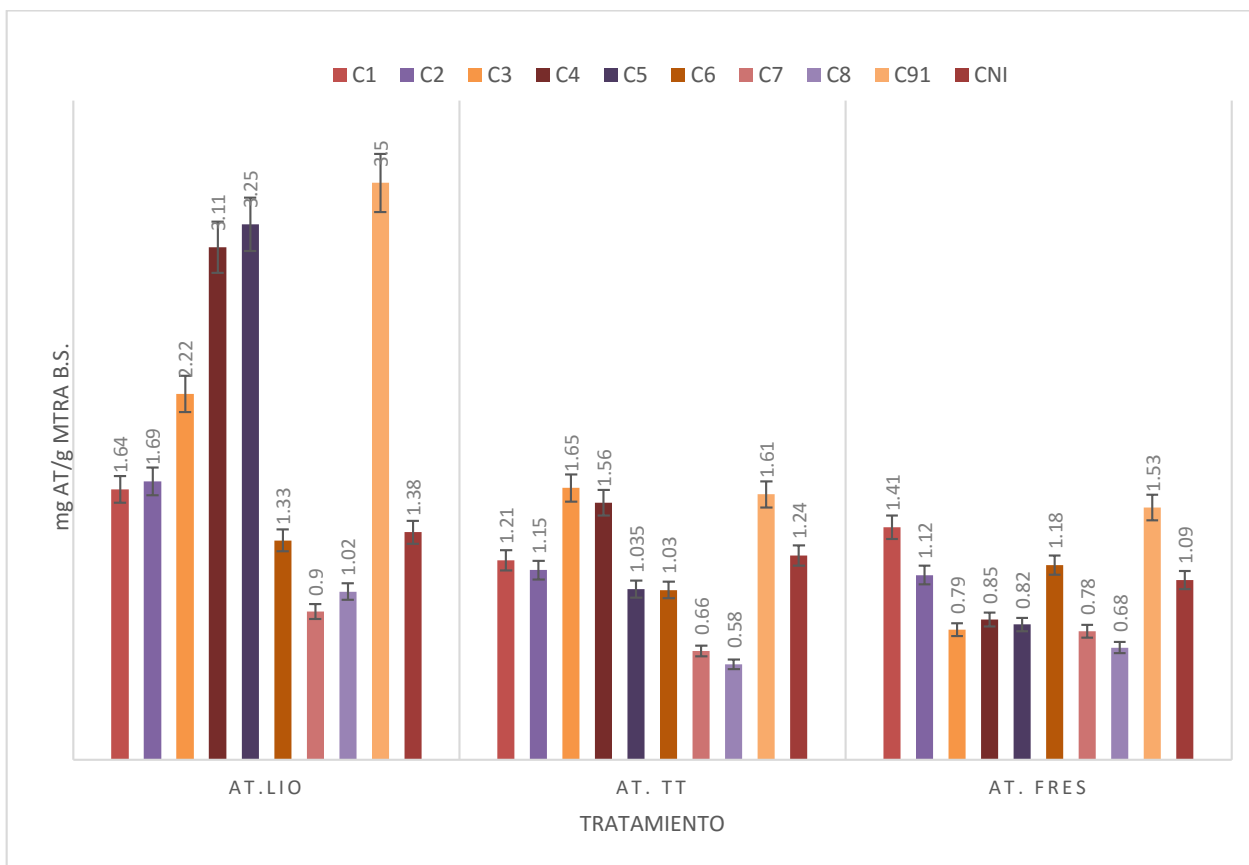
De acuerdo al ANOVA multifactorial, no existió diferencia estadística significativa con un nivel de confianza del 95% en la concentración de antocianinas totales de las 10 variedades de la raíz tuberosa; pero si entre los tratamientos, siendo diferente el secado por liofilización e iguales el fresco y el térmico.

El tratamiento térmico resultó no optimizar la obtención de antocianinas con respecto al fresco, esto se debió a dos posibles hipótesis: la primera consiste en que la raíz tuberosa contiene una gran cantidad de almidón que al ser expuesta a temperaturas elevadas se gelatinizó (gelificación del almidón en camote oscila entre 63-74°C [68]) y se hinchó (hinchazón de camote blanco y morado se reportó temperaturas superiores a los 80°C por [69]) , lo que provocó un aumento de la viscosidad y limitó la difusión eficiente de antocianinas hacía el disolvente; y la



segunda hipótesis que se tiene es que existe degradación térmica de las antocianinas como lo plantea [70] quienes cuantificaron la concentración de cada una de las antocianinas en camote fresco (1342 mg/100g B.S.) y lo compararon con camote cocido a 200°C por 40 min (751 mg/100g B.S.), mostrando una disminución del 50%.

El secado por liofilización fue el tratamiento más óptimo para la extracción de antocianinas, debido a que este secado se caracteriza por causar el menor daño a los tejidos celulares, conservando íntegramente los compuesto termosensibles [71], además de que limita la acción de las enzimas oxidasas, que posteriormente se inactivaron, ya que se hizo la extracción en medio ácido a 60°C.



**Figura 7.1** Cuantificación de AT (mg/g mtra B.S.) en cada una de las variedades de camote morada por región productora de México; y por tratamientos: liofilizado, térmico y en fresco.





Por otro lado, haciendo la comparación (Tabla 7.1) de la concentración de antocianinas totales en diferentes variedades de camote morado conocidas en el mundo, el mexicano registra una concentración de 3.5 mg/g B.S. que está entre los valores más altos descritos para las variedades no mejoradas, ya que cabe destacar que la variedad Shinzami (variedad coreana) con 13.42 mg/g B.S. y p40 con 13.92 mg/g B.S. son mejoradas de camotes enriquecidos de antocianinas, tras un proceso de selección de las mejores plántulas obtenidas del CIP (Lima, Perú) [30].

**Tabla 7.1 Comparación del contenido de antocianinas de camote morado en diferentes variedades. [30]**

Variedad	Antocianinas mg/g B.S.	Referencia
Stokes Purple	3.28	[48]
NC 415	1.78	[30]
Okinawa	0.65	[30]
Shinzami	13.42	[34]
AyaMurasaki	2.61	[72]
NDOP5847-1 (red-fresh potato)	1.75	(M. Mónica Giusti and Wrolstad 2003)
P40	13.9	[30]
10 variedades mexicanas	1.02-3.5	

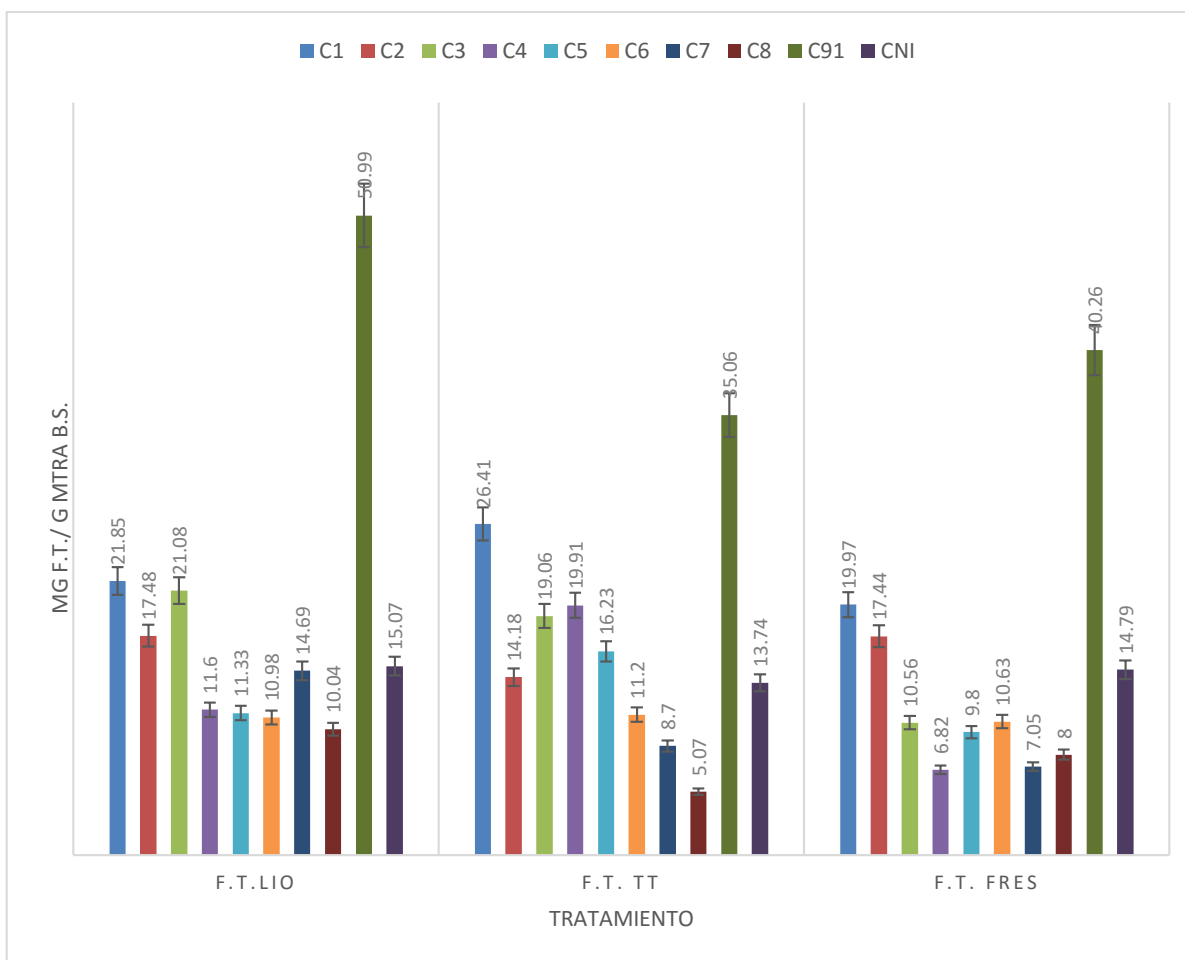
### 7.1.2 Fenoles totales (FT) por tratamiento en todas las variedades

Para la cuantificación de fenoles totales (Figura 7.2) se realizó un ANOVA multifactorial, y se mostró que no existió diferencia estadística significativa con un 95% de confianza entre los tratamientos; pero si entre las 10 variedades de raíz tuberosa.

Sin embargo, C91 fue la variedad que mostró cantidades más elevadas de fenoles totales (35.07-50.99 mg/g B.S.); en fresco, y en los dos tratamientos. De igual forma que en las antocianinas, el tratamiento térmico fue el que obtuvo una extracción más



deficiente, pero sin mostrar una diferencia estadística significativa entre cada variedad; de igual forma las hipótesis que pueden explicar estos resultados son: la gelatinización del almidón provocada por la temperatura de vapor impide la difusión de los compuestos al exterior, siendo insuficiente la sonicación como método de extracción, o por la degradación de los compuestos sensibles al calor. Nuevamente la liofilización fue el tratamiento más eficiente, ya que detiene la actividad enzimática y/o no daña significativamente los compuestos fenólicos.



**Figura 7.2** Cuantificación de FT (mg/g mtra B.S.) en cada una de las variedades de camote morado por región productora de México; y tratamientos liofilizado, térmico y en fresco.



Reportan [22] en el genotipo NCPUR06-020 (camote morado) obtenido en una línea de crianza y desarrollado por el programa de mejoramiento de camote NCSU; una concentración de fenoles totales de 39.92 mg/g B.S, mientras que la mejor variedad mexicanas presentó 10 mg más, con una concentración de 50.99 mg/g B.S.

Una vez definido que el C91 (Atlixco, Puebla) fue la variedad con mayor contenido de antocianinas y fenoles totales, se prosiguió a hacer el estudio de todos los órganos de la planta de camote morado; primero se cuantificaron antocianinas y fenoles en la raíz tuberosa de primera (C91), segunda (C92) y tercera (C93) calidad también llamada colas (clasificación asignada de acuerdo a la talla de la raíz tuberosa al mismo tiempo de cosecha, definiendo esta como la madurez comercial, Figura 7.3) siendo las más grandes C91 y las más pequeñas C93; obteniéndose los resultados que se presentan en la Figura 7.4.



**Figura 7.3** Clasificación por talla del camote. De izquierda a derecha: 1ra, 2da y 3ra calidad.

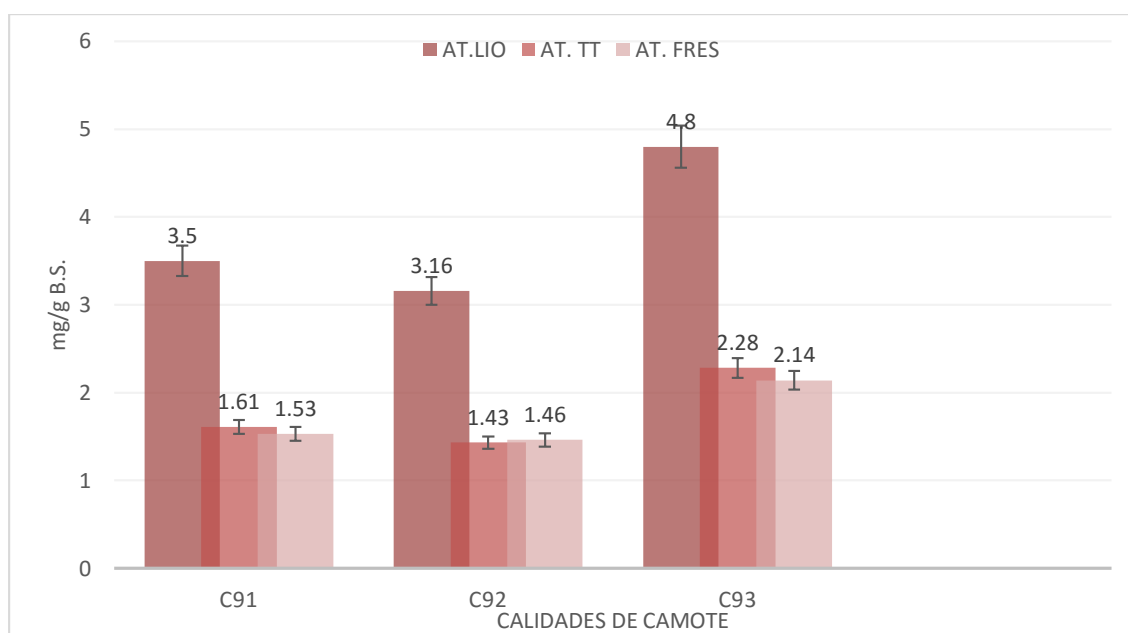
Se observa en la Figura 7.4 que, en las tres calidades, en los dos diferentes tratamientos y el fresco, el camote de tercera calidad (C93) obtuvo la concentración



más elevada de antocianinas totales (se reportaron 4.8 mg/g B.S.) a pesar de ser la variedad de tamaño más pequeña.

Se tiene la hipótesis de que esta diferencia en concentraciones se debió a que el camote de tercera calidad por la profundidad a la que encuentra, a diferencia de los de segunda y tercera que están más cercanos a la superficie, están sometidos a una gran deficiencia de minerales [74], mayor estrés osmótico y temperaturas más elevadas; favoreciendo de esta forma la síntesis de antocianinas comparado con el C91 y C92 que se encuentra localizadas más cercanas a la superficie de la tierra.

Esta abundancia y escasez de nutrientes a través de toda la raíz de camote se ve reflejada en el tamaño ya que C91 y C92 son más robustas y la C93 más pequeña

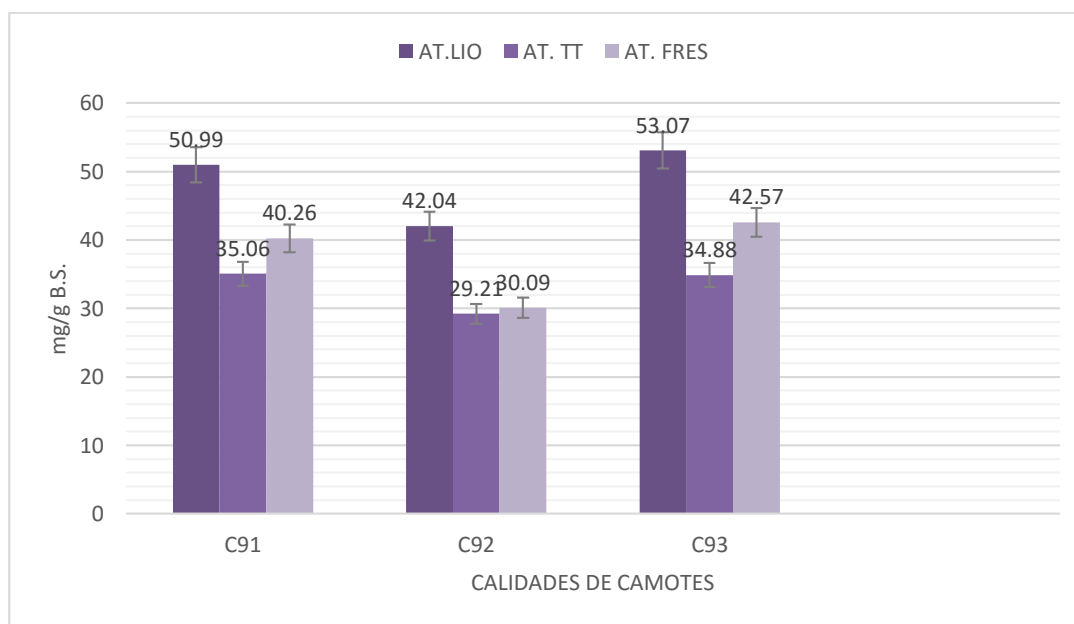


**Figura 7.4** Cuantificación de A.T. (mg/g mtra B.S.) en cada una de las tres calidades de camote morado por tratamiento liofilizado, térmico y en fresco.

Los resultados obtenidos de la cuantificación de fenoles totales en las tres calidades de la raíz tuberosa se muestran en la figura 7.5.

No existió diferencia estadística significativa con un 95% de confianza en la obtención de fenoles totales entre C91 y C93, pero si con C92 y C93 en los dos tratamientos y en camote fresco. Sin embargo, el C93 obtuvo los valores más altos de fenoles. Se cree que se debió a la deficiencia de nutrientes, favoreciendo la formación de fenoles, específicamente antocianinas y flavonoides. Boscaiu, *et. al.*, 2010 [75] reportan aumento en las concentraciones de fenoles y flavonoides totales cuando someten a *Gypsum Habitats* a condiciones de estrés de temperaturas elevadas, deficiencia de nutrientes y concentraciones altas de sal.

Dentro de los tratamientos a los que fueron sometidos las raíces tuberosas en las tres calidades, tanto para antocianinas como para fenoles, el secado por liofilización fue el que mostró concentraciones más elevadas, sobre todo de antocianinas totales y entre el tratamiento térmico y el fresco no existió diferencia estadística significativa de extracción de compuestos bioactivos.



**Figura 7.5** Cuantificación de fenoles totales (mg/g mtra B.S.) en cada una de las tres calidades de camote morado por tratamiento liofilizado, térmico y en fresco.

De la misma forma, se hizo la cuantificación de antocianinas y fenoles totales en las hojas verdes y moradas, tallos (Figura 7.6) y flor de camote (Figura 7.7).

En la Tabla 7.2 se muestra que todos los órganos de la planta *Ipomoea batatas* morada cuentan con una distribución considerable de antocianinas, a excepción de las hojas verdes que en las condiciones experimentales de este trabajo no presentó cantidades cuantificables. En el resto de los órganos la mayor concentración de antocianinas se localiza en la raíz, seguida por las hojas moradas, flor y tallos.

Sin embargo, no pasa lo mismo con la distribución de fenoles totales, ya que la mayor concentración se encuentra tanto en las hojas verdes (78.66 mg/g B.S.) como en las moradas (77.63 mg/g B.S.), sin mostrar diferencia estadística significativa con un 95% de confianza entre ellas; podría decirse que la elevada concentración de fenoles no se debe específicamente a las antocianinas, sino a otros grupos de compuestos fenólicos. En el resto de los órganos, las antocianinas representan aproximadamente, el 10% sobre el total de fenoles.

Las raíces tuberosas (C93) también muestran una alta concentración de fenoles totales con 53.07 mg/g B.S., seguida por la flor; y los tallos, son los que exponen los valores más bajos con 15.26 mg/g B.S

**Tabla 7.2** Cuantificación de antocianinas y fenoles totales (mg/g mtra. B.S.) de los diferentes órganos de la planta de *I. batatas*

Órgano de la planta	Antocianinas totales mg/g muestra seca	Fenoles Totales mg/g muestra seca
Hojas verdes	N/C	78.66 ± 2.16
Hojas Moradas	2.36 ± 0.17	77.63 ± 2.64
Tallos	0.72 ± 0.025	15.26 ± 0.86
Flor	1.49 ± 0.089	23.37 ± 1.68
C93	4.8 ± 0.21	53.07 ± 2.72





**Figura 7.6** Hojas verdes, tallos y hojas moradas de la planta de *I. batatas* variedad morada.



**Figura 7.7** Flor de la planta de *I. batatas* variedad morada.

### 7.1.3 Cuantificación de la PFO por tratamiento en la raíz tuberosa

Con la finalidad de obtener y conservar la mayor concentración de compuestos bioactivos, específicamente antocianinas y fenoles totales, se realizaron dos tratamientos (térmico y secado por liofilización); a los que además de cuantificarles dichos compuestos, se les evaluó la actividad de las enzimas involucradas en la degradación de fenoles: PFO y POD. Los resultados para PFO se muestran en la Tabla 7.3.

El porcentaje de inactivación se calculó en función del camote sin tratamiento (fresco) y se manifestaron que para la polifenoloxidasa (responsable de reacciones de oscurecimiento enzimático durante la manipulación del camote morado) una inactivación con el tratamiento térmico de 77.86% (vaporización a 90°C durante 40 minutos) y con la liofilización el 21.84 %.

El tratamiento térmico no mostró una inactivación de la PFO, probablemente a que faltó más tiempo de exposición al vapor ya que por la morfología característica de la raíz tuberosa, la temperatura no se alcanzó a difundir completamente al centro del tejido, y/o a que la PFO de camote morado es termo resistente y necesitaba temperaturas más altas para ser completamente inactivada. Manohan y Wai, 2012 [52] reportan que existe desnaturalización de la PFO en camotes amarillos a temperaturas que oscilan entre los 65-75°C

En la liofilización se buscaba que por la remoción del agua disminuyera la actividad enzimática de la PFO, pero, cuando se puso de nuevo en solución (buffer de fosfatos pH 7), esta recuperó su actividad. Una posible explicación de la inactivación de la PFO (21.84%) es la desestabilización de estas, como lo señala Wang, 2000 [76], quien dice que en el proceso de liofilización, las proteínas pueden ser desestabilizadas por el estrés debido al aumento de la concentración de solutos, la variabilidad del pH y la formación de cristales de hielo.





**Tabla 7.3** Cuantificación de la Polifenoloxidasas y compuestos bioactivos presente en la raíz en los diferentes tratamientos.

PFO	Actividad (U/mL)	Actividad específica (U/mg)	% de inactivación	AT (mg/g B.S.)	FT (mg/g B.S.)
Fresco	0.29±0.032	13.46±1.5	0	2.14	42.57
Liofilizado	0.23±0.014	10.52±0.98	21.84	4.80	53.07
T. térmico	0.18±0.020	2.98±0.76	77.86	2.28	34.88

#### 7.1.4 Cuantificación de la POD por tratamiento en la raíz tuberosa

Así como para PFO, se calculó la actividad de POD, ya que se observó que, cuando se dejó el camote morado a temperatura ambiente, este se pardea y endurece en la superficie y en la pulpa ocurre un proceso similar. Otros procesos en los que participan las POD son la suberización, lignificación y cicatrización de heridas como respuesta general de estrés, y protección contra el ataque de patógenos en plantas [77]. Sin embargo, estas reacciones son indeseables para los fines de este estudio en el camote morado; ya que limita la extracción de compuestos bioactivos. Los tratamientos de la muestra propuestos para inactivar la acción de la POD fueron térmico y secado por liofilización. Se evaluó el porcentaje de inactivación enzimático en función del camote sin tratamiento (fresco), como se observa en la Tabla 7.4 el secado por liofilización alcanzó una inactivación del 58.53%; este tratamiento lo único que hizo fue disminuir la actividad enzimática; y se tiene la misma hipótesis que para PFO: el proceso de secado inestabiliza a las enzimas, provocando una disminución en su actividad.

El tratamiento térmico logró una inactivación total (100%), que, comparada con la PFO y de acuerdo a estos experimentos, la PO resultó ser una enzima más sensible a la temperatura y al proceso de secado por liofilización.



**Tabla 7.4** Cuantificación de la Peroxidasa presente en la raíz en los diferentes tratamientos.

POD	Actividad (U/mL)	Actividad específica (U/mg)	% de inactivación	AT (mg/g B.S.)	FT (mg/g B.S.)
Fresco	0.26±0.037	4.22±0.33	0	2.14	42.57
Liofilizado	0.11±0.016	1.75±0.14	58.53	4.80	53.07
T. térmico	0	0	100	2.28	34.88

En general ambas enzimas se ven mayormente afectadas por el tratamiento térmico limitando su actividad de degradación sobre los compuestos fenólicos, que por el liofilizado; sin embargo, como ya se había mencionado anteriormente el tratamiento térmico es poco eficiente por la composición misma del camote para la obtención de compuestos bioactivos.

Por lo tanto, para el desarrollo de las siguientes etapas, se utilizó la variedad de la raíz tuberosa obtenida de Atlixco, Puebla de tercera calidad (C93) con el secado por liofilización; ya que, aunque no es el mejor tratamiento para inactivar a las enzimas (PFO y POD), si es el más eficiente para la conservación de los compuestos de interés; debido a que detiene la actividad enzimática permitiendo la manipulación de la muestra para su posterior uso, ya sea haciendo tratamientos en solución ácida y/o con tratamientos térmicos.

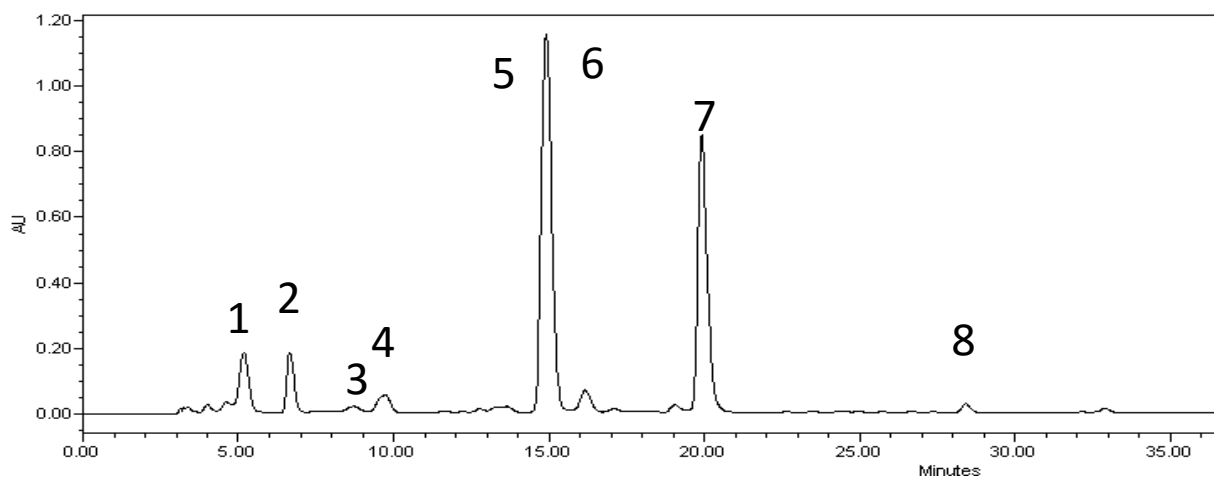


## 7.2 Etapa 2. Caracterización y Cuantificación de compuestos bioactivos en la planta *Ipomoea batatas* (L.) Lam

De todas las variedades estudiadas de camote morado la de Atlixco, Puebla 3ra calidad (C93), fue la que mostró los valores más altos de A.T. y F.T.; con esta variedad se prosiguió a la identificación, caracterización y cuantificación de las antocianinas, ácidos hidroxicinamoilquínicos e hidroxicinámicos mayoritarios en toda la planta de *I. batatas*.

### 7.2.1 Identificación de ácidos hidroxicinamoilquínicos e hidroxicinámicos

Para la identificación por HPLC (325 nm) de los ácidos hidroxicinamoilquínicos e hidroxicinámicos, se utilizó la fracción purificada de acetato de etilo concentrando; obteniéndose el perfil cromatográfico que se muestra en la figura 7.8.

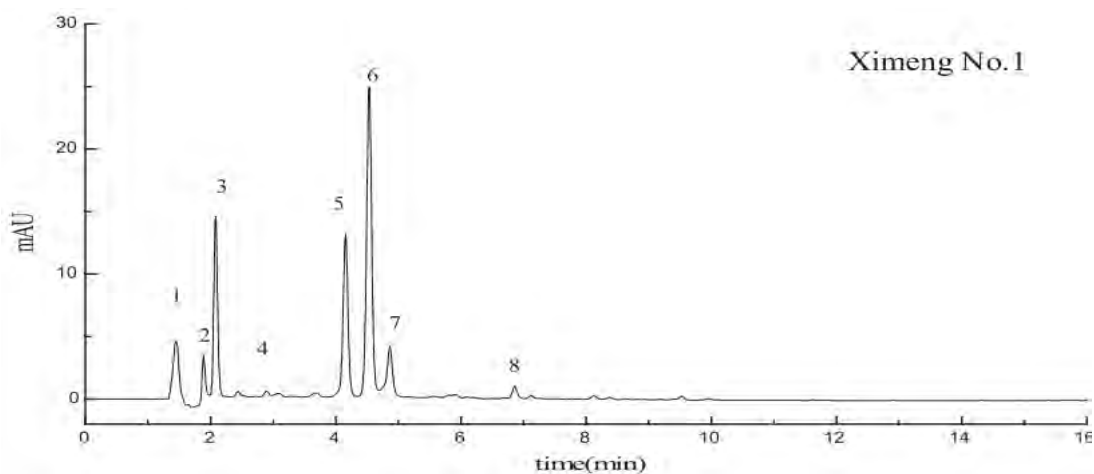


**Figura 7.8** Cromatograma de los ácidos fenólicos en la hoja de camote.



**Tabla 7.5** Ácidos fenólicos identificados por tiempos de retención en las hojas de camote.

Pico	Ácido	Masa
1	Ácido cafeico (I)	180.2
2	Ácido clorogénico (II)	353.0
3	Ácido 1,3 -di-O-cafeoil-quínico (III)	515.1
4	Ácido 1,5 -di-O-cafeoil-quínico (IV)	515.2
5	Ácido 3,4-di-O-cafeoil-quínico (V)	515.1
6	Ácido 3,5-di-O-cafeoil-quínico (VI)	515.1
7	Ácido 4,5-di-O-cafeoil-quínico (VII)	515.1
8	Ácido 3,4,5-tri-O-cafeoil-quínico (VIII)	677.1

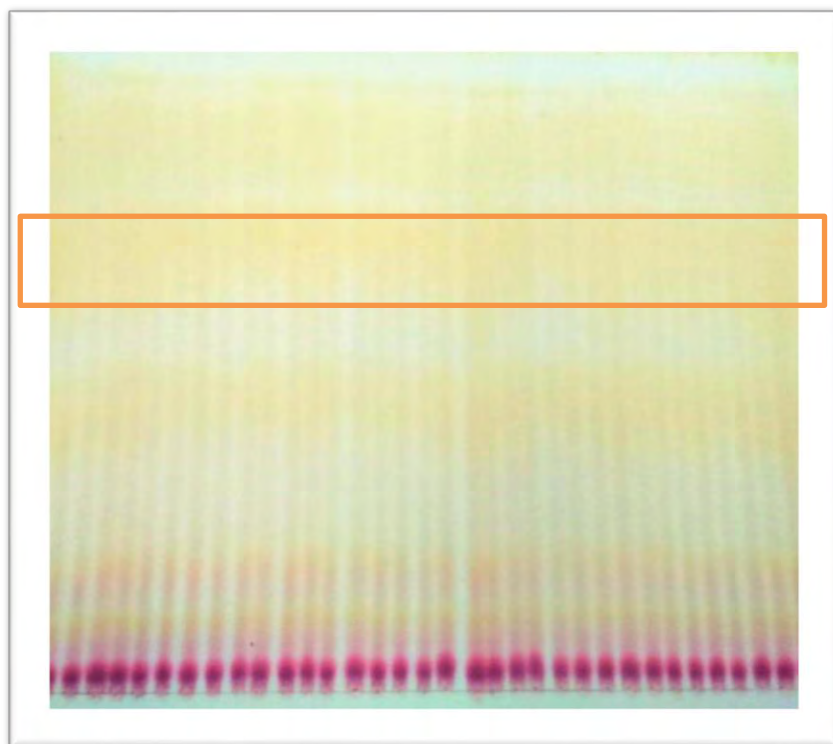


**Figura 7.9** Cromatograma de los ácidos fenólicos en la hoja de camote de la variedad Ximeng No. 1. Pico 1: 5-CQ, pico 2: 3-CQ, pico 3: 4 CQ, pico4: AC, pico 5: 4-5 DCQ, pico 6: 3-5 DCQ, pico 7: 3-4 DCQ, pico 8: 3-4-5 TCQ. [45]

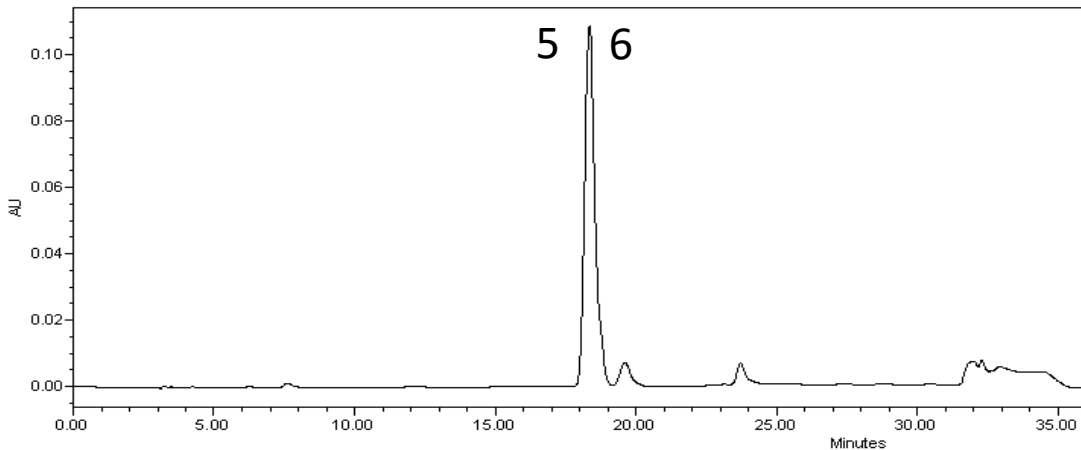
Por tiempos de retención comparados con la literatura Tabla 7.5, (empleando condiciones experimentales equivalentes) se asignaron tentativamente las estructuras químicas de cada uno de los ácidos fenólicos (Figura 7.9). Posteriormente se confirmaron los tiempos de retención, con los estándares comerciales (Chengdu Biopurify Phytochemicals Ltd).

### 7.2.2 Caracterización de ácidos hidroxicinamoilquínicos e hidroxicinámicos

Para la separación de los ácidos hidroxicinamoilquínicos e hidroxicinámicos se utilizó la cromatografía en capa fina de gel de sílice (2 mm) y se eluyó con una mezcla de acetato de etilo-agua-ácido fórmico (Figura 7.10), en la que se separó una fracción de la cual se obtuvieron 5mg de compuesto que en HPLC mostró un solo pico, el cual se atribuyó a uno de los ácidos DCQ (Figura 7.11).

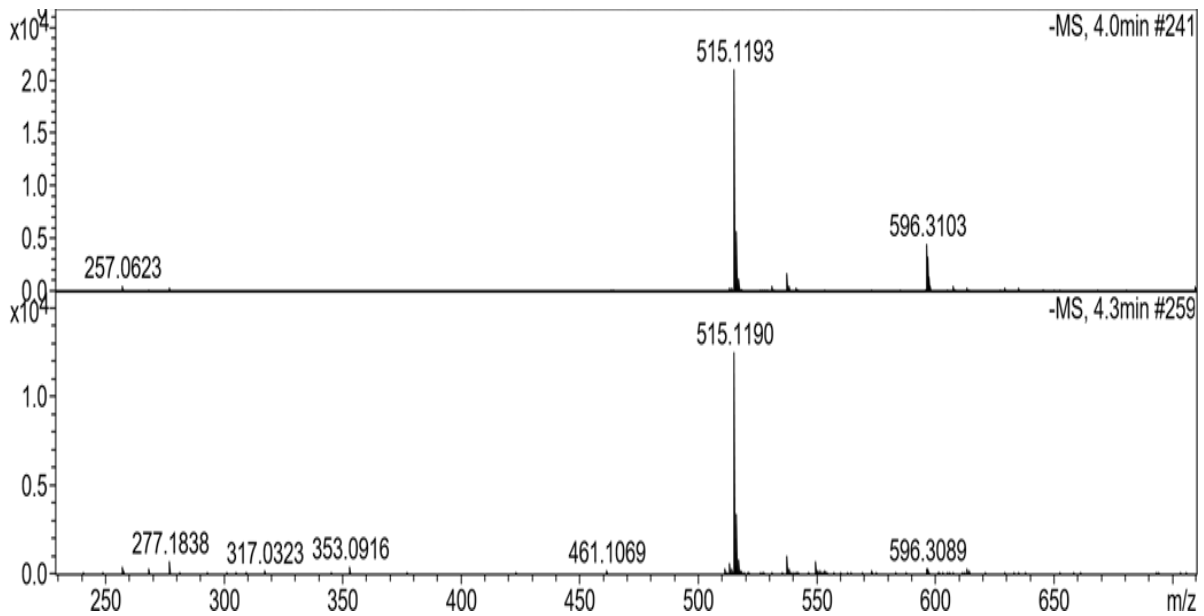


**Figura 7.10** Cromatografía en capa fina de un extracto enriquecido de fenoles. Mostrando en el recuadro la zona aislada.



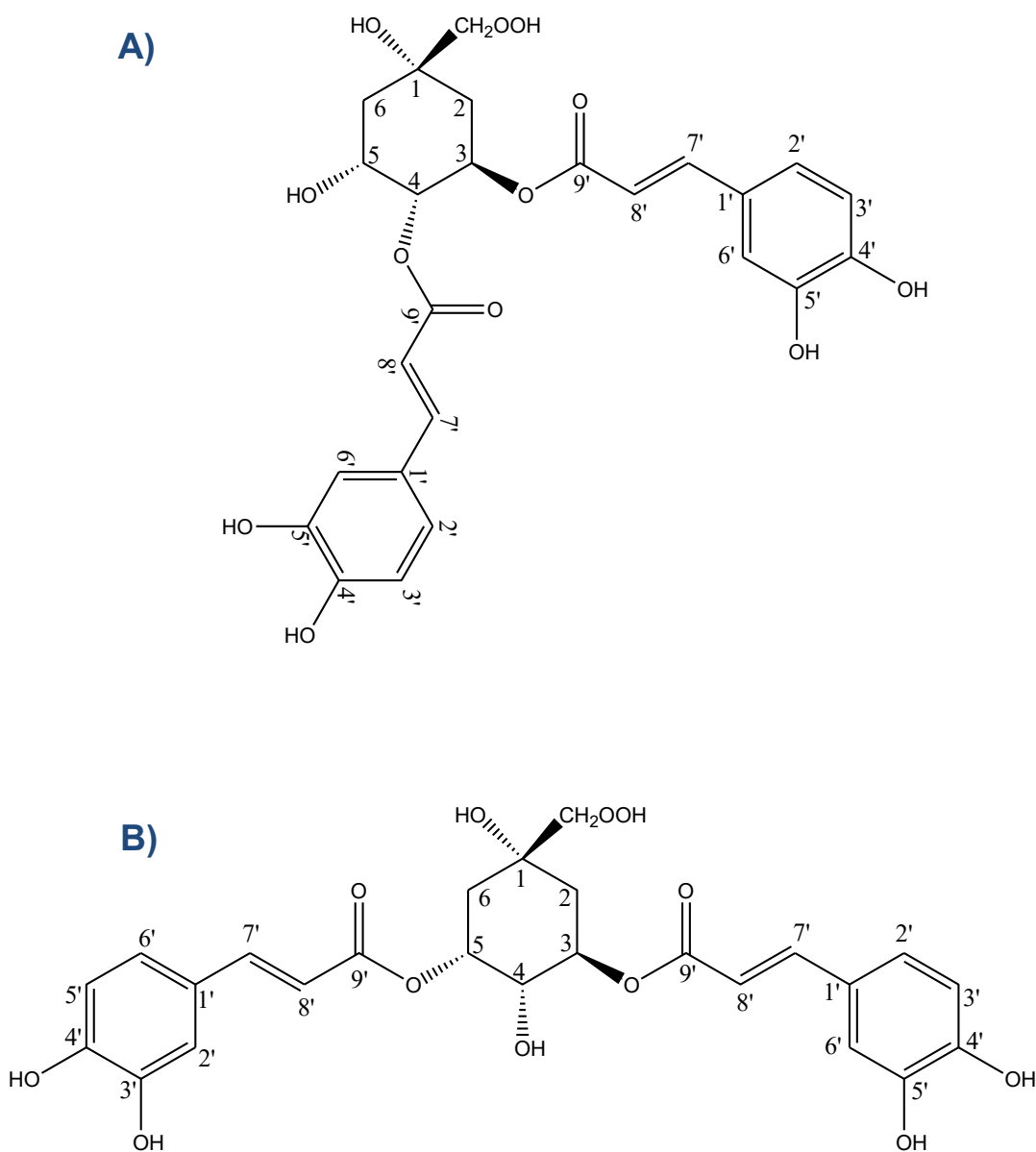
**Figura 7.11** Cromatograma de la región aislada por CCF.

Sin embargo, cuando se analizó por espectrometría de masas (Figura 7.12), mostró 2 iones moleculares con un  $m/z$  de 515, que correspondía al peso de dos ácidos cafeoil-quínicos, estudios previos indicaban que se podía tratar de 5 isómeros posicionales. Para determinar a cuál correspondía se realizó un estudio de resonancia magnética nuclear para poder confirmar su estructura.



**Figura 7.12** Espectro obtenido de la región aislada por CCF.





**Figura 7.13** Estructura de la mezcla de compuestos aislados. A) 3,4-DCQ y B) 3,5-DCQ.

De resonancia magnética nuclear se obtuvieron los espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , además se realizaron los experimentos bidimensionales: COSY, HSQC y HMBC.

Con el espectro de  $^1\text{H}$ , únicamente se asignaron las señales de los dos quínicos presentes y los cuatro ácidos cafeícos, sin embargo, para determinar la conectividad fue necesario hacer el análisis de los experimentos 2D, específicamente COSY. En



este experimento por la correlación de los hidrógenos en la posición 5-4-3 se estableció que se trataba de los isómeros en la posición 3,4 y 3,5. Consecutivamente se realizó la asignación de las señales de carbono con los experimentos HSQC y HMBC y  $^{13}\text{C}$  (los desplazamientos y constantes de acoplamiento se muestran en la tabla 7.6).

También por la intensidad de señal en el espectro de RMN- $^1\text{H}$ , se hizo la consideración, que la proporción de ambos ácidos es de 2 a 1 del 3,5 ácido de di-cafeoil-quinico con respecto al 4,3 ácido-di- cafeoilquinico (Figura 7.13).

Y, por lo tanto, en el gradiente cromatográfico utilizado en HPLC en esta investigación ambos ácidos aparecen al mismo tiempo de retención.

Esto se confirmó totalmente al obtener los estándares comerciales, que se analizaron bajo las mismas condiciones y dichos ácidos fenólicos, tienen el mismo tiempo de retención. Así mismo se aseguró el tiempo de retención del resto de los ácidos: el ácido clorogénico, ácidos 1,3;1,5; 3,4; 3,5; 4,5 -di-cafeoil-quinicos y del ácido cafeico.

**Tabla 7.6** Desplazamientos de  $^1\text{H}$ -RMN y  $^{13}\text{C}$ -RMN de los ácidos 3-4 y 3-5 DCQ.

Número de carbono	Desplazamiento RMN- $^1\text{H}$	Desplazamiento RMN- $^{13}\text{C}$	Desplazamiento RMN- $^1\text{H}$	Desplazamiento RMN- $^{13}\text{C}$
1		37.2		37.4
2	2.13 - 2.25 (m)	39.2	2.28-2.36 (m)	41.3
3	5.72 (m)	69.8	5.40 (dt) J= 7.3,4.6	73.9
4	5.10 (dd) J= 3.0, 9.7 Hz	78.3	4.03 (dd) J= 7.3,3.3 Hz	71.7
5	4.42 (dd) J= 7.1,3.1 Hz	71.0	5.40 (m)	72.9
6	2.13-2.23 (m)	37.5	2.28-2.36 (m)	40.4
1'/1'		129.1		129.4
2'/2'		112.7		113.5
3'/3'		148.0		147.9
4'/4'		150.4		150.2





5'/5'	7.01/6.99 (d) J=8.5 Hz	124.1	6.87/6.88 (d) J= 8.1 Hz	117.9
6'/6'	7.16/7.17 (d) J=8.5 Hz	116.9	7.11/7.12 (d) J= 5.0	116.8
7'/7'	7.51/7.55 (d) J= 15.8 Hz	147.4	7.57/7.59 (d) J= 15.9	147.4
8'/8'	6.24/6.24 (d) J= 15.9 HZ	117.3	6.31/6.31 (d) J= 14.4 Hz	118.0
9'/9'		168.3		168.8
COO		177.7		178.3

### 7.2.3 Identificación de antocianinas

Primero, con HPLC se determinó por tiempos de retención el perfil de antocianinas (Figura 7.15) en donde se identificaron tentativamente y de acuerdo a lo reportado por [1] (utilizaron un método similar de gradiente por HPLC, al utilizado en esta investigación) 10 antocianinas para pulpa y cáscara, y 10 antocianinas para hojas moradas (Figura 7.14).

No obstante, para poder confirmar la identificación de las antocianinas se realizó un análisis de HPLC-EM, en donde por pesos moleculares (Tabla 7.7) se asignaron las estructuras de 6 antocianinas en pulpa y cáscara, y 5 antocianinas en hojas moradas, dichos pesos fueron comparados con una librería de 31 antocianinas de camote morado [70]. Pero, el peso molecular de la antocianina 1 presente en raíz y hojas moradas no se encuentra reportada en dicha biblioteca, por lo que se tiene la hipótesis de que se trata de la cianidina 3- *p*-hidroxibenzoil-soforosido-5-glucosido, sin una molécula de glucosa (162 m/z) [78], o de un dímero de la galoi-procianidina (730 m/z) [79].

Como se muestra en la Tabla 7.7 todas las antocianinas identificadas en la variedad mexicana C93 son mono o di aciladas con ácidos: cafeico, ferúlico, *p*-cumárico y *p*-hidroxibenzoico; por otro lado, la variedad de camote morado chino YAN No.176 [79], la variedad Ayamurasaki de Japón [80] y la p40 [30], reportan acilación con los ácidos cafeico, ferúlico y *p*- hidroxibenzoico pero no con cumárico.



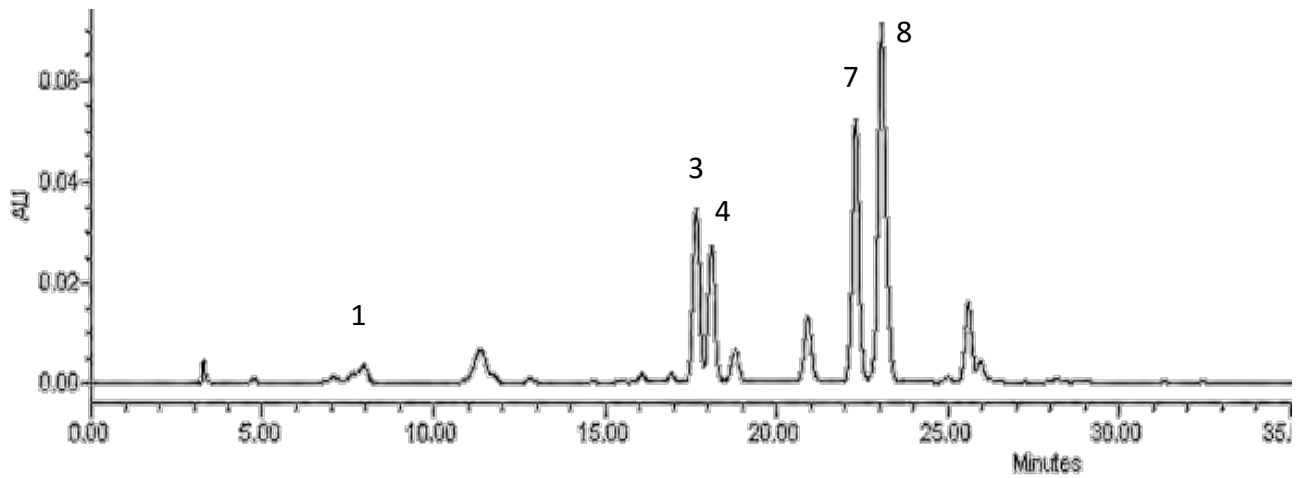
De las antocianinas identificadas por HPLC-EM ,4 (1,3,7 y 8) de las 5 presentes en la raíz se encuentra también en las hojas. La antocianina número 4 solo fue identificada en hojas moradas.

Siendo la peonidina 3-(cafeoil-*p*-hidroxibenzoil soforosido)-5- glucosido (pico 7) la más abundante en el camote morado mexicano lo mismo que en el camote morado coreano [70] y el de Okinawa [48], sin embargo; el camote morado del Norte de Carolina (USA) reporta a la peonidin 3-(6''-cafeoil soforosido)-5-glucosido con un peso molecular de 949 g/mol como la antocianina mayoritaria [43] lo mismo que la variedad China [1].

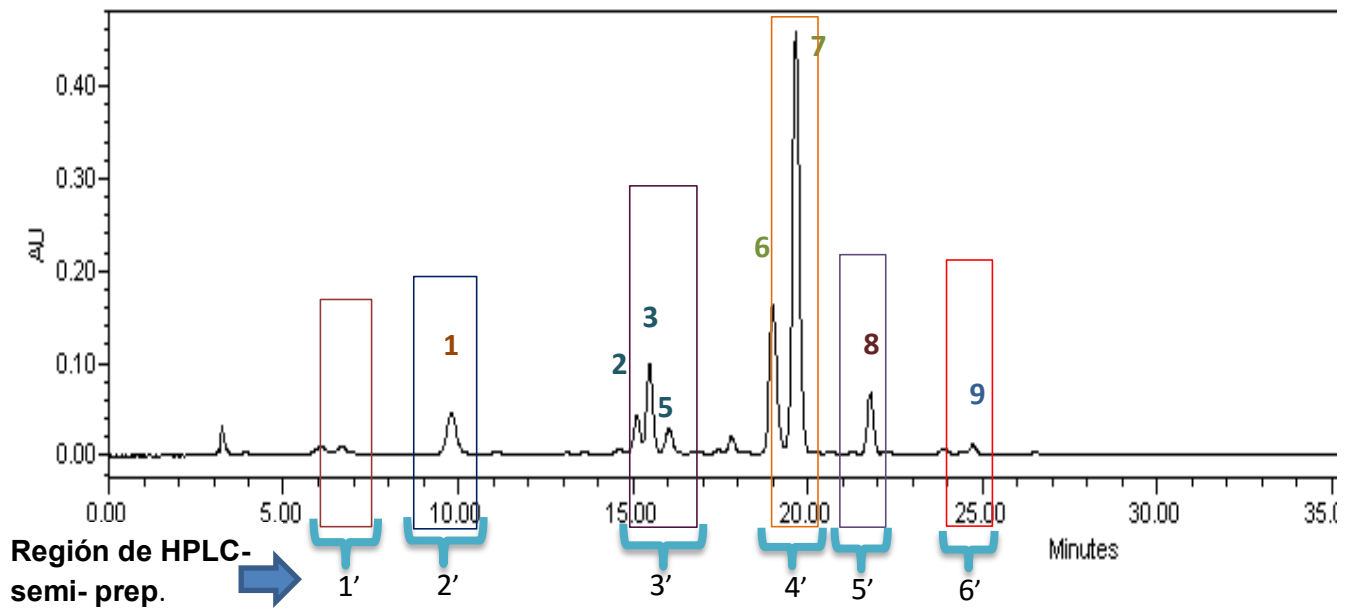
**Tabla 7.7** Identificación de por HPLC-EM de las antocianinas presentes en la raíz y hoja variedad morada.

Pico	Antocianina	Peso	Órgano de la planta
1	Cianidina 3- <i>p</i> -hidroxibenzoil-soforosido-5-glucosido o Dímero de la galloil-procianidina	731	Raíz y hoja
2	Cianidina 3- (6''feruloil soforosido)-5-glucosido	949	Raíz
3	<b>Peonidina 3- (feruloil-<i>p</i>-cumaril soforosido)-5-glucosido</b>	<b>1109</b>	<b>Raíz y hoja</b>
4	Cianidina-3-(6''-cafeoil-6'''- <i>p</i> -hidroxibenzoil soforosido)-5-glucosido	1055	Hoja
5	<b>Cianidina-3-(6'6''-dicafeoil soforosido)-5-glucosido</b>	<b>1097</b>	<b>Raíz</b>
6	Cianidina-3-(6''-cafeoil-6'''feruloil soforosido)-5-glucosido	1111	Raíz
7	<b>Peonidina 3-(cafeoil-<i>p</i>-hidroxibenzoil soforosido)-5- glucosido</b>	<b>1069</b>	<b>Raíz y hoja</b>
8	Peonidina-3-(6''-cafeoil-6'''feruloil soforosido)-5-glucosido	1125	Raíz y hoja





**Figura 7.14** Cromatograma de hojas moradas. Identificada por tiempo de retención 10 antocianinas y 5 estructuras confirmadas por espectrometría de masa.



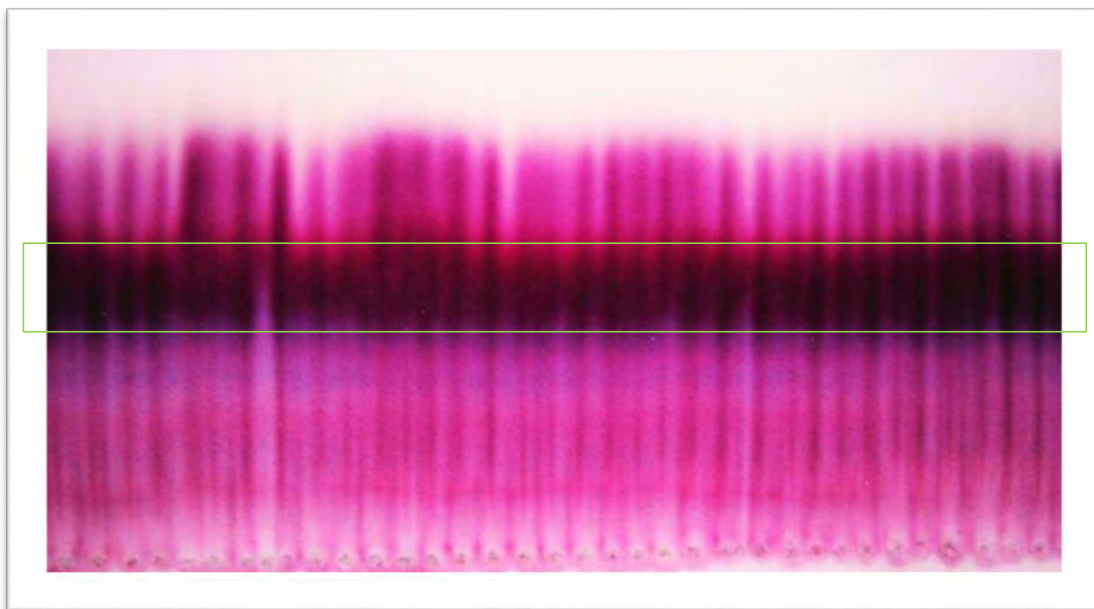
**Figura 7.15** Cromatograma de la raíz moradas. Identificada por tiempo de retención 10 antocianinas y 7 estructuras confirmadas por espectrometría de masa. También se muestras 6 regiones separas por HPLC-semi preparativo.



#### 7.2.4 Caracterización de antocianinas

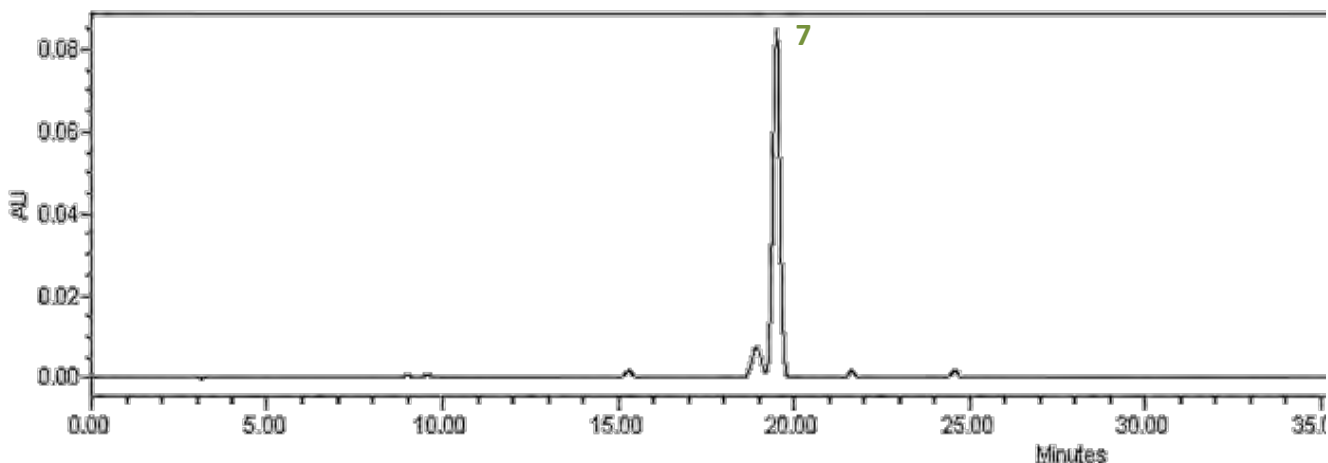
Posteriormente, para poder obtener los estándares de cada una de las antocianinas presentes en la variedad morada mexicana se probaron diferentes maneras de separación, siendo las más eficientes la separación por cromatografía en capa fina en donde se utilizó 20mg de extracto purificado de antocianinas, y se eluyó con BAW (figura 7.16); y la separación por columna de Sephadex con 30 mg de extracto purificado y con un gradiente de elución de metanol-agua- ácido; en estas dos técnicas aunque se observaron diversas bandas rosadas únicamente se logró separar eficientemente la antocianina número 7 de la que se obtuvieron 8 mg, como se muestra en el cromatograma (Figura 7.17).

Por lo que se montó un sistema de separación por HPLC- semi- preparativo en donde se fijaron las mismas condiciones que en el HPLC analítico y se lograron separar 6 regiones como se muestra en la figura 7.15. Sin embargo, únicamente se alcanzó a analizar por RMN la región 3' y 4' ya que son las regiones más abundantes y por lo tanto de las que se obtuvo mayor cantidad de muestra.



**Figura 7.16** Cromatografía en capa fina del extracto enriquecido de antocianinas de raíz de camote. Marcado en el recuadro la sección aislada (antocianina 7).





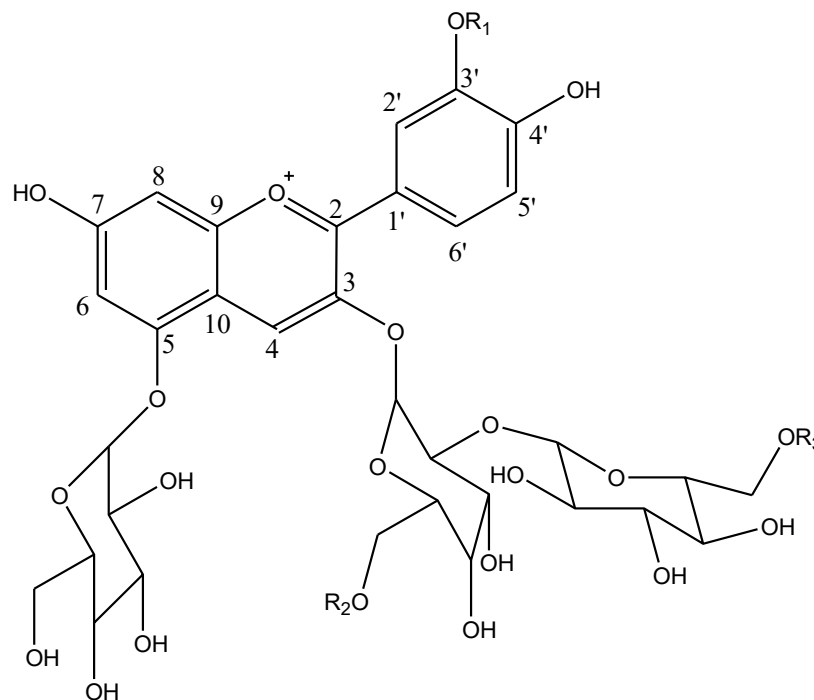
**Figura 7.17** Cromatograma de la antocianina aislada (7) por los diferentes métodos de separación probados en esta investigación.

De las regiones analizadas (3' y 4') por resonancia magnética nuclear, la región 4' resultó ser la más pura y se obtuvo una mayor cantidad de muestra, por lo que se logró adquirir el espectro de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$ ; así como los experimentos de dos dimensiones: COSY, HSQC y HMBC (se muestran los desplazamientos de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  en la tabla 7.8).

Con el espectro de  $^1\text{H}$  se asignaron las señales características de la antocianidina que por el singulete a 3.99 ppm propio del  $-\text{OCH}_3$  se determinó que se trataba de una peonidina, en este mismo espectro, se asignaron los hidrógenos correspondientes a los ácidos hidroxibenzoicos que acilan a la antocianina en estudio y se determinó que se trataba de dos ácidos, uno de ellos correspondía a un ácido cafeíco, ya que se identificó una constatación de acoplamiento grande a campo bajo, entre 6 y 7 ppm particular del enlace  $\alpha$ - $\beta$  insaturado y de un ácido *p*-hidroxibenzoico, señales características entre 6.40 y 7.40 ppm; los glicósidos se asignaron en la región de campo alto en el espectro  $^1\text{H}$  (3-5 ppm), pero únicamente se detectaron los hidrógenos de los carbonos anoméricos, ya que el resto aparecían como multipletes complejos, poco separados; por los que con los experimentos bidimensionales, específicamente COSY se logró asignar el resto de los hidrógenos de las 3 moléculas de glicósido, y por medio del espectro HSQC y HMBC se realizó la correlación de los hidrógenos con los carbonos; finalmente con el



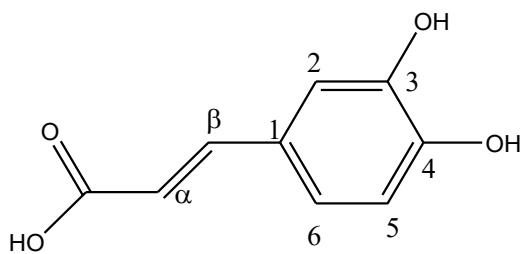
espectro de  $^{13}\text{C}$  se asignaron los carbonos cuaternarios de toda la molécula, concluyéndose, que se trataba de la Peonidina 3-(cafeoil-*p*-hidroxibenzoil soforosido)-5- glucosido con un peso molecular de 1069 m/z (Figuras 7.18 y 7.19).



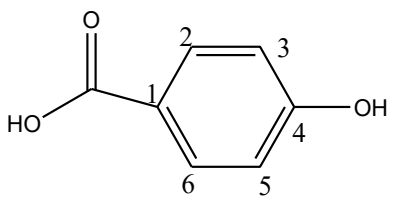
$R_1 = -\text{H}$  (para Cianidina) o  $-\text{OCH}_3$  (para peonidina)

**Figura 7.18** Estructura de las antocianinas presentes en la planta de camote morado.

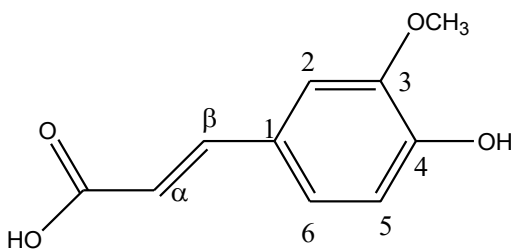




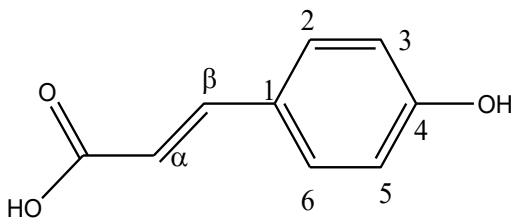
Ácido cafeico



Ácido *p*-hidroxibenzoico



Ácido ferúlico



Ácido cumárico

**Figura 7.19** Estructuras de los ácidos hidroxibenzoicos con los que están aciladas las antocianinas encontradas en esta investigación en el camote morado mexicano.



**Tabla 7.8** Desplazamientos de  $^1\text{H}$ -RMN y  $^{13}\text{C}$ -RMN de la Peonidina 3-(cafeoil-p-hidroxibenzoil soforosido)-5- glucosido.

Número de carbono	Desplazamientos $^1\text{H}$ -RMN	Desplazamientos $^{13}\text{C}$ -RMN
<b>Aglicón</b>		
2		167.1
3		146.0
4	8.87 (s)	138.5
5		159.0
6	6.95 (d), J=1.6 Hz	104.0
7		169.2
8	6.97 (d), J= 2.0 Hz	96.2
9		158.3
10		117.2
1'		121.4
2'		117.4
3'	7.95 (d), J= 1.9 Hz	147.3
4'		148.3
5'	7.01(d) J= 8.7 Hz	114.7
6'	8.26 (dd) J= 8.26, 2.1 Hz	128.5
OMe	3.99 (s)	55.3
<b>Glucosa-a</b>		
1	5.25 (d) J= 7 Hz	100.9
2	3.74 (m)	76.5
3	3.92 (m)	77.1
4	3.87 (m)	70.8
5	3.60 (m)	71.2
6(a,b)	3.57-3.344 (m)	65.5
<b>Glucosa-b</b>		
1	4.78 (d) J=7.1 H	104.4
2	3.45 (m)	72.2
3	3.23 (m)	71.6
4	3.47 (m)	73.3
5	3.33 (m)	78.9
6(a,b)	3.41-3.44 (m)	63.4
<b>Glucosa-c</b>		
1	5.25 (d) J= 7.9	103.5
2	3.88 (m)	77.1
3	3.36 (m)	74.4
4	3.27 (m)	78.2
5	3.50 (m)	75.9
6(a,b)	3.51-3.55 (m)	62.7
<b>Ga-6-Caf</b>		





1		130.9
2	6.88 (d) J= 1.8	113.6
3		146.3
4		147.4
5	6.72 (d) J= 8.3	114.9
6	6.77 (d) J= 4.4	121.7
A	5.94 (d) J= 17.4	112.8
B	7.21 (d) J= 15.8	145.6
Carbonil		173.1
Gb-6- <i>p</i> -Hidroxi		
1		126.3
2	7.36 (d) J= 8.6	130.8
3	6.40 (d) J= 8.6	115.3
4		161.8
5	6.40 (d) J= 8.6	115.5
6	7.36 (d) J= 8.6	130.8
Carbonil		168.5

La región 3 que se observa en el cromatograma (figura 7.15) corresponde a una mezcla de antocianinas, dado que la cantidad de muestra fue baja solo se obtuvo un espectro de  $^1\text{H-RMN}$  (desplazamientos en la tabla 7.9), sin embargo, fue posible determinar que se trata de dos antocianinas, ya que aparecieron dos señales en la misma proporción a campo bajo como singuletes (8.89 y 8.81 ppm) que corresponden a los hidrógenos en la posición 4. Una de ellas es la cianidina y la otra por la señal a 3.88 ppm se determinó que se trataba de una peonidina, que como ya se había mencionado, esta señal se debe al  $-\text{OCH}_3$ .

Por otro lado, se detectaron 6 carbonos anoméricos entre 3 y 5 ppm pertenecientes a los 6 glucósidos; así mismo se determinó que estaban presentes 4 ácidos hidroxibenzoicos, por lo que se determinó, que uno de ellos corresponde al ácido ferúlico por el singulete en 3.66 característico del  $-\text{OCH}_3$ . También se presentaron 8 señales con una constante de acoplamiento alta, por lo que se descartó la presencia de ácidos *p*-hidroxibenzoico.

Finalmente, se logró determinar a qué moléculas correspondían en su totalidad por los tiempos de retención y pesos asignados previamente, dichas antocianinas



fueron: Peonidina 3- (feruloil-*p*-cumaril soforosido)-5-glucosido y Cianidina-3-(6'6"-dicafeoil soforosido)-5-glucosido con un peso molecular de 1109 y 1097 respectivamente (Figuras 7.18 y 7.19).

**Tabla 7.9** Desplazamientos de  $^1\text{H}$ -RMN de la Cianidina 3- (dicafeoil soforósido)-5-glucósido y de la Peonidina 3-(feruloil-*p*-cumaroil soforosido)-5- glucosido.

Número de carbono	Desplazamientos $\text{H}^1$ -RMN	Desplazamientos $\text{H}^1$ -RMN
<b>Aglicón</b>	<b>Cianidina</b>	<b>Peonidina</b>
4	8.89 (s)	8.81 (s)
6	6.92 (d), J=1.5 Hz	6.78 (d) J=1.8 Hz
8	6.94 (d), J= 2.0 Hz	6.84 (d) J=1.9 Hz
3'	7.96 (d), J= 1.3 Hz	7.93 (d) J=2.2 Hz
5'	6.88 (d) J= 2.1 Hz	6.87 (d) J= 2.0 Hz
6'	8.24 (dd) J= 8.5, 2.1 Hz	8.19 (dd) J= 8.8, 2.1 Hz
OMe	-----	3.88 (s)
<b>Glucosa-a</b>		
1	5.31 (d) J= 7.1 Hz	5.28 (d) J= 6.9
<b>Glucosa-b</b>		
1	4.95 (d) J=8.7 Hz	4.77 (d) J= 5.6 Hz
<b>Glucosa-c</b>		
1	5.22 (d) J= 7.8 Hz	5.20 (d) J= 7.9 Hz
<b>Ga-6-</b>	<b>Caf</b>	<b>Fer</b>
2	6.75 (d) J= 2.4 Hz	7.20 (d) J=5.2 Hz
5	6.67 (d) J= 1.0 Hz	6.61 (d) J=2.9 Hz
6	6.72 (dd) J= 8.6, 1.6 Hz	6.62 (dd) J= 3.5,2.4 Hz
A	6.00 (d) J= 15.9 Hz	6.45 (d) J= 8.8 Hz
B	7.23 (d) J= 15.0	7.40 (d) J= 8.6 Hz
OMe	-----	3.66 (s)
<b>Gb-6-</b>	<b>Caf</b>	<b><i>p</i>-Cum</b>
2	6.75 (d) J= 3.2 Hz	
3	-----	
5	6.65 (d) J= 2.3 Hz	
6	6.69 (dd) J = 5.5, 1.5 Hz	
A	5.94 (d) J= 13.6 Hz	6.40 (d) J= 8.7 Hz



## 7.2.4 Cuantificación de antocianinas, ácidos hidroxicinamoilquínicos e hidroxicinámicos en los órganos de *I. batatas*

Finalmente se realizaron las curvas estándares (Tabla 6.9) de los de las antocianinas: Peonidina 3-(cafeoil-*p*-hidroxibenzoil soforosido)-5- glucosido, Peonidina 3- (feruloil-*p*-cumaril soforosido)-5-glucosido y Cianidina-3-(6'6"-dicafeoil soforosido)-5-glucosido y de los ácidos hidroxicinamoilquínicos e hidroxicinámicos: I, II, III, IV, V, VI y VII; para cuantificar estos compuestos en los diferentes órganos de la planta de camote morada: Hoja verde, hoja morada, tallo, flor y raíz.

**Tabla 7.10** Ecuación de la recta y coeficiente de correlación lineal de cada uno de los estándares purificados en esta investigación \* y los obtenidos comercialmente \*\*.

Compuesto	Ecuación de la recta	Coefficiente de correlación lineal
Peo 3-(6'Caf- 6'' <i>p</i> -hidroxi sof)-5-glucosido *	$y = 1 \cdot 10^7 x + 11656$	$R^2 = 0.999$
Peonidina 3-(fer- <i>p</i> -cum sofo)-5-glucosido *	$y = 1 \cdot 10^7 x + 2 \cdot 10^5$	$R^2 = 0.994$
Cian3-(6'6"-dicafsof)-5-glucosido *	$y = 1 \cdot 10^7 x + 2 \cdot 10^5$	$R^2 = 0.994$
Ácido cafeico **	$y = 7 \cdot 10^7 x + 5 \cdot 10^6$	$R^2 = 0.996$
Ácido clorogénico **	$y = 8 \cdot 10^7 x + 3 \cdot 10^6$	$R^2 = 0.990$
Ácido 1-3 DCQ **	$y = 1 \cdot 10^8 x + 4 \cdot 10^6$	$R^2 = 0.995$
Ácido 1-5 DCQ **	$y = 2 \cdot 10^8 x + 3 \cdot 10^6$	$R^2 = 0.998$
Ácido 3-4 DCQ **	$y = 1 \cdot 10^8 x + 2 \cdot 10^6$	$R^2 = 0.996$
Ácido 3-5 DCQ **	$y = 1 \cdot 10^8 x + 2 \cdot 10^6$	$R^2 = 0.9999$
Ácido 4-5 DCQ **	$y = 1 \cdot 10^8 x + 2 \cdot 10^6$	$R^2 = 0.999$



De acuerdo a los coeficientes de correlación lineal presentados en la tabla 7.10 de la curvas estándares, se puede decir que son curvas con una alta fiabilidad, al tener cifras de  $R^2$  por arriba de 0.99.

En la cuantificación que se muestra tabla 7.11, se encontró que el órgano de *I. batata* que presenta la mayor cantidad de antocianinas totales es la raíz (con más del doble de concentración del resto de las partes de la planta), seguida por las hojas moradas, flor y tallo.

La Peonidina 3-(cafeoil-*p*-hidroxibenzoil soforosido)-5- glucosido en hoja morada, flor y raíz, constituye más del 50% de las antocianinas totales; tratándose en la variedad morada mexicana de una antocianina di-acilada, proporcionando de esta manera una mayor estabilidad a pH y temperatura, aumentando sus posibilidades de esta planta para ser utilizada en diversos procesos alimentarios, sin que su color sea degradado y conserve sus propiedades bioactivas.

Los otros dos estándares de antocianinas, que se purificaron en este estudio, se cuantificaron en una relación de 50-50 del estándar total, representando una menor concentración en flor raíz y tallo.

Mientras que en la hoja morada solo se identificó y cuantificó la Cianidina-3-(6´6"-dicafeoil soforosido)-5-glucosido, ya que la Peonidina 3- (feruloil-*p*-cumaril soorosido)-5-glucosido no se encuentra presente en este órgano.



**Tabla 7.11** Antocianinas totales (mg/g B.S.) y antocianinas purificadas (mg/g B.S.).  
 \*\*\*Antocianinas cuantificadas al 50%.

Órgano	Antocianinas Totales	Peo 3-(caf- <i>p</i> -hidroxi sof)-5-glucosido	Peo3- (fer- <i>p</i> -cum sof)-5-glucosido***	Cian-3-(6'6"-dicaf sof)-5-glucosido***
Flor	1.49 <sup>bc</sup> ± 0.089	0.80 <sup>c</sup> ± 0.051	0.014 <sup>e</sup> ± 0.002	0.014 <sup>e</sup> ± 0.002
Hoja Morada	2.36 <sup>b</sup> ± 0.17	1.16 <sup>bc</sup> ± 0.068	N.I.	0.062 <sup>e</sup> ± 0.009
Tallo	0.72 <sup>c</sup> ± 0.025	0.23 <sup>cd</sup> ± 0.007	0.010 <sup>e</sup> ± 0.003	0.010 <sup>e</sup> ± 0.003
Raíz tuberosa	4.80 <sup>a</sup> ± 0.21	3.34 <sup>a</sup> ± 0.146	0.100 <sup>d</sup> ± 0.036	0.100 <sup>d</sup> ± 0.036

<sup>abcde</sup> Distinta letra indica que existe diferencia estadísticamente significativa entre las columnas para un mismo atributo de textura,  $\alpha=0.05$

Para fenoles, la planta de camote morado exhibió en general una alta concentración de los totales, en particular, las hojas moradas y verdes presentan los valores más altos, cinco veces más de la concentración que reporta la flor y el tallo. Sin embargo, con respecto a la raíz no se observa una diferencia significativa. (Tabla 7.12).

Por otro lado, las hojas verdes tienen las cifras más altas de ácido clorogénico (I), mientras que del resto de los dicafeoil quínicos (III, IV, V, VI y VII) y el ácido cafeico presenta concentraciones muy bajas.

Las hojas moradas, aunque muestran valores más bajos del ácido clorogénico (7.21 mg/g B.S.), tienen los valores más altos de los ácidos dicafeoil quínicos (22.28 mg/g B.S.), así como del ácido cafeico (0.97 mg/g B.S.).

Dentro de los ácidos dicafeoil quínicos, el más abundante es el VI (3,5-DCQ) en las hojas moradas, flor, tallo y raíz. Seguido por el V, II, VII, I, III y IV en las hojas moradas, flor y raíz de *I. batatas*.

Xi, *et, al*, 2015 y Jung *et, al*, 2011 [45],[17] reportan también que la mayor concentración de área en HPLC de un extracto de hojas de camote correspondió al compuesto VI, seguido por el VII, V, II, y I. No obstante, Jeng, *et.al*, 2014 [3],



muestran en su investigación una proporción de los ácidos cafeoil quínicos en hoja, similar a la de este trabajo, es decir, el mayoritario fue el VI, seguido por el V, II, VII, y I.

Por otro lado, Jung, *et. al*, 2011 [17] asegura que el color y la variedad de camote pueden influir en los niveles y perfiles de antocianinas y carotenos, pero no de la concentración de fenoles totales, sin embargo, hace la especificación de que en la variedad de pulpa blanca existe mayor concentración del ácido clorogénico, mientras que la morada tiene mayor contenido de los dicafeoil quínicos. En este trabajo se concluye lo mismo en términos de hojas moradas y hojas verdes. Ya que ambas tienen valores similares de fenoles totales, pero las verdes con mayor contenido de ácido clorogénico y las moradas de cada uno de los derivados de cafeoil quínico



**Tabla 7.12** Fenoles totales (mg/g B.S.) y ácidos fenólicos cuantificados por órgano de la planta.

Órgano	Flor	Hoja V.	Hoja M.	Tallo	Raíz
F.T.	10.67 <sup>c</sup> ± 0.95	78.66 <sup>a</sup> ± 2.16	77.63 <sup>a</sup> ± 2.64	23.37 <sup>bc</sup> ± 1.68	53.04 <sup>b</sup> ± 2.72
A.C. (I)	0.004 <sup>d</sup> ± 8*10 <sup>-5</sup>	0.47 <sup>e</sup> ± 7.5*10 <sup>-3</sup>	0.97 <sup>f</sup> ± 0.025	0.52 <sup>e</sup> ± 0.012	0.22 <sup>e</sup> ± 3.3*10 <sup>-3</sup>
5-ACL (II)	0.52 <sup>e</sup> ± 0.083	11.27 <sup>c</sup> ± 0.23	7.21 <sup>c</sup> ± 0.11	8.71 <sup>c</sup> ± 0.16	7.03 <sup>c</sup> ± 0.13
1,3-DCQ (III)	0.013 <sup>d</sup> ± 2.1*10 <sup>-4</sup>	0.006 <sup>d</sup> ± 1.5*10 <sup>-4</sup>	0.084 <sup>d</sup> ± 2.2*10 <sup>-3</sup>	0.022 <sup>f</sup> ± 3.9*10 <sup>-4</sup>	0.019 <sup>eh</sup> ± 4.3*10 <sup>-4</sup>
1,5-DCQ (IV)	0.013 <sup>e</sup> ± 2.1*10 <sup>-4</sup>	0.006 <sup>e</sup> ± 1.5*10 <sup>-4</sup>	0.084 <sup>d</sup> ± 2.2*10 <sup>-3</sup>	0.022 <sup>d</sup> ± 3.9*10 <sup>-4</sup>	0.019 <sup>d</sup> ± 4.3*10 <sup>-4</sup>
3,4-DCQ (V)	1.26 <sup>f</sup> ± 0.030	0.34 <sup>e</sup> ± 7.1*10 <sup>-3</sup>	7.00 <sup>c</sup> ± 0.11	1.62 <sup>f</sup> ± 0.045	1.03 <sup>ef</sup> ± 0.026
3,5-DCQ (VI)	2.52 <sup>f</sup> ± 0.042	0.68 <sup>ef</sup> ± 0.012	14.00 <sup>f</sup> ± 0.25	3.24 <sup>f</sup> ± 0.084	2.06 <sup>e</sup> ± 0.029
4,5-DCQ (VII)	0.076 <sup>g</sup> ± 1.9*10 <sup>-3</sup>	0.008 <sup>d</sup> ± 1.3*10 <sup>-4</sup>	1.11 <sup>f</sup> ± 0.027	0.005 <sup>d</sup> ± 1.5*10 <sup>-4</sup>	0.694 <sup>e</sup> ± 0.018

abcedefl Distinta letra indica que existe diferencia estadísticamente significativa entre las columnas para un mismo atributo de textura,  $\alpha=0.05$

### 7.3 Etapa 3. Elaboración de un snack de camote morado

Se elaboraron un par de formulaciones de snack a base de camote morado, uno utilizando pulpa de camote previamente cocida y otra con harina de camote liofilizada; con el fin de evaluar la conservación de los compuestos bioactivos (antocianinas y ácidos hidroxicinamoilquínicos) en una matriz alimenticia procesada; además de determinar si existía una correlación de los compuestos bioactivos con las propiedades sensoriales del alimento y su aceptación por el consumidor.

Se define como snack a una pequeña comida, de peso ligero fácil de manipular, listo para comer, accesible, y, lo más importante, capaz para satisfacer la sensación de apetito por un momento. Cabe destacar que los snacks son ampliamente consumidos, sin tener en cuenta la condición social, edad o sexo. El sector industrial de snacks en México está en auge con un valor de mercado anual de 3419 millones de dólares [81].

#### 7.3.1 Análisis Químico

El análisis químico consistió en la cuantificación e identificación de A.T., F.T., 3 antocianinas y ácidos hidroxicinamoilquínicos en la masa del snack antes y después de llevar a cabo la cocción, a continuación, se muestran los datos obtenidos:

##### - ANTOCIANINAS

En la tabla 7.13 se observa que la formulación del snack con harina tiene mayor cantidad (70%) de antocianinas totales con respecto al snack elaborado con pulpa, estos resultados eran los esperados, pues SP fue preparado con camote cocido, que como ya se discutió en la etapa 1, el almidón contenido en dicha raíz se gelatinizó al someterse a temperaturas elevadas (cocción de pulpa a 90°C) impidiendo la extracción de las antocianinas o a que la cocción degradó cierta cantidad de dichos compuestos; lo que no ocurre con el SH, ya que para la





obtención de harina el camote se liofilizó y como ya se sabe, este proceso conserva eficientemente a los compuestos bioactivos.

Así mismo, se observa que hay una disminución de A.T. en SP de 18% y en SH del 15% después de ser horneado a 165°C. Esta pérdida no es significativa, corroborándose que las antocianinas presentes en el camote morado demuestran una elevada estabilidad térmica en los alimentos procesados.

La antocianina que está presente en más del 50% de la concentración nuevamente, es la peonidina 3- (cafeoil-*p*-hidroxibenzoil soforósido) 5 glucósido en ambas formulaciones de Snack, con una disminución en su concentración no apreciable después de la cocción, esta estabilidad térmica se explica por tratarse de una antocianina diacilada.

Por otro lado, las otras dos antocianinas cuantificadas (la peonidina 3 (-feruloil-*p*-cumaroil soforósido) 5 glucósido y la cianidina 3 (-dicafeoil soforósido) 5 glucósido) también son diaciladas, y aunque se encuentran en menor cantidad en estos alimentos procesados, la disminución de la concentración después de la cocción es mínima.

También, se asignaron por tiempos de retención el resto de las antocianinas que previamente fueron identificadas en la etapa 2 (cianidina-3-*p*-hidroxibenzoil-soforósido-5-glucósido, cianidina-3-(6''-feruloil soforósido)-5-glucósido, cianidina-3-(6''cafeoil-6'''feruloil-soforósido)-5-glucósido, peonidina-3-(6''-cafeoil-6'''-feruloil-soforósido)-5-glucósido) de las cuales 2 son mono aciladas y 5 di aciladas, presentes en ambas formulaciones del snack antes y después de cocción, siendo cada una de ellas más abundantes en el snack de harina con respecto al *snack* de pulpa.



**Tabla 7.13** Cuantificación de antocianinas totales y de las antocianinas purificadas en esta investigación en cada una de la formulación de Snack de camote antes y después de la cocción.

Formulación	Antocianinas Totales	Peo 3-(caf- <i>p</i> -hidroxi sof)-5- glucósido	Peo 3- (fer- <i>p</i> -cum sof)-5- glucósido	Cian 3-(6´6´'-dicaf sof)-5- glucósido
SH antes de cocer	1.09 <sup>a</sup> ± 0.12	0.681 <sup>a</sup> ± 0.15	0.038 <sup>a</sup> ± 6.08*10 <sup>-4</sup>	0.038 <sup>a</sup> ± 6.08*10 <sup>-4</sup>
SH después de cocer	0.93 <sup>a</sup> ± 2.1*10 <sup>-3</sup>	0.585 <sup>a</sup> ± 9.4 *10 <sup>-3</sup>	0.025 <sup>a</sup> ± 4.5*10 <sup>-4</sup>	0.025 <sup>a</sup> ± 4.5*10 <sup>-4</sup>
SP antes de cocer	0.33 <sup>b</sup> ± 7.1*10 <sup>-3</sup>	0.187 <sup>b</sup> ± 1.57*10 <sup>-3</sup>	0.007 <sup>b</sup> ± 1.75*10 <sup>-4</sup>	0.007 <sup>b</sup> ± 1.75*10 <sup>-4</sup>
SP después de cocer	0.27 <sup>b</sup> ± 8.5*10 <sup>-3</sup>	0.170 <sup>b</sup> ± 9.6*10 <sup>-4</sup>	0.004 <sup>b</sup> ± 1.2*10 <sup>-4</sup>	0.004 <sup>b</sup> ± 1.22*10 <sup>-4</sup>

<sup>ab</sup> Distinta letra indica que existe diferencia estadísticamente significativa entre las columnas para un mismo atributo de textura,  $\alpha=0.05$

## - ACIDOS HIDROXICINAMOILQUINICOS

La Tabla 7.14 muestra que el SP contiene el 35% menos de fenoles totales que el SH, debido a que la formulación con harina de camote tiene un proceso de cocción menos que los SP, manteniendo la integridad de los compuestos fenólicos, además de la limitación de extracción de compuestos bioactivos que posee el proceso del SP (Etapa 1). Sin embargo, la pérdida de fenoles totales después de la cocción en el SH es mínima (27.5%) con respecto al SP (60%), esto es posiblemente a que los fenoles totales en el SP llevan una doble exposición térmica en donde los fenoles ya están demasiado comprometidos, sin embargo, en el SH solo se exponen a un proceso térmico de horneado (165°C).

Posteriormente 7 ácidos hidroxicinamoilquínicos fueron identificados y cuantificados antes y después de la cocción en ambas formulaciones del snack de camote; sin embargo, tanto de cada uno de los ácidos dicafeoil quínicos como del clorogénico no se observa una disminución significativa después de la cocción, lo que indica



que estos compuestos son completamente estables a procesos térmicos en alimentos

El ácido VI fue el que se encontró en mayor proporción en todos los casos de ambas formulaciones, seguido por el II > V > VII; y el III, así como el IV se exponen en una menor cantidad.

Se puede decir que a pesar de los procesos involucrados se conservaron las proporciones de cada uno de los compuestos cuantificados (antocianinas y ácidos fenólicos) en el snack elaborado con pulpa (camote cocido) y *snack* con harina (camote liofilizado); pero se comprometen las concentraciones de fenoles totales.

A diferencia de Yu y Beta [82], quienes reportan para un pan a base de trigo púrpura, la presencia cianidina-3 glucósido (antocianina no acilada), que después del horneado, exhiben una disminución de más del 50% de antocianinas totales, aunque dicen tener un aumento en la concentración de fenoles totales y de actividad antioxidante.



**Tabla 7.14** Cuantificación de fenoles totales y de cada uno de los ácidos fenólicos en cada una de la formulación de Snack de camote antes y después de la cocción.

Formulación	SH antes de cocer	SH después de cocer	SP antes de cocer	SP después de cocer
F.T.	3.57 <sup>a</sup> ± 0.13	2.59 <sup>b</sup> ± 0.193	2.33 <sup>b</sup> ± 0.07	1.53 <sup>c</sup> ± 0.241
5-ACL (III)	0.302 <sup>a</sup> ± 9*10 <sup>-4</sup>	0.283 <sup>b</sup> ± 6.12*10 <sup>-3</sup>	0.154 <sup>b</sup> ± 4.33*10 <sup>-3</sup>	0.075 <sup>c</sup> ± 4.38*10 <sup>-3</sup>
1,3- DCQ	0.010 <sup>a</sup> ± 1.61*10 <sup>-4</sup>	0.007 <sup>a</sup> ± 1.73*10 <sup>-4</sup>	0.008 <sup>a</sup> ± 1.12*10 <sup>-4</sup>	0.004 <sup>b</sup> ± 6.40*10 <sup>-5</sup>
1,5- DCQ	0.008 <sup>a</sup> ± 1.42*10 <sup>-3</sup>	0.006 <sup>a</sup> ± 1.26*10 <sup>-4</sup>	0.007 <sup>a</sup> ± 1.36*10 <sup>-4</sup>	0.005 <sup>a</sup> ± 5.46*10 <sup>-5</sup>
3,4- DCQ	0.109 <sup>a</sup> ± 2.18*10 <sup>-3</sup>	0.104 <sup>a</sup> ± 1.13*10 <sup>-3</sup>	0.059 <sup>b</sup> ± 1.18*10 <sup>-3</sup>	0.057 <sup>b</sup> ± 7.41*10 <sup>-4</sup>
3,5-DCQ	0.420 <sup>a</sup> ± 3.55*10 <sup>-3</sup>	0.408 <sup>a</sup> ± 2.32 *10 <sup>-3</sup>	0.219 <sup>b</sup> ± 2.14*10 <sup>-3</sup>	0.214 <sup>b</sup> ± 1.60*10 <sup>-3</sup>
4,5- DCQ	0.040 <sup>a</sup> ± 5.2*10 <sup>-4</sup>	0.034 <sup>a</sup> ± 5.52*10 <sup>-4</sup>	0.011 <sup>b</sup> ± 2.53*10 <sup>-4</sup>	0.009 <sup>b</sup> ± 1.17*10 <sup>-4</sup>

<sup>ab</sup> Distinta letra indica que existe diferencia estadísticamente significativa entre las columnas para un mismo atributo de textura,  $\alpha=0.05$

### 7.3.2 Análisis Instrumental

#### - COLORIMETRÍA

Para el análisis de colorimetría se utilizó el modelo cromático CIE L\*a\*b\* (**CIELAB**) que es usado normalmente para describir todos los colores que puede percibir el ojo humano. Se midieron 5 parámetros para comparar el color entre ambas formulaciones de snack de camote.

Para cada uno de los factores se hizo un análisis de varianza (ANOVA) que descompone la variabilidad de cada parámetro ( $a^*$ ,  $b^*$ ,  $c^*$ ,  $h^*$  y L) en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se escogió la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se midió eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P probó la significancia estadística de cada uno de los factores. También para cada uno de los parámetros de color estudiados se realizó una dispersión de código de nivel 1 (Snack de harina) y -1 (Snack de pulpa) para ser comparados; los valores se muestran en la Tabla 7.15.

#### **PARÁMETRO $a^*$ . RANGO DE COLOR DE ROJO A VERDE**

En el análisis de varianza 2 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre  $a^*$  con un 95.0% de nivel de confianza.

Por lo tanto, hay diferencia estadística significativa para el parámetro  $a^*$  entre los snacks de harina y los snacks de pulpa, así como entre los 4 días medidos, Y no hay diferencia estadística significativa entre las repetitividads con un nivel de confianza del 95%.

En la dispersión de código de nivel se observó la diferencia entre el snack de harina (1) y snack de pulpa (-1) y entre ellos se agruparon totalmente. Mostrando valores más altos del parámetro los de harina (1). Por lo tanto, tienen una mayor intensidad de color rojo los snacks de harina, ya que el parámetro  $a^*(+)$  indica la tonalidad de color rojo.



## **PARÁMETRO b\*. RANGO DE COLOR DE AMARILLO A AZUL**

Se observó en el ANOVA que 2 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre b con un 95.0% de nivel de confianza. Por lo tanto, hay diferencia estadística significativa para el parámetro b\* entre los snacks de harina y los de pulpa, así como entre los 4 días medidos, Y no hay diferencia estadística significativa entre las repeticiones con un nivel de confianza del 95%.

En la dispersión de código de nivel se detectó que hay diferencia entre el snack de harina (1) y de pulpa (-1) y entre ellos se agruparon totalmente. Mostrando valores más altos del parámetro los snacks de harina (1). Por lo tanto, tienen una mayor intensidad de color amarillo los snacks de harina, ya que el parámetro b\*(+) indica la tonalidad de color amarillo y los snacks de pulpa más intensidad de color azul b\*(-).

## **PARÁMETRO c\*. COLORIDO**

En este parámetro los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 2 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre c\* con un 95.0% de nivel de confianza.

Por lo tanto, hay diferencia estadística significativa para el parámetro c\* entre los snacks de harina y los de pulpa, así como entre los 4 días medidos, Y no hay diferencia estadística significativa entre las respetabilidades con un nivel de confianza del 95%.

En la dispersión de código de nivel se observó la diferencia entre el snack de harina (1) y de pulpa (-1) y entre ellos se agruparon totalmente. Mostrando valores más altos del parámetro los snacks de harina (1). Por lo tanto, los de harina muestran un nivel más colorido que los snacks de pulpa.



## **PARÁMETRO h\*. TONO**

En el análisis de varianza los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 2 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre h con un 95.0% de nivel de confianza.

Por lo tanto, hay diferencia estadística significativa para el parámetro h\* entre los snacks de harina y los de pulpa, así como entre los 4 días medidos, Y no hay diferencia estadística significativa entre las respetabilidades con un nivel de confianza del 95%.

En la dispersión de código de nivel se manifestó la diferencia entre el snack de harina (1) y de pulpa (-1) y entre ellos se agruparon totalmente. Mostrando valores más altos del parámetro los snacks de pulpa (-1) que lo de harina (+). Por lo tanto, los snacks de pulpa muestran una tonalidad más clara y los de harina una tonalidad más oscura.

## **PARÁMETRO L\*. LUMINOSIDAD**

En el parámetro de luminosidad L\*, los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que un valor-P es menor que 0.05, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre L\* con un 95.0% de nivel de confianza.

Por lo tanto, solo hay diferencia estadística significativa para el parámetro L\* entre los snacks de harina y pulpa. Y no hay diferencia estadística significativa entre las respetabilidades y los días de medición con un nivel de confianza del 95%.

En la dispersión de código de nivel se observó la diferencia entre el snack de harina (1) y de pulpa (-1) y entre ellos se agruparon totalmente. Mostrando valores más altos del parámetro los snacks de harina (1) que lo de pulpa (-1). Por lo tanto, los snacks de harina muestran mayor luminosidad que los de pulpa.



**Tabla 7.15** Valores de los parámetros medidos de colorimetría para ambas formulaciones de snack.

Formulación/parámetro	a*	b*	c*	h*	L*
SP					
Día 1	11.5707	-1.6752	11.7111	351.7759	35.3888
Día 2	11.9842	-1.7559	12.1122	351.6645	36.3090
Día 4	12.0849	-1.3448	12.2170	353.6802	37.4219
Día 7	11.7130	-1.7052	11.8370	351.7176	36.2873
SH					
Día 1	16.6696	0.0619	16.6697	0.2127	51.3864
Día 2	15.1466	0.732	15.1468	0.2777	53.1690
Día 4	15.9414	0.0906	15.9426	0.3209	51.8037
Día 7	16.0460	0.1001	16.0464	0.3574	51.2110

De los 5 parámetros de color estudiados para los dos tipos de formulaciones del snack de camote morado (harina y pulpa), hubo diferencia estadística significativa entre el snack de harina y el de pulpa. Mostrando el snack de harina mayor tonalidad roja(a\*), amarilla(b\*), son más coloridos (c\*), tienen una tonalidad más oscura (h\*), y manifiestan una mayor Luminosidad (L\*) con respecto al de pulpa.

Por otro lado, el snack de pulpa tuvo una tonalidad de rojo más baja (a\*), una tonalidad azul (-b\*), son menos coloridos (c\*), presentan una tonalidad más clara (h\*), y es menos luminoso (L\*) que los snacks de harina.





## - PRUEBAS DE TEXTURA

En la prueba de textura se evaluaron 5 parámetros para comparar ambas formulaciones del snack de camote, para su análisis se realizó una prueba de rangos múltiples LSD con un 95% de confiabilidad, los valores se muestran en la Tabla 7.16.

**Tabla 7.16** Valores de textura para ambas formulaciones de snack.

Atributo de textura	Pulpa	Harina
Dureza	404.477 <sup>a</sup>	703.577 <sup>b</sup>
Adhesividad	-41.0165 <sup>a</sup>	-60.9045 <sup>b</sup>
Elasticidad	-41.0165 <sup>a</sup>	0.85775 <sup>b</sup>
Cohesividad	0.2755 <sup>a</sup>	0.31325 <sup>a</sup>
Masticabilidad	87.8053 <sup>a</sup>	189.099 <sup>b</sup>

<sup>abc</sup> Distinta letra indica que existe diferencia estadísticamente significativa entre las columnas para un mismo atributo de textura,  $\alpha=0.05$

### *Dureza por Muestra*

Se observa una diferencia estadística significativa entre el snack de harina y el de pulpa de camote en este parámetro, presentando el de harina mayor dureza.

### *Adhesividad por Muestra*

Hay una diferencia estadística significativa entre las formulaciones elaborados, mostrando una mayor adhesividad el snack de pulpa de camote.

### *Elasticidad por Muestra*

Existe diferencia estadística significativa entre las dos formulaciones de snack, mostrando mayor elasticidad snack elaborado con harina.

### *Cohesividad por Muestra*

Mostró ligeramente más cohesividad el snack de harina, sin embargo, no existe diferencia estadística significativa entre ambas formulaciones de snack.



### *Masticabilidad por Muestra*

Existe diferencia estadística significativa en este parámetro entre el snack de harina y pulpa, se observó que el snack de harina tuvo valores más altos de masticabilidad.

De acuerdo a estos resultados el snack de harina presentó mayor resistencia a ser deformado (dureza), menor pegajosidad (adhesividad), mayor capacidad de retornar a su forma original (elasticidad), valores más altos de deformación (cohesividad) y mayor gomosidad (masticabilidad) con respecto al snack de pulpa. Por lo que se puede decir que la harina de camote utilizada en un snack (SH), si modifica las propiedades de textura con respecto a la harina de trigo que se utilizó en el snack de pulpa (SP)

### **7.3.3 Análisis Sensorial**

La evaluación sensorial se define como “la disciplina científica utilizada para evocar, medir analizar e interpretar las reacciones a aquellas características de alimentos y otras sustancias, que son percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído”. También es la caracterización y análisis de aceptación o rechazo de un alimento por parte del catador o consumidor, de acuerdo a las sensaciones experimentadas desde el mismo momento que lo observa y después que lo consume [83].

En este análisis sensorial, se realizaron pruebas de Perfil Flash y afectivas, para comparar ambas formulaciones de snack (pulpa y harina) y buscar una correlación de estos atributos con la composición de compuestos bioactivos impartida por el camote morado.

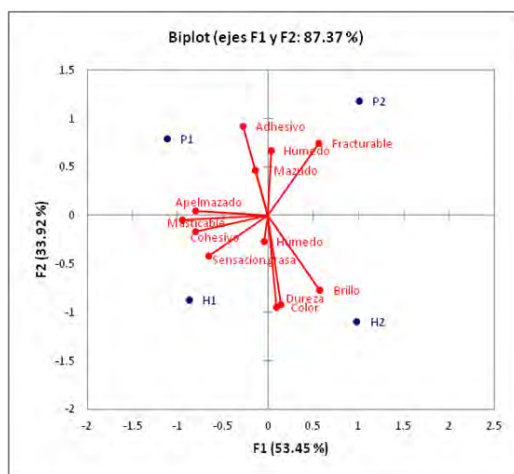
#### **- PRUEBA DE PERFIL FLASH**

Se realizó un estudio de atributos con jueces entrenados para apariencia y textura, así como para sabor y olor en ambas formulaciones, los resultados fueron los siguientes:



En la Figura 7.20 se muestran los resultados para los atributos de apariencia y textura, en ella se puede observar que el componente 1 explica el 53.45% de la variabilidad de las muestras y el componente 2 el 33.92%. Se observa que las réplicas de snack de pulpa están correlacionadas positivamente con el componente 1 y están caracterizados por los atributos de apelmazamiento, adhesividad, humedad, mazudo y fracturable, mientras que los elaborados a base de harina fueron más duros, masticables y cohesivos con mayor brillo y color. Estos resultados se podrían deber a que la harina de camote (SH) modificó las propiedades de textura con respecto a los de harina de trigo mezclados con pulpa de pulpa (SP). En cuanto a la apariencia, el snack de harina al presentar mayor concentración de antocianinas, también presentó atributos con mayor brillo y color que el snack de pulpa.

### Apariencia y textura



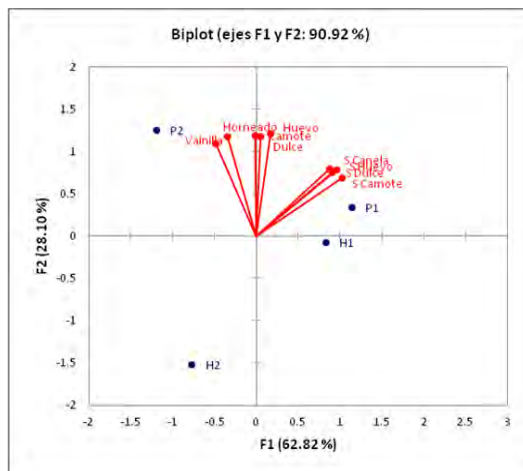
**Figura 7.20** Análisis de GPA para apariencia y textura en las dos formulaciones de *snack* de camote.

En la Figura 7.21 se muestran los resultados para los atributos de sabor y olor, en ella se puede observar que el componente 1 explica el 62.82% de la variabilidad de las muestras y el componente 2 el 28.1%. Se observa que las réplicas de snack de pulpa están correlacionadas positivamente con el componente 1 y están



caracterizados por los atributos de sabor a canela, huevo, dulce y camote y un olor a vainilla, horneado, huevo, camote y dulce. Estos resultados se podrían deber a que el snack de pulpa se elaboró utilizando camote cocido, por lo que los jueces percibieron más dicho sabor que en el snack elaborado a base de harina de camote.

### Sabor, olor



**Figura 7.21** Análisis de GPA para sabor y olor en las dos formulaciones de *snack* de camote.

### - PRUEBAS AFECTIVAS

Las pruebas afectivas, son pruebas en donde el panelista expresa el nivel de agrado aceptación y preferencia de un producto alimenticio, puede ser frente a otro. Se utilizan escalas de calificación de las muestras [84].

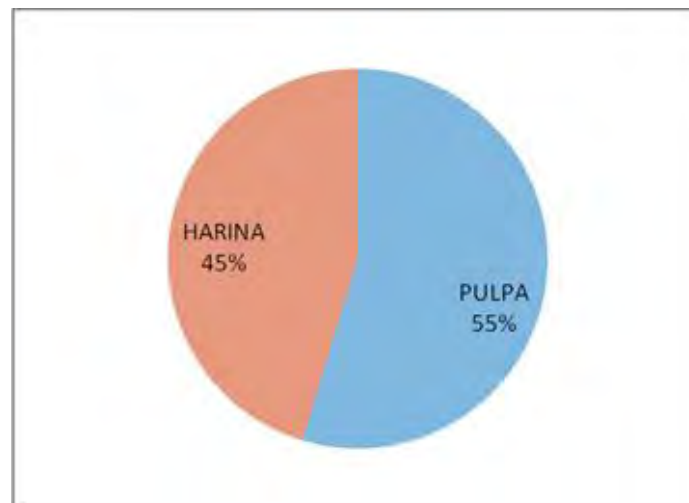
En la figura 7.22 se muestran los resultados para el nivel de grado para Apariencia, Olor, Sabor y Gusto General para las muestras del *snack* de camote, en los que se observa que existe semejanza estadística entre las muestras en cada uno de los atributos evaluados. El nivel de agrado promedio para las muestras en cada atributo fue de “Me gusta moderadamente”.





**Figura 7.22** Grafica de nivel de agrado para el Snack de pulpa y harina.

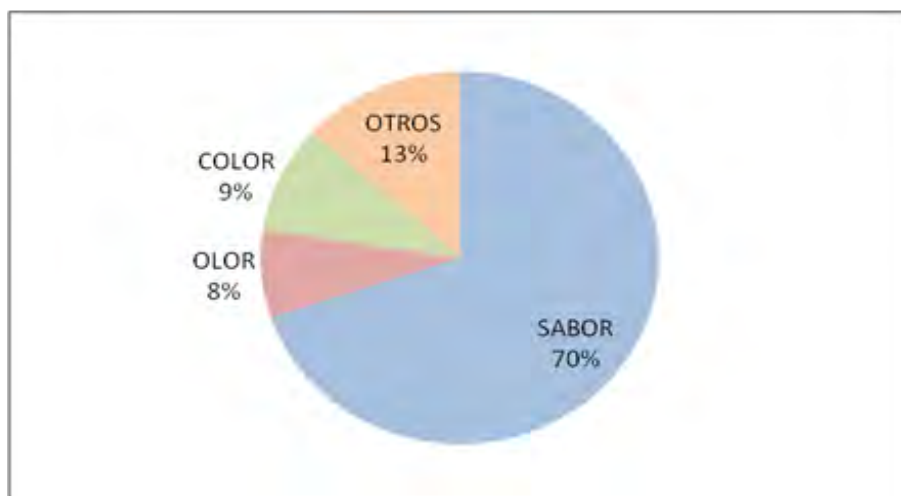
De los consumidores evaluados, el 55% y prefirieron los que están elaborados con pulpa, y el restante 45% prefirió el elaborado con harina. (Figura 7.22)



**Figura 7.23** Porcentaje de aceptación de los consumidores hacia los panqués de camote.

Posteriormente se le preguntó al consumidor qué atributo había considerado para escoger una u otra muestra como la de mayor preferencia. Los resultados se muestran en la figura 7.23. Entre el 13% que eligió la opción “Otros” especificaron que la textura y el dulzor fueron los atributos que los llevaron a elegir como preferida la muestra.





**Figura 7.24** Atributos que eligieron los consumidores para preferir los *snacks*.

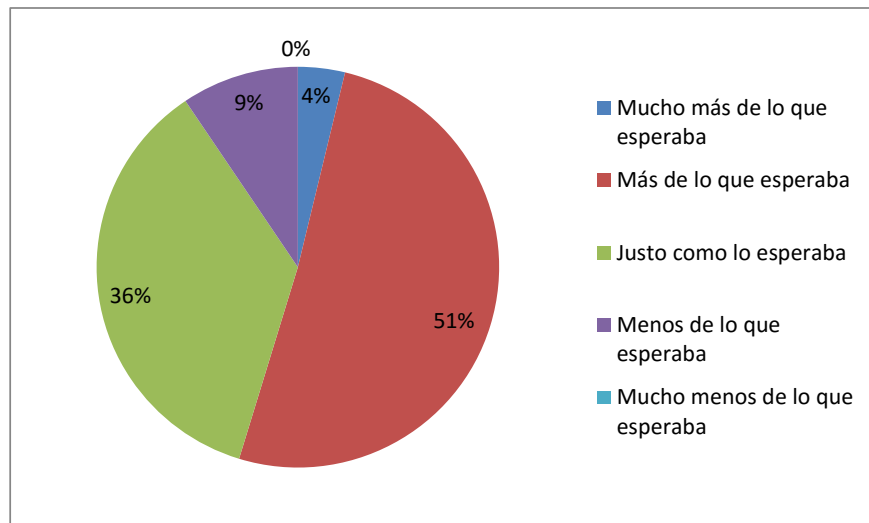
Finalmente, se le preguntó al consumidor lo que cambiaría snack de menor preferencia y en general contestaron que cambiarían la apariencia (homología del color), sabor, dulzor y textura.

#### PRUEBAS “JUSTO COMO LO ESPERABA”

Debido a que atributos como color y dulzor son determinantes en el agrado del consumidor, se realizó la prueba “justo como lo esperaba”, para conocer si estos atributos cumplían con las expectativas de los consumidores.

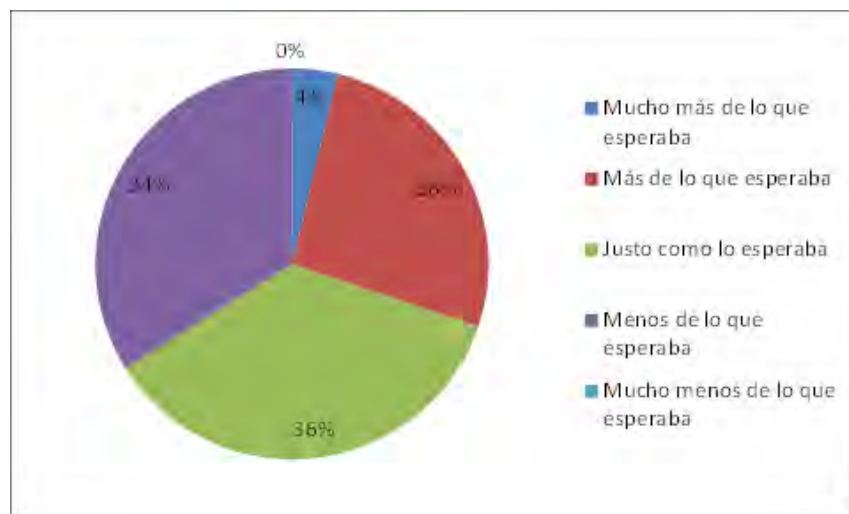
*Snack* de pulpa en Dulzor (Figura 7.25):





**Figura 7.25** Pruebas “Justo como lo esperaba” para DULCE el *snack* de pulpa.

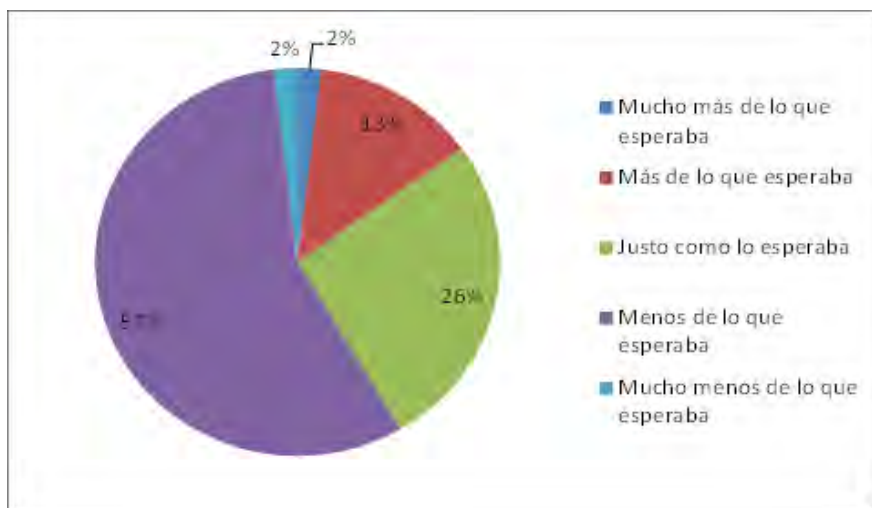
*Snack* de pulpa en Color (Figura 7.26):



**Figura 7.26** Pruebas “Justo como lo esperaba” para COLOR el *snack* de pulpa.

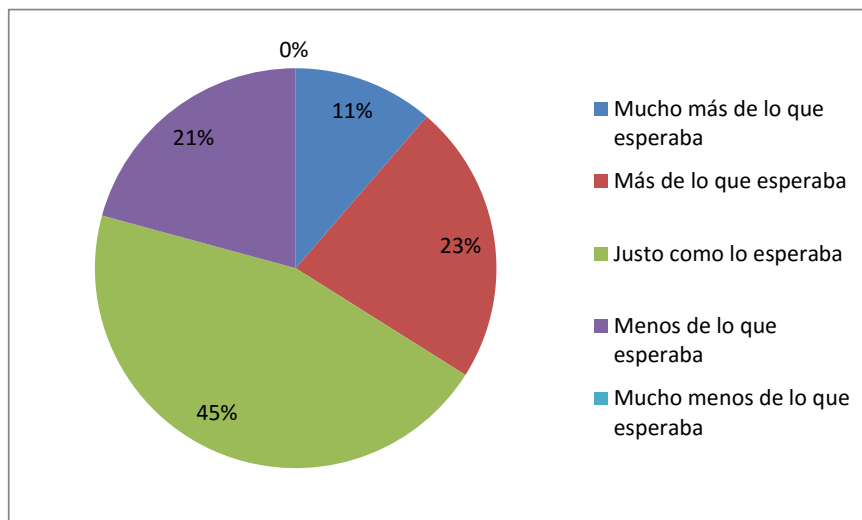


Snack de harina en Color (Figura 7.27):



**Figura 7.27** Pruebas “Justo como lo esperaba” para COLOR en el snack de harina.

Snack de HARINA en Dulzor (Figura 7.28):



**Figura 7.28** Pruebas “Justo como lo esperaba” para DULCE en el snack de harina.





En la prueba de justo como lo esperaba, los consumidores prefirieron al snack de pulpa, en apariencia (color) y sabor ya que en esta última percibieron un sabor más a camote, con respecto al color, al consumidor no le agrado el color tan intenso del snack de camote.

En esta etapa de análisis químico y sensorial de dos formulaciones de snack de camote se puede hacer una comparación entre los valores de antocianinas totales y de colorimetría, siendo ambos parámetros proporcionales: a una mayor concentración de antocianinas totales, existen tonalidades más rojas, oscuras, mayor color y luminosidad; por los que se puede decir, que el color exhibido en el snack lo imparten completamente las antocianinas.

En un estudio [85] hicieron 3 diferentes tipos de galletas a base de maíz colorido, y reportan también que mayor concentración de antocianinas en cada una de sus formulaciones, mayores son las tonalidades rojas que presentan.

Como ya se había discutido anteriormente la disminución de antocianinas y de color fue debido al tipo de proceso de cada formulación, ya que como a estos compuestos se les atribuye el color; en el snack de pulpa son degradados.

Sin embargo, el consumidor no prefirió las tonalidades más oscuras sino las más claras, es decir prefirieron al snack de pulpa. Así como una percepción de sabor más agradable; se cree que este atributo fue importante para el consumidor mexicano para elegir una u otra formulación, ya que, está más acostumbrado con un alimento tipo pulpa de camote que con uno de harina debido a que en este País el camote se consume comúnmente como dulce santa Clara o cocido. Además, e que los atributos de textura fueron modificados al utilizar harina de camote y trigo, mostrando el SP atributos de dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad más bajos que el de harina, por otro lado, en los atributos asignados por los jueces entrenados (GPA) en textura y color concuerda con los resultados anteriores.

En general el consumidor calificó a ambas formulaciones en un nivel de agrado sin mostrar diferencia estadística significativa de: “me gusta moderadamente”.



## 8 CONCLUSIONES

La variedad de camote morado que mostro concentraciones más elevadas de A.T. y F.T. fue la de Atlixco, Puebla de tercera calidad (C93). La liofilización resultó ser el tratamiento de camote morado más óptimo para conservación de compuestos bioactivos, evitando la degradación por la PFO y POD.

En la raíz y hojas moradas se identificaron por HPLC 10 antocianinas y se caracterizaron parcialmente por HPLC-EM 7 en raíz y 5 en hojas. Posteriormente se aisló una antocianina (peonidina 3-(cafeoil-*p*-hidroxibenzoil soforósido)-5-glucósido) y una mezcla de 2 antocianinas (peonidina 3- (feruloil-*p*-cumaril soforósido)-5-glucósido y cianidina-3-(6'6"-dicafeoil soforósido)-5-glucósido). Siendo las tres antocianinas di-aciladas. Mismas que se cuantificaron en los diferentes órganos de la planta de *I. batatas* (flor, raíz y hojas y tallos) y en todos los casos la primera fue la mayoritaria, representando más del 50% del total de las antocianinas en esta variedad morada mexicana. Por otro lado, se identificaron y se cuantificaron los ácidos hidroxicinámicos e hidroxicinamoilquínicos (I, II, III, IV, V, VI y VII) en los diferentes órganos de la planta; el mayoritario en tallos, flor, raíz y hojas moradas fue el VI, mientras que en las hojas verdes el más abundante fue el II. También se mostró que el órgano con mayores concentraciones de fenoles totales fueron las hojas: verdes como las moradas.

Finalmente, las formulaciones propuestas (pulpa y harina) de snack se reveló la presencia de todo el perfil de antocianinas antes y después de la cocción, y con una disminución mínima de estos en el producto final. La antocianina mayoritaria fue la peonidina 3-(cafeoil-*p*-hidroxibenzoil soforósido)-5- glucósido, que en estudios previos se ha reportado tiene propiedades antioxidantes. Lo mismo ocurrió con lo que respecta a los de los ácidos hidroxicinamoilquínicos. En cuanto al análisis instrumental y sensorial, los resultados en la prueba de color exhibieron que este se debe específicamente a las antocianinas y no a otros compuestos presentes en la raíz morada. El SH fue el más colorido tanto por colorimetría como por la percepción



de los jueces y con mayor concentración de antocianinas; sin embargo, el consumidor prefirió el SP con menor intensidad de color.



## 9 REFERENCIAS

- [1] J. Li, X. Li, Y. Zhang, Z. Zheng, Z. Qu, M. Liu, S. Zhu, S. Liu, M. Wang, and L. Qu, "Identification and thermal stability of purple-fleshed sweet potato anthocyanins in aqueous solutions with various pH values and fruit juices," *Food Chem.*, vol. 136, no. 3–4, pp. 1429–1434, 2013.
- [2] G. Fan, Y. Han, Z. Gu, and F. Gu, "Composition and colour stability of anthocyanins extracted from fermented purple sweet potato culture," *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 41, no. 8, pp. 1412–1416, 2008.
- [3] T. L. Jeng, C. C. Lai, T. C. Liao, S. Y. Lin, and J. M. Sung, "Effects of drying on caffeoylquinic acid derivative content and antioxidant capacity of sweet potato leaves," *J. Food Drug Anal.*, vol. 23, no. 4, pp. 701–708, 2014.
- [4] W. Zheng and M. N. Clifford, "Profiling the chlorogenic acids of sweet potato (*Ipomoea batatas*) from China," *Food Chem.*, vol. 106, no. 1, pp. 147–152, 2008.
- [5] O. González, M. Hernández, J. Silva, Á. Espinosa, and C. Ros, "Biotecnológicas Aplicadas Al Cultivo Del Boniato *Ipomoea batatas* ( L .)," pp. 9–13, 2001.
- [6] F. Basurto, D. Martínez, T. Rodríguez, V. Evangelista, M. Mendoza, D. Castro, J. C. González, and V. Vaylón, "CONOCIMIENTO ACTUAL DEL CULTIVO DE CAMOTE (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) EN MÉXICO," *Agroproductividad*, vol. 8, no. 1, pp. 30–34, 2015.
- [7] J. Tique, B. Chaves, and H. Zurita, "Evaluación agronómica de diez clones promisorios CIP y dos materiales nativos de *Ipomoea batatas* L .," *Agron. Colomb.*, vol. 27, no. 2, pp. 151–158, 2009.
- [8] H. Martí, G. Corbino, and H. Chludil, "La batata: el redescubrimiento de un



- cultivo,” vol. 21, no. 1, pp. 17–23, 2011.
- [9] R. Mohanraj and S. Sivasankar, “Sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) - A valuable medicinal food: A review,” *J. Med. Food*, vol. 17, no. 7, pp. 733–741, 2014.
- [10] D. M. Díaz, “*Ipomoea* : un género con tradición .,” Ciudad de México, 2009.
- [11] T. A. Esan, O. P. Sobukola, L. O. Sanni, H. A. Bakare, and L. Munoz, “Process optimization by response surface methodology and quality attributes of vacuum fried yellow fleshed sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) chips,” *Food Bioprod. Process.*, vol. 95, pp. 27–37, 2015.
- [12] E. C. Montilla, S. Hillebrand, D. Butschbach, S. Baldermann, N. Watanabe, and P. Winterhalter, “Preparative isolation of anthocyanins from Japanese purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) varieties by high-speed countercurrent chromatography,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 58, pp. 9899–9904, 2010.
- [13] A. Benavides, R. Hernández, H. Ramírez, and A. Sandoval, *Tratado de Botánica Económica Moderna*. Saltillo, Coah., México, 2010.
- [14] INFOAGRO, “<http://fichas.infojardin.com/hortalizas-verduras/batatas-boniatos-camote-moniato-papa-dulce.htm>.” .
- [15] J. Rzedowski and G. Calderon, “Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes,” *Inst. Ecol. A.C. Cent. Reg. del Bajío Pátzcuaro, Michoacán*, pp. 1236–1239, 2009.
- [16] F. Basurto, D. Martínez, T. Rodríguez, V. Evangelista, M. Myrna, and V. Gerardo, *El camote de Puebla o camote de Santa Clara: Cadena de producción de consumo.*, Primera ed. México, 2012.
- [17] J. K. Jung, S. U. Lee, N. Kozukue, C. E. Levin, and M. Friedman,



- “Distribution of phenolic compounds and antioxidative activities in parts of sweet potato (*Ipomoea batata* L.) plants and in home processed roots,” *J. Food Compos. Anal.*, vol. 24, no. 1, pp. 29–37, 2011.
- [18] Z. Huaman, “Botánica sistemática y morfología de la papa,” *Boletín de Información Técnica*, vol. 6. pp. 1–21, 1986.
- [19] J. G. Cázares, *Compendio de raíces y tubérculos tropicales*, Primera Ed. Villahermosa, Tabasco, México, 2011.
- [20] A. Dos Santos P., A. De Miranda P., L. Trugo, and F. De Aquino N., “Distribution of quinic acid derivatives and other phenolic compounds in Brazilian propolis,” *Zeitschrift fur Naturforsch. - Sect. C J. Biosci.*, vol. 58, no. 7–8, pp. 590–593, 2003.
- [21] C. Cusumano and N. Zamudio, “Manual técnico para el cultivo de batata (camote o boniato) en la provincia de Tucumán (Argentina),” in *INTA*, 2013, pp. 1–41.
- [22] M. H. Grace, G. G. Yousef, S. J. Gustafson, V. Den Truong, G. C. Yencho, and M. A. Lila, “Phytochemical changes in phenolics, anthocyanins, ascorbic acid, and carotenoids associated with sweetpotato storage and impacts on bioactive properties,” *Food Chem.*, vol. 145, pp. 717–724, 2014.
- [23] S. Islam, “Nutritional and Medicinal Qualities of Sweet potato Tops and Leaves,” 2014.
- [24] C. Luo, X. Wang, G. Gao, L. Wang, Y. Li, and C. Sun, “Identification and quantification of free, conjugate and total phenolic compounds in leaves of 20 sweet potato cultivars by HPLC-DAD and HPLC-ESI-MS/MS,” *Food Chem.*, vol. 141, no. 3, pp. 2697–2706, 2013.
- [25] V. N. Emejulu, “Evaluation of Phytochemical Composition and Antimicrobial Activity of Sweet Potato (*Ipomoea batatas*) Leaf,” vol. 12, no. 6, pp. 575–



586, 2013.

- [26] P. P. Leksrisonpong, M. E. Whitson, V. D. Truong, and M. A. Drake, "Sensory attributes and consumer acceptance of sweet potato cultivars with varying flesh colors," *J. Sens. Stud.*, vol. 27, no. 1, pp. 59–69, 2012.
- [27] Y. Jiao, Y. Jiang, W. Zhai, and Z. Yang, "Studies on antioxidant capacity of anthocyanin extract from purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L.)," *African J. Biotechnol. Vol.*, vol. 11, no. 27, pp. 7046–7054, 2012.
- [28] J. Lachman, K. Hamouz, M. Orsák, V. Pivec, K. Hejtmánková, K. Pazderů, P. Dvořák, and J. Čepl, "Impact of selected factors - Cultivar, storage, cooking and baking on the content of anthocyanins in coloured-flesh potatoes," *Food Chem.*, vol. 133, no. 4, pp. 1107–1116, 2012.
- [29] J. Li, H. Song, N. Dong, and G. Zhao, "Degradation kinetics of anthocyanins from purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) as affected by ascorbic acid," *Food Sci. Biotechnol.*, vol. 23, no. 1, pp. 89–96, 2013.
- [30] J. Xu, X. Su, S. Lim, J. Griffin, E. Carey, B. Katz, J. Tomich, J. S. Smith, and W. Wang, "Characterisation and stability of anthocyanins in purple-fleshed sweet potato P40," *Food Chem.*, vol. 186, pp. 90–96, 2015.
- [31] I. Islam, A. U. Shaikh, and I. M. Shahidul, "Antioxidative and Antimutagenic Potentials of Phytochemicals from *Ipomoea batatas* (L.) Lam.," *Int. J. Cancer Res.*, vol. 5, no. 1811–9727, pp. 83–94, 2009.
- [32] N. Mahmood, P. S. Moore, N. De Tommasi, F. De Simone, S. Colman, A. J. Hay, and C. Pizza, "Inhibition of HIV infection by caffeoylquinic acid derivatives," *Antivir. Chem. Chemother.*, vol. 4, no. 4, pp. 235–240, 1993.
- [33] H. M. Heyman, F. Senejoux, I. Seibert, T. Klimkait, V. J. Maharaj, and J. J. M. Meyer, "Identification of anti-HIV active dicaffeoylquinic- and tricaffeoylquinic acids in *Helichrysum populifolium* by NMR-based



- metabolomic guided fractionation,” *Fitoterapia*, vol. 103, pp. 155–164, 2015.
- [34] S. Y. Kang, S. H. Sung, J. H. Park, and Y. C. Kim, “Hepatoprotective activity of scopoletin, a constituent of *Solanum lyratum*,” *Arch. Pharm. Res.*, vol. 21, no. 6, pp. 718–722, 1998.
- [35] X.-L. Liu, L. Zhang, X.-L. Fu, K. Chen, and B. Qian, “Effect of scopoletin on PC3 proliferation and apoptosis,” *Acta Pharmacologica Sinica*, vol. 22, no. 10, pp. 929–933, 2001.
- [36] I. Dini, G. C. Tenore, and A. Dini, “Saponins in *Ipomoea batatas* tubers: Isolation, characterization, quantification and antioxidant properties,” *Food Chem.*, vol. 113, no. 2, pp. 411–419, 2009.
- [37] M. Meira, E. P. da Silva, J. M. David, and J. P. David, “Review of the genus *Ipomoea*: Traditional uses, chemistry and biological activities,” *Brazilian J. Pharmacogn.*, vol. 22, no. 3, pp. 682–713, 2012.
- [38] N. Noda, S. Yoda, T. Kawasaki, and K. Miyahara, “Resin Glycosides XV. Simonin I-V, Ether-Soluble Resin Glycosides (Jalapins from the Roots of *Ipomoea batatas* (cv. Simon),” *Chem. Pharm. Bull.*, vol. 40, pp. 3163–3168, 1992.
- [39] J. G. Zhao, Q. Q. Yan, R. Y. Xue, J. Zhang, and Y. Q. Zhang, “Isolation and identification of colourless caffeoyl compounds in purple sweet potato by HPLC-DAD-ESI/MS and their antioxidant activities,” *Food Chem.*, vol. 161, pp. 22–26, 2014.
- [40] B. a. Cevallos-Casals and L. Cisneros-Zevallos, “Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants,” *Food Chem.*, vol. 86, no. 1, pp. 69–77, 2004.
- [41] T. Wallace and M. Giusti, *Anthocyanins in Health and Disease*. 2014.





- [42] Z. Cai, Z. Qu, Y. Lan, S. Zhao, X. Ma, Q. Wan, P. Jing, and P. Li, "Conventional, ultrasound-assisted, and accelerated-solvent extractions of anthocyanins from purple sweet potatoes," *Food Chem.*, vol. 197, pp. 266–272, 2016.
- [43] P. de Aguiar Cipriano, L. Ekici, R. C. Barnes, C. Gomes, and S. T. Talcott, "Pre-heating and polyphenol oxidase inhibition impact on extraction of purple sweet potato anthocyanins," *Food Chem.*, vol. 180, pp. 227–234, 2015.
- [44] J. Yang, J. F. Chen, Y. Y. Zhao, and L. C. Mao, "Effects of drying processes on the antioxidant properties in sweet potatoes," *Agric. Sci. China*, vol. 9, no. 10, pp. 1522–1529, 2010.
- [45] L. Xi, T. Mu, and H. Sun, "Preparative purification of polyphenols from sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves by AB-8 macroporous resins.," *Food Chem.*, vol. 172, pp. 166–74, 2015.
- [46] Y. Goda, T. Shimizu, Y. Kato, M. Nakamura, T. Maitani, T. Yamada, N. Terahara, and M. Yamaguchi, "Two acylated anthocyanins from purple sweet potato," *Phytochemistry*, vol. 44, no. 1, pp. 183–186, 1997.
- [47] L. U. Ying, L. I. Jia-ying, L. U. O. Jing, L. I. Mi-lu, and L. I. U. Zhong-hua, "Preparative Separation of Anthocyanins from Purple Sweet Potatoes by High-Speed Counter-Current Chromatography," vol. 39, no. 6, pp. 851–856, 2011.
- [48] V. Den Truong, D. Nigel, R. T. Thompson, R. F. Mcfeeters, L. O. Dean, K. V. Pecota, and G. C. Yencho, "Characterization of anthocyanins and anthocyanidins in purple-fleshed sweetpotatoes by HPLC-DAD/ESI-MS/MS," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 58, no. 1, pp. 404–410, 2010.
- [49] S. Cheng, Y. F. Zhang, Z. Q. Zeng, J. Lin, Y. W. Zhang, H. Ni, and H. H. Li, "Screening, separating, and completely recovering polyphenol oxidases and other biochemicals from sweet potato wastewater in starch production," *Appl.*



*Microbiol. Biotechnol.*, vol. 99, no. 4, pp. 1745–1753, 2014.

- [50] E. Fazekas, K. Szabó, L. Kandra, and G. Gyöngyi, “Unexpected mode of action of sweet potato  $\beta$ -amylase on maltooligomer substrates,” *Biochim. Biophys. Acta - Proteins Proteomics*, vol. 1834, no. 10, pp. 1976–1981, 2013.
- [51] F. Kader, B. Rovel, G. Michel, and M. Metche, “Mechanism of browning in fresh highbush blueberry fruit (*Vaccinium corymbosum* L). Role of blueberry polyphenol oxidase, chlorogenic acid and anthocyaninsite,” *J. Sci. Food Agric.*, vol. 74, no. 1, pp. 31–34, 1997.
- [52] D. Manohan and W. Wai, “Characterization of polyphenol oxidase in sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.).),” ... *Adv. Sci. Arts*, vol. 3, no. 1, pp. 14–31, 2012.
- [53] F. Kader, M. Irmouli, J. P. Nicolas, and M. Metche, “Involvement of blueberry peroxidase in the mechanisms of anthocyanin degradation in blueberry juice,” *J. Food Sci.*, vol. 67, no. 3, pp. 910–915, 2002.
- [54] F. Basurto, “[http://www.sinarefi.org.mx/redes/red\\_camote.html](http://www.sinarefi.org.mx/redes/red_camote.html),” 2008. .
- [55] Kichi-suke, “[http://global.rakuten.com/en/store/sandaime-saketarou/item/kichisuke\\_aka/](http://global.rakuten.com/en/store/sandaime-saketarou/item/kichisuke_aka/),” 2015. .
- [56] H. Martí, G. Corbino, and H. Chludil, “La batata: el redescubrimiento de un cultivo,” vol. 21, no. 121, pp. 16–23, 2011.
- [57] Lienzo culinario, “<http://www.lienzoculinario.com/2010/11/asi-sabe-mexico-camote.html#.VxP08TDhDIU>,” 2010. .
- [58] A. Torres and A. Navarro, “Extracción de antocianinas termoestables del camote morado (*Ipomoea batatas* (L.) Lam y su aplicación como biocolorante en alimentos,” Universidad Nacional Autónoma de México, 2013.



- [59] M. M. Giusti and R. E. Wrolstad, "Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy." 2001.
- [60] A. Blainski, G. C. Lopes, and J. C. P. De Mello, "Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *limonium brasiliense* L.," *Molecules*, vol. 18, no. 6, pp. 6852–6865, 2013.
- [61] H. García and R. Vázquez, "Cuantificación de proteínas: Una revisión," *Bio Tecnología*, vol. 3. pp. 78–87, 1998.
- [62] F. Fernández and A. Navarro, "Identificación y cuantificación de antocianinas aciladas de plantas endémicas de México (maíces y salvias)," Universidad Nacional Autónoma de México, 2014.
- [63] L. Zhang, Q. Fu, and Y. Zhang, "Composition of anthocyanins in pomegranate flowers and their antioxidant activity," *Food Chem.*, vol. 127, no. 4, pp. 1444–1449, 2011.
- [64] E. D. J. R. Rivera, L. Guadalupe, R. Canul, H. González, A. Jorge, S. Mercado, H. R. Bravo, and C. M. Liébana, "Caracterización sensorial del camarón ahumado ( *Litopenaeus vannamei* ) mediante la técnica perfil flash," *Univ. del Mar, Laboratorio Análisis y Tecnol. Aliment. Campus Puerto Ángel, Oaxaca, México*, pp. 27–34, 2010.
- [65] J. Alcalde, "Generalized procrustes analysis (GPA) as a tool to discriminate among sheep breeds," *Arch. für Tierzucht*, vol. 57, p. 28, 2014.
- [66] D. Ghosh and P. Chattopadhyay, "Application of principal component analysis (PCA) as a sensory assessment tool for fermented food products," *J. Food Sci. Technol.*, vol. 49, no. 3, pp. 328–334, 2012.
- [67] R. Olivas-Gastélum, "Comparación y evaluación de las pruebas de diferencia Dúa-trío, triangular, ABX e igual diferente.," *Temas selectos de*



*ingeniería de alimentos 2*. pp. 66–80, 2008.

- [68] P. V. Aguilar and D. Hernández, “Harinas y almidones de yuca, ñame, camote y ñampí: propiedades funcionales y posibles aplicaciones en la industria alimentaria. Cassava, yam, sweet potato and ñampi starch: functional properties and possible applications in the food industry,” *Tecnol. en Marcha*, vol. Vol. 25, pp. 37–45, 2013.
- [69] T. N. Fagbemi, Oluwatooyin F. Osundahunsi, E. Kesselman, and E. Shimoni, “Comparison of the physicochemical properties and pasting characteristics of flour and starch from red and white sweet potato cultivars,” *J. Agric. Food Chem*, vol. 51, no. 8, pp. 2232–2236, 2003.
- [70] H. W. Kim, J. B. Kim, S. M. Cho, M. N. Chung, Y. M. Lee, S. M. Chu, J. H. Che, S. N. Kim, S. Y. Kim, Y. S. Cho, J. H. Kim, H. J. Park, and D. J. Lee, “Anthocyanin changes in the Korean purple-fleshed sweet potato, Shinzami, as affected by steaming and baking,” *Food Chem.*, vol. 130, no. 4, pp. 966–972, 2012.
- [71] M. Parzanese, “Tecnologías para la industria alimentaria liofilización de alimentos,” *Aliment. argentinos*, pp. 1–12, 1960.
- [72] T. Oki, M. Masuda, S. Furuta, Y. Nishiba, N. Terahara, and I. Suda, “Involvement of anthocyanins and other phenolic compounds in radical-scavenging activity of purple-fleshed sweet potato cultivars,” *Food Chem. Toxicol.*, vol. 67, no. 5, pp. 1752–1756, 2002.
- [73] M. M. Giusti and R. E. Wrolstad, “Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems,” *Biochem. Eng. J.*, vol. 14, no. 3, pp. 217–225, 2003.
- [74] FAO, “Los principales factores ambientales y de suelos que influyen sobre la productividad y el manejo,” pp. 1–5, 2000.



- [75] M. Boscaiu, M. Sánchez, I. Bautista, and P. Donat, "Phenolic compounds as stress markers in plants from *Gypsum Habitats*," *Bull. UASVM Hortic.*, vol. 67, no. 1, pp. 44–49, 2010.
- [76] W. Wang, *Lyophilization and development of solid protein pharmaceuticals*, vol. 203, no. 1–2. 2000.
- [77] J. A. Saraiva, C. S. Nunes, and M. A. Coimbra, "Purification and characterization of olive (*Olea europaea* L.) peroxidase - Evidence for the occurrence of a pectin binding peroxidase," *Food Chem.*, vol. 101, no. 4, pp. 1571–1579, 2007.
- [78] S. Kubow, M. M. Iskandar, K. Sabally, B. Azadi, S. Sadeghi Ekbatan, P. Kumarathasan, D. D. Das, S. Prakash, G. Burgos, and T. zum Felde, "Biotransformation of anthocyanins from two purple-fleshed sweet potato accessions in a dynamic gastrointestinal system," *Food Chem.*, vol. 192, pp. 171–177, 2016.
- [79] X. Liu, T. Mu, H. Sun, M. Zhang, and J. Chen, "Optimisation of aqueous two-phase extraction of anthocyanins from purple sweet potatoes by response surface methodology," *Food Chem.*, vol. 141, no. 3, pp. 3034–3041, 2013.
- [80] K. Harada, M. Kano, T. Takayanagi, O. Yamakawa, and F. Ishikawa, "Absorption of acylated anthocyanins in rats and humans after ingesting an extract of *Ipomoea batatas* purple sweet potato tuber.," *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, vol. 68, no. 7, pp. 1500–7, 2004.
- [81] Camacho-Hernández, Zazueta-Morales, Gallegos-Infante, Aguilar-Palazuelos, Rocha-Guzmán, Navarro-Cortez, Jacobo-Valenzuela, and Gómez-Aldapa, "Effect of extrusion conditions on physicochemical characteristics and anthocyanin content of blue corn third-generation snacks," *J. Food*, vol. 12, pp. 320–330, 2014.
- [82] L. Yu and T. Beta, "Identification and antioxidant properties of phenolic

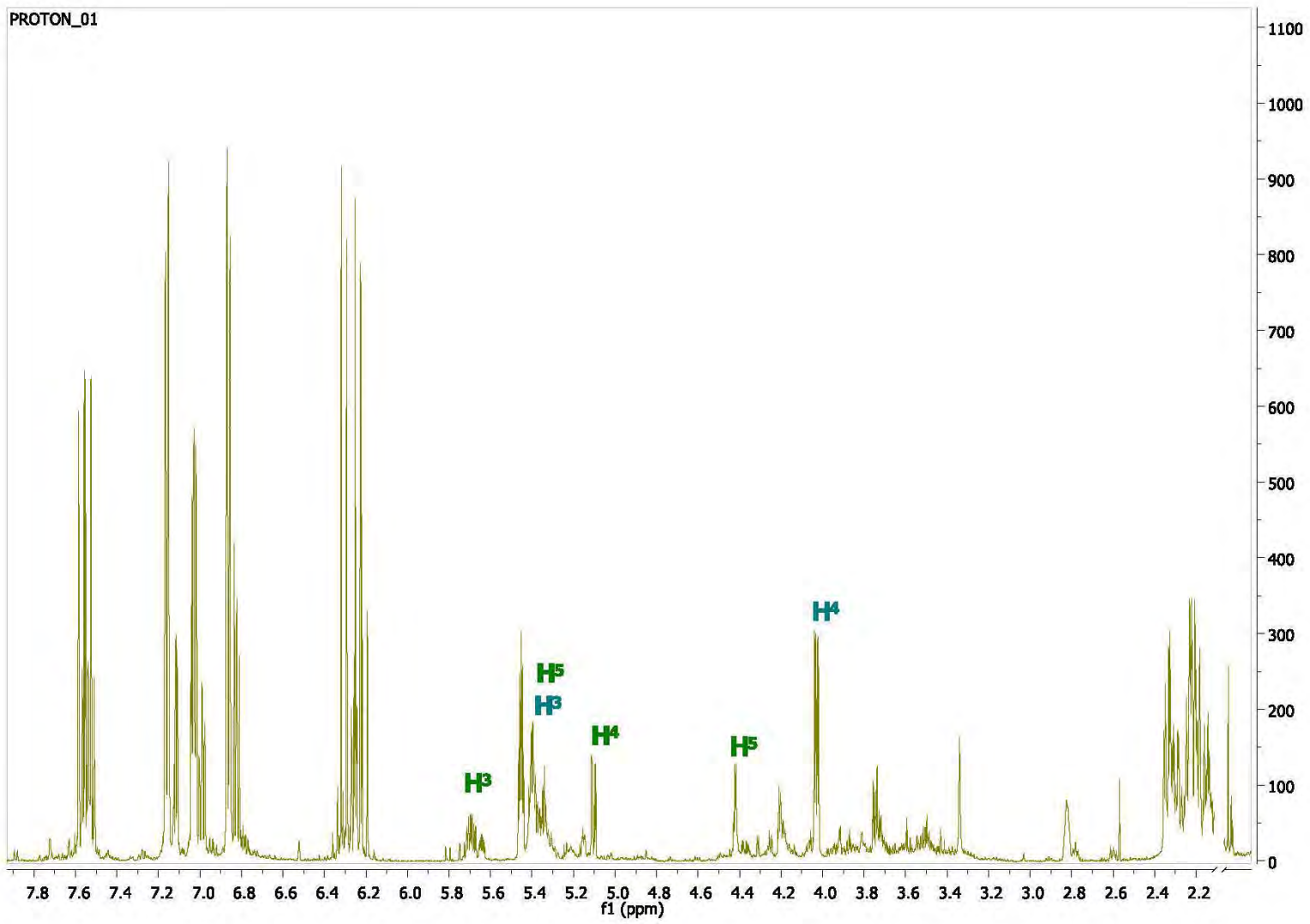


compounds during production of bread from purple wheat grains,” *Molecules*, vol. 20, no. 9, pp. 15525–15549, 2015.

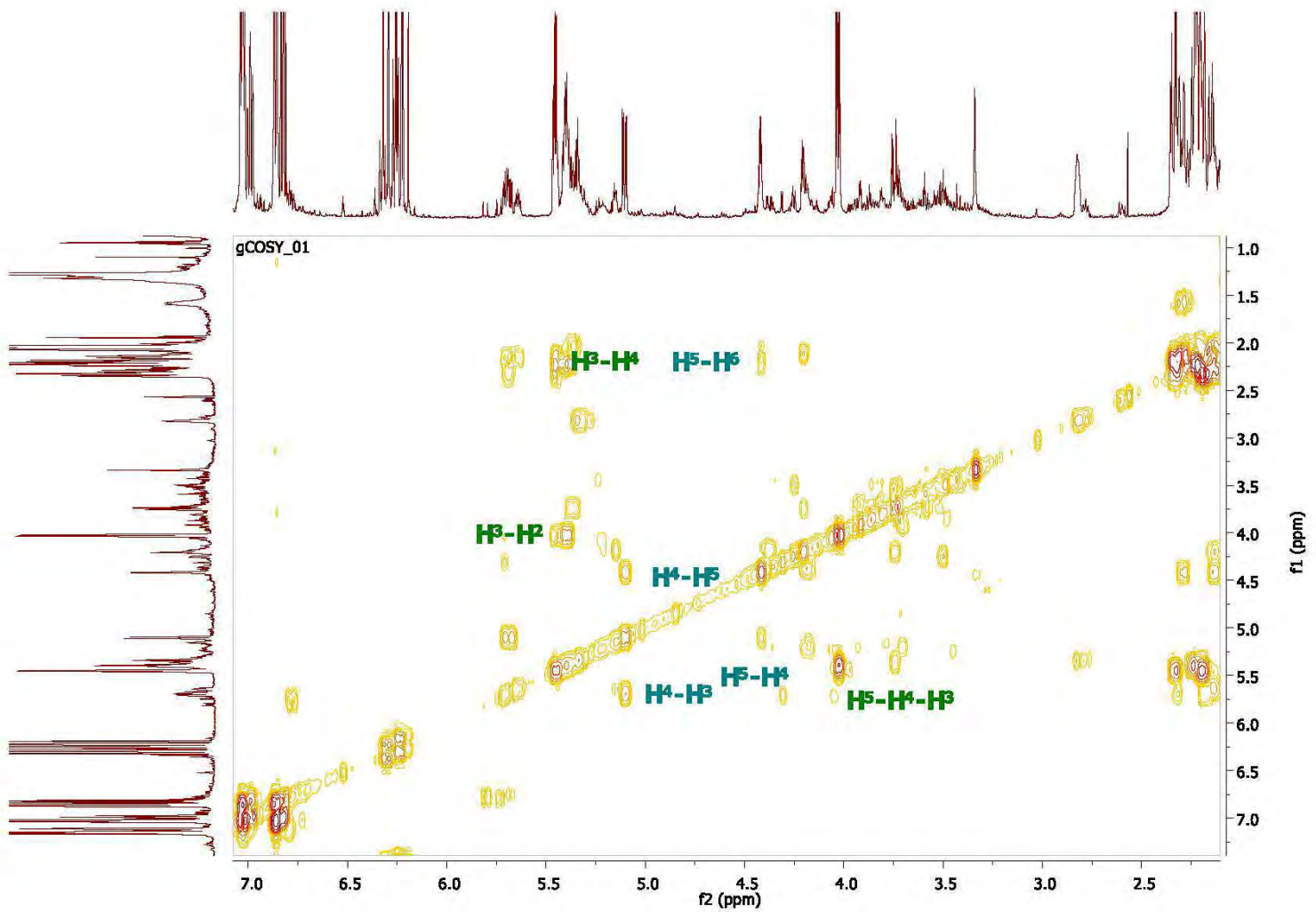
- [83] E. Hernández, “Evaluación Sensorial,” *Univ. Nac. Abierta y a Distancia*, vol. 1, no. Bogota, pp. 1–85, 2005.
- [84] A. Carreto, “<http://apuntescientificos.org/afectivas.html>,” *Derechos reservados “Apuntes Científicos.”* .
- [85] H. W. Kim, J. B. Kim, S. M. Cho, M. N. Chung, Y. M. Lee, S. M. Chu, J. H. Che, S. N. Kim, S. Y. Kim, Y. S. Cho, J. H. Kim, H. J. Park, and D. J. Lee, “Anthocyanin changes in the Korean purple-fleshed sweet potato, Shinzami, as affected by steaming and baking,” *Food Chem.*, vol. 130, no. 4, pp. 966–972, 2012.



Anexo I. <sup>1</sup>H-RMN de los ácidos 3,5 y 3,4 DCA

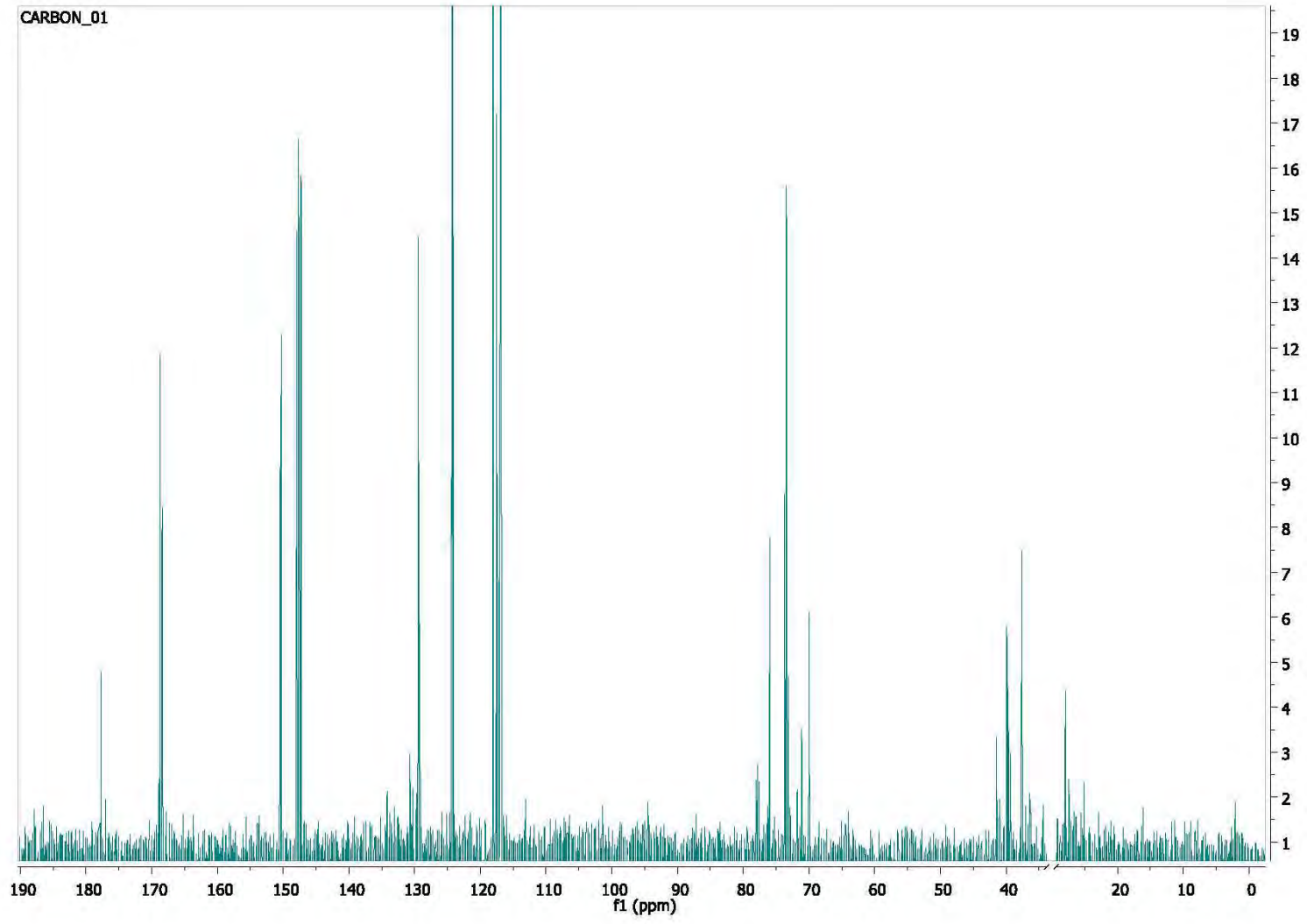


COSY de los ácidos 3,5 y 3,4 DCA

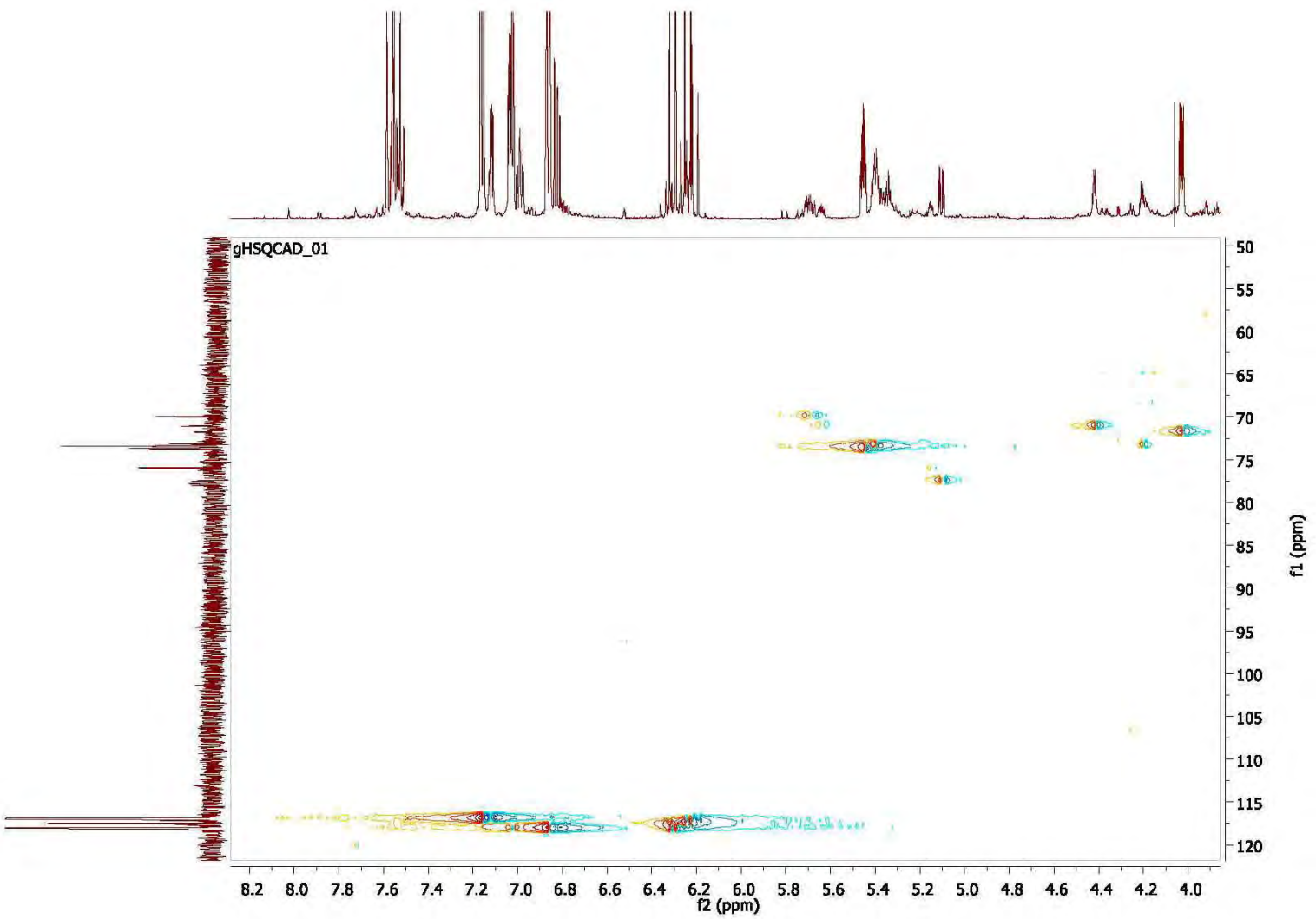




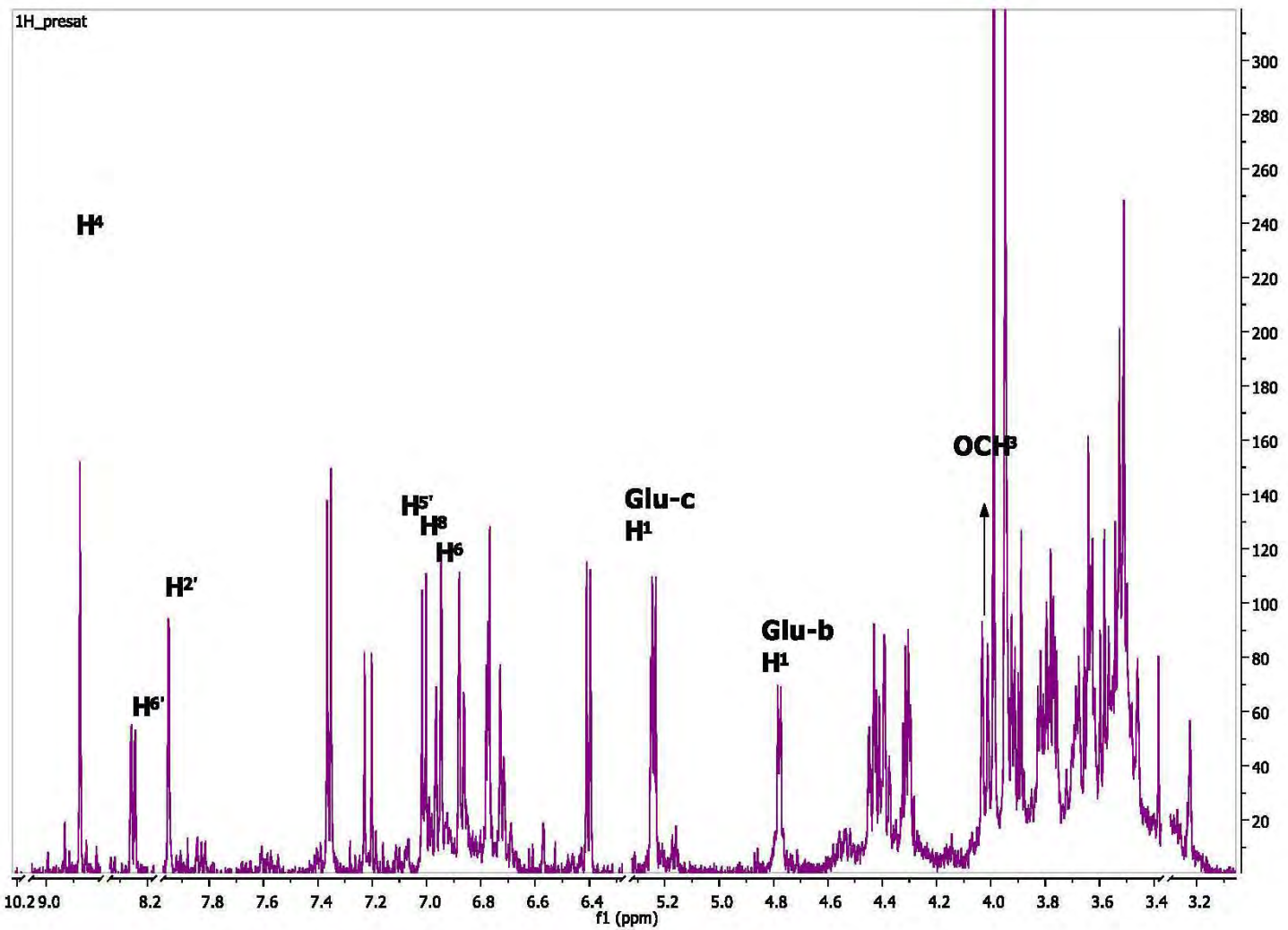
**<sup>13</sup>C-RMN de los ácidos 3,5 y 3,4 DCQ**



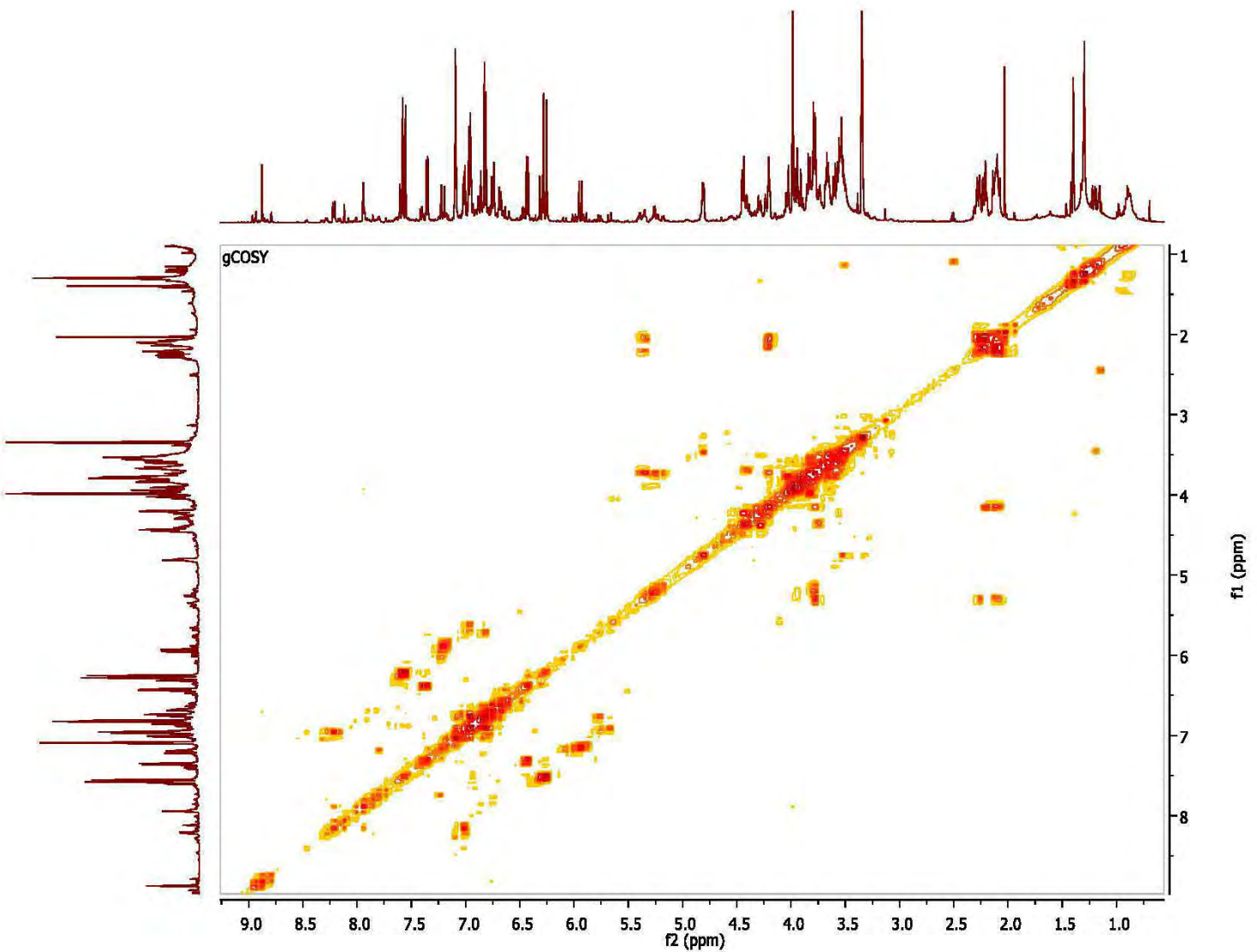
# HSQC de los ácidos 3,5 y 3,4 DCQ



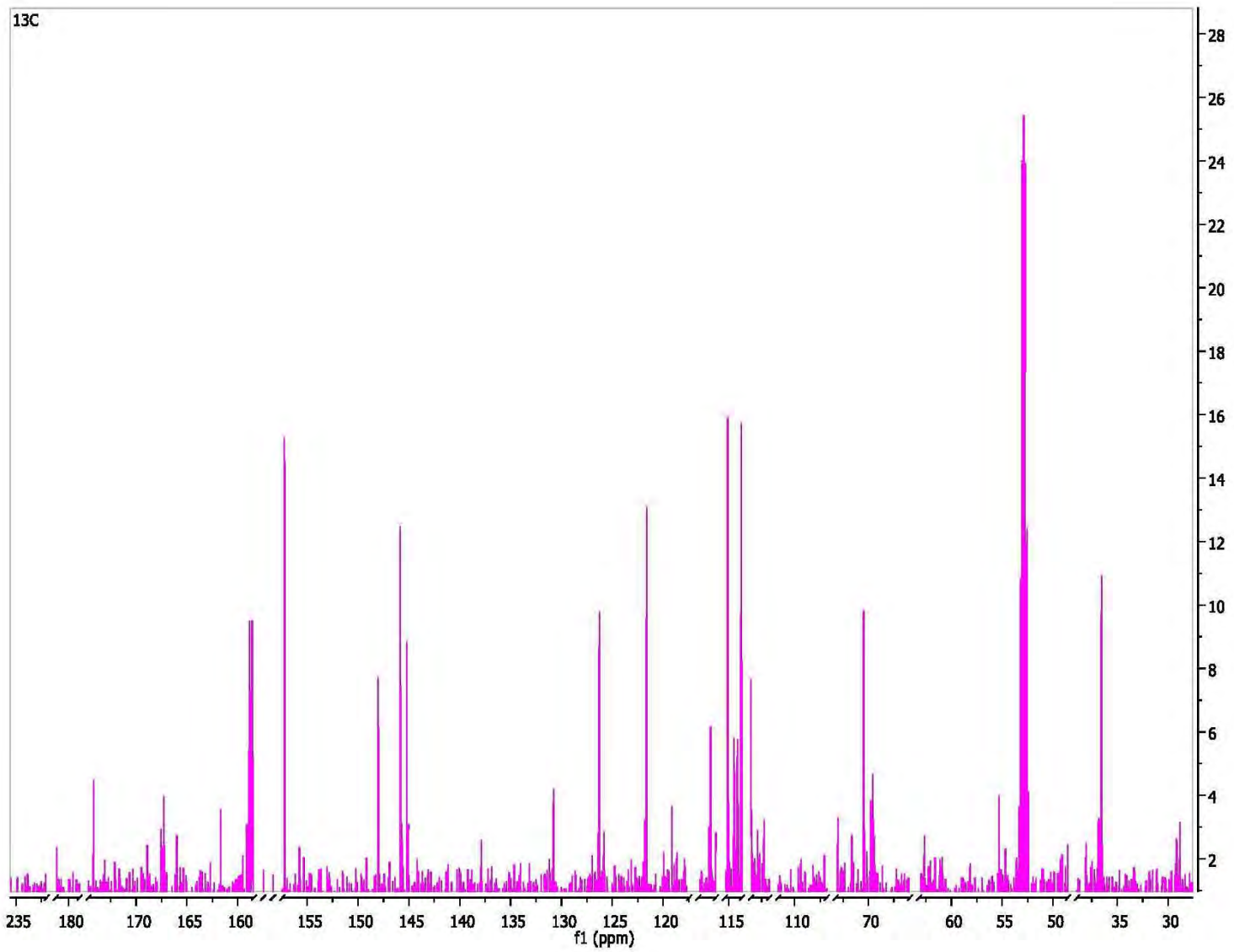
Anexo II. <sup>1</sup>H-RMN de la peonidina-3-(cafeoil-*p*-hidroxibenzoil sofrósido)-5-glucósido



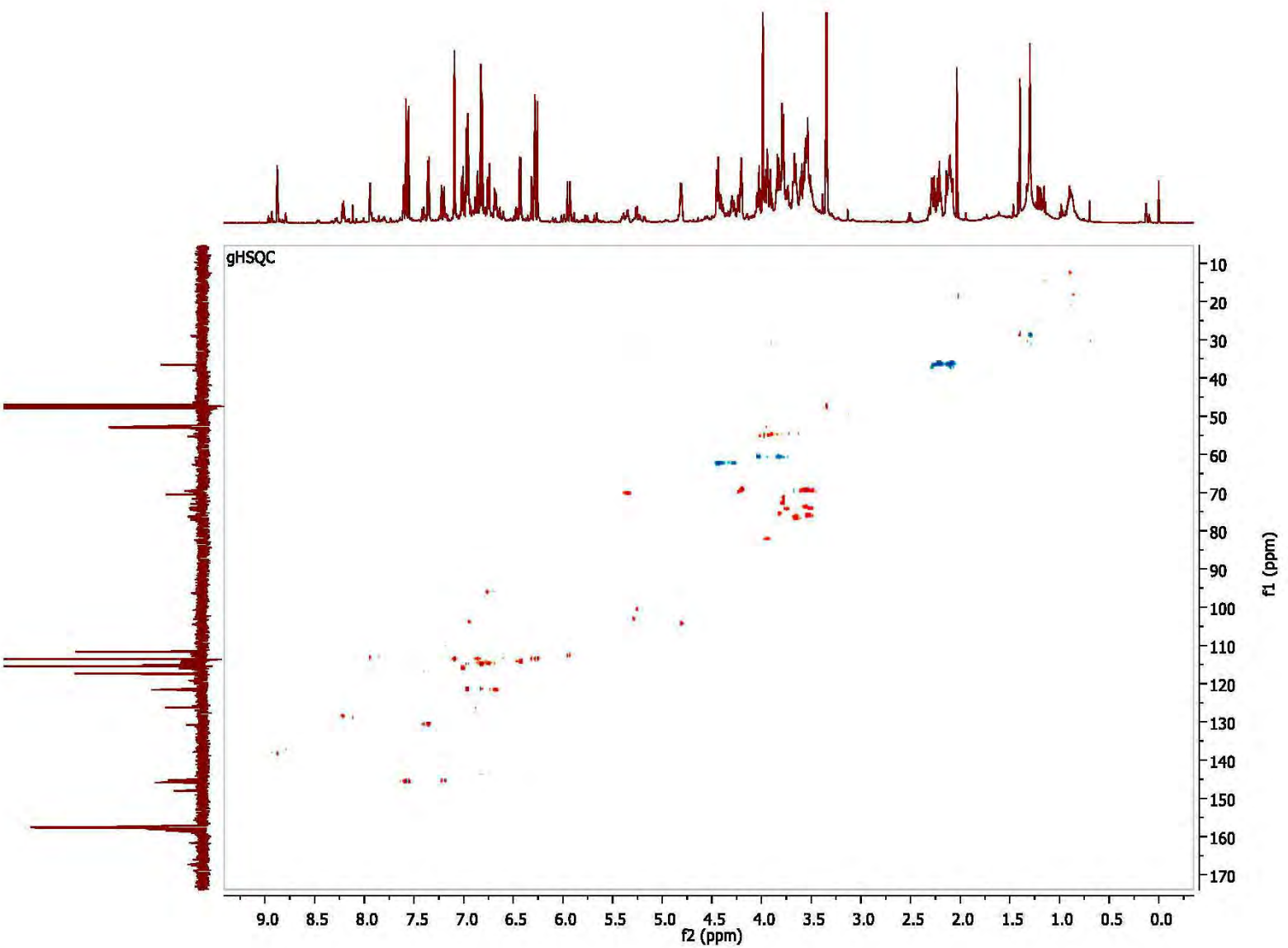
Experimento COSY de la peonidina 3-(cafeoil-*p*-hidroxibenzoil sofrósido)-5-glucósido



**<sup>13</sup>C-RMN de la peonidina-3-(cafeoil-*p*-hidroxibenzoil sofrósido)-5-glucósido**

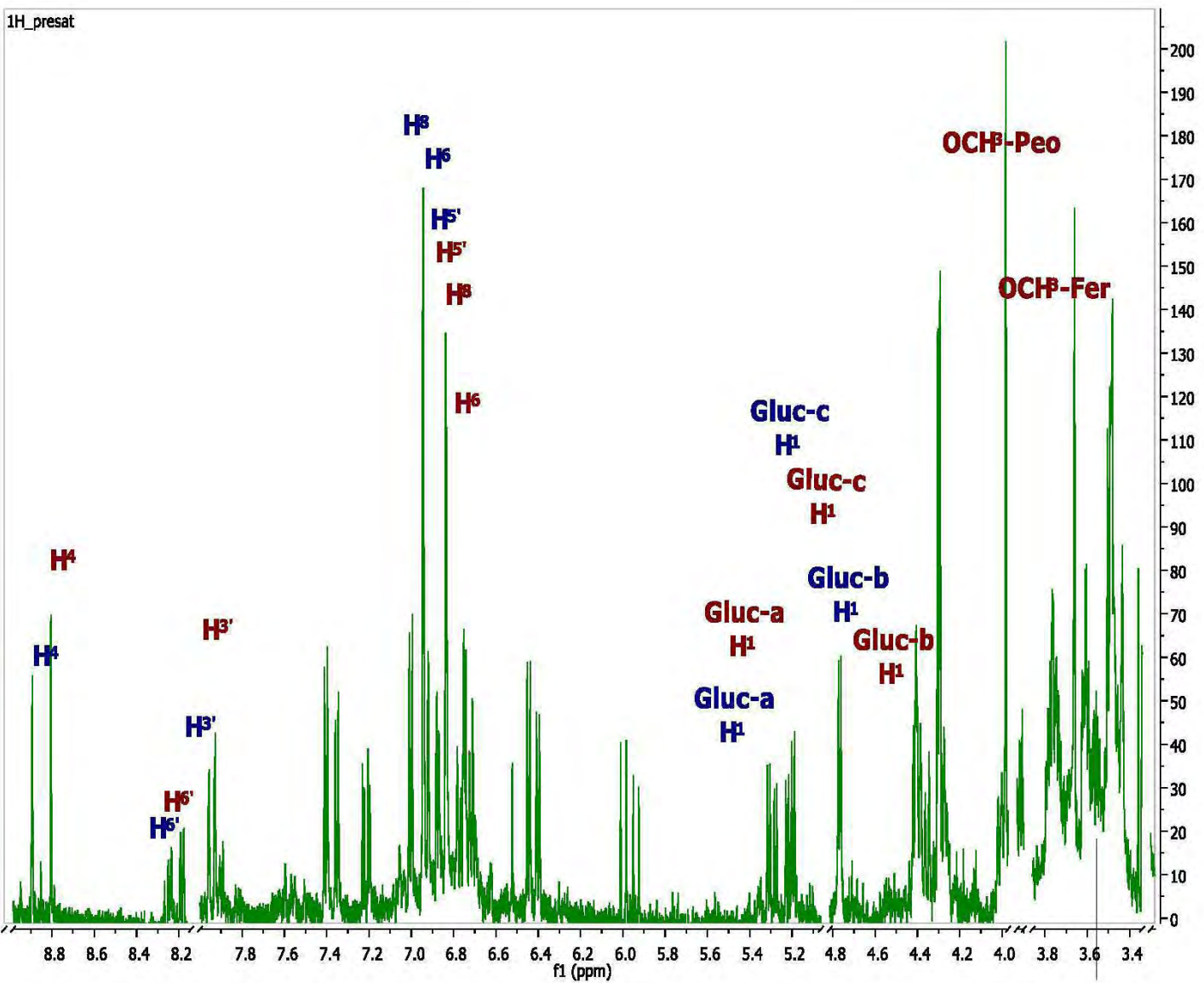


HSQC de la peonidina 3-(cafeoil-*p*-hidroxibenzoil sofrósido)-5- glucósido





Anexo III. <sup>1</sup>H-RMN de las antocianinas: peonidina 3- (feruloiil-p-cumaril soforósido)-5-glucósido y cianidina-3-(6'6"-dicafeoil soforósido)-5-glucósido



## Anexo IV. Análisis estadístico de colorimetría

### Días

1 =-1

2 =-0.33

4 =1

7 =0.33

### Snacks B

Snack de Harina=1

Snack de pulpa=-1

### Bloque

3 repeticiones

## PARÁMETRO a\*. RANGO DE COLOR DE ROJO A VERDE

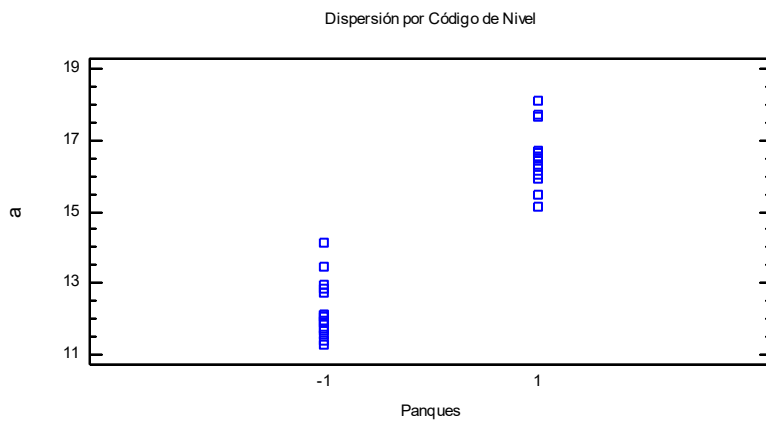
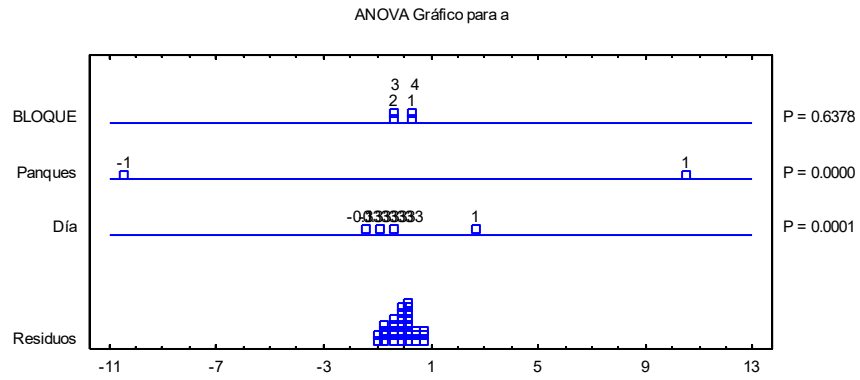
### Análisis de Varianza para a - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Día	10.1464	3	3.38213	10.93	0.0001
B: Snack	146.702	1	146.702	473.94	0.0000
C: BLOQUE	0.532718	3	0.177573	0.57	0.6378
RESIDUOS	7.42888	24	0.309537		
TOTAL (CORREGIDO)	164.81	31			





Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual



En la dispersión de código de nivel se observa la diferencia entre el Snack de harina (1) y Snack de pulpa (-1) y entre ellos se agrupan totalmente. Mostrando valores más altos del parámetro los Snacks de harina (1). Por lo tanto, tienen una mayor intensidad de color rojo los snacks de harina, ya que el parámetro  $a^*(+)$  indica la tonalidad de color rojo.

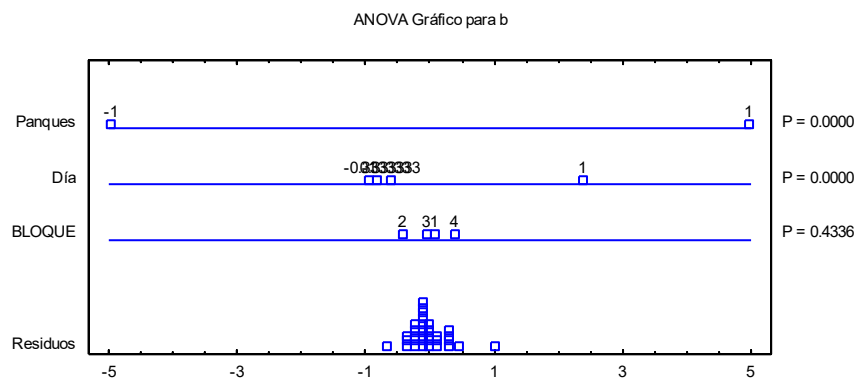


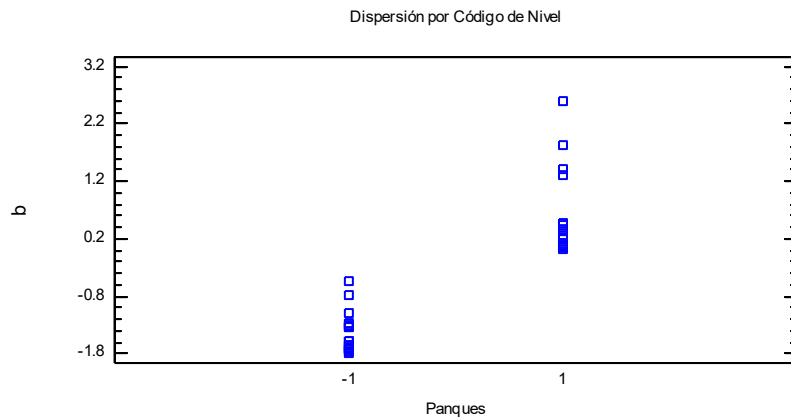
## PARÁMETRO b\*. RANGO DE COLOR DE AMARILLO A AZUL

### Análisis de Varianza para b - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	de Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: BLOQUE	0.322727	3	0.107576	0.95	0.4336
B: Día	7.6411	3	2.54703	22.42	0.0000
C: Snack	32.7121	1	32.7121	287.97	0.0000
RESIDUOS	2.72634	24	0.113597		
TOTAL (CORREGIDO)	43.4023	31			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual





En la dispersión de código de nivel se observa la diferencia entre el Snack de harina (1) y Snack de pulpa (-1) y entre ellos se agrupan totalmente. Mostrando valores más altos del parámetro los Snack de harina (1). Por lo tanto, tienen una mayor intensidad de color amarillo los Snack de harina, ya que el parámetro  $b^*(+)$  indica la tonalidad de color amarillo y los snacks de pulpa más intensidad de color azul  $b^*(-)$ .

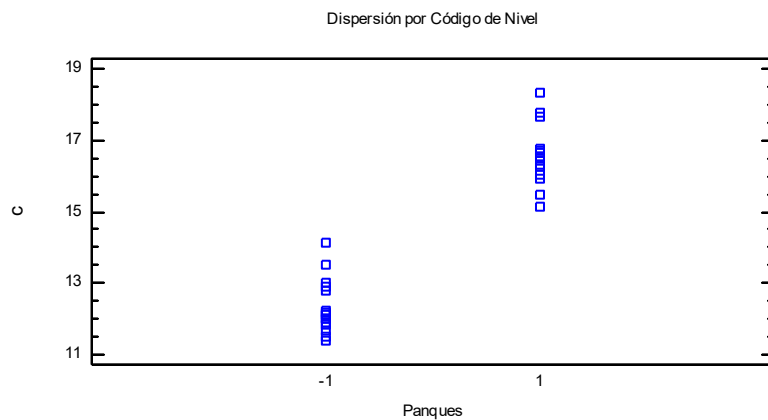
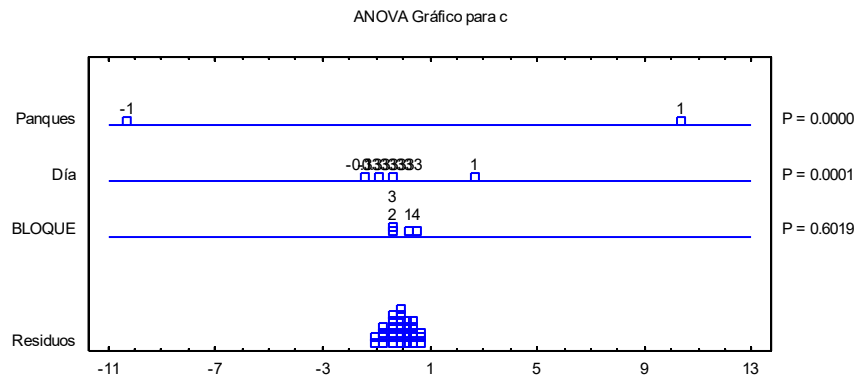
### PARÁMETRO C\*. COLORIDO

#### Análisis de Varianza para c - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>de Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: BLOQUE	0.571437	3	0.190479	0.63	0.6019
B: Día	10.3178	3	3.43927	11.40	0.0001
C: Snack	142.321	1	142.321	471.79	0.0000
RESIDUOS	7.23993	24	0.301664		
TOTAL (CORREGIDO)	160.45	31			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual





En la dispersión de código de nivel se observa la diferencia entre el Snack de harina (1) y Snack de pulpa (-1) y entre ellos se agrupan totalmente. Mostrando valores más altos del parámetro los snacks de harina (1). Por lo tanto, los Snacks de harina muestran un nivel más colorido que los Snacks de pulpa.

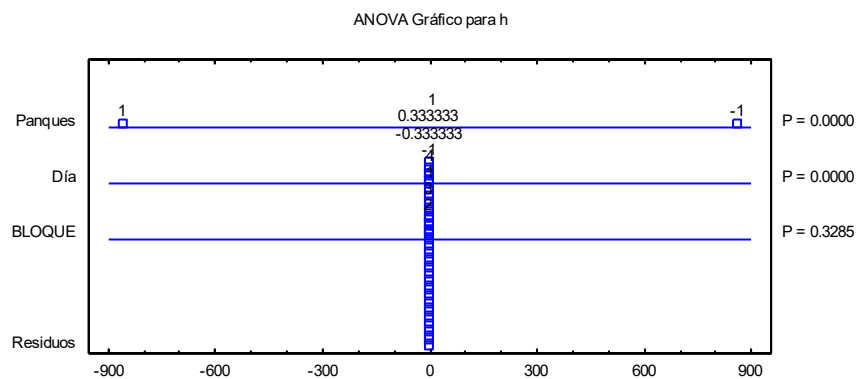


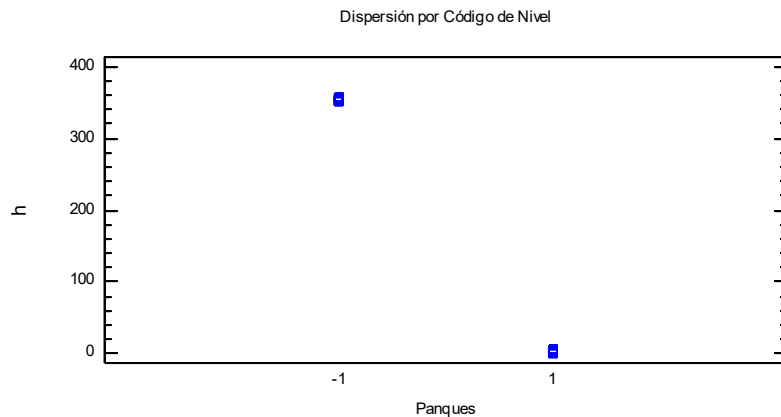
## PARÁMETRO h\*. TONO

### Análisis de Varianza para h - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	de Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: BLOQUE	4.58278	3	1.52759	1.21	0.3285
B: Día	112.232	3	37.4108	29.56	0.0000
C: Snacks	987175.	1	987175.	780096.60	0.0000
RESIDUOS	30.3709	24	1.26545		
TOTAL (CORREGIDO)	987322.	31			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual





En la dispersión de código de nivel se observa la diferencia entre el Snack de harina (1) y Snack de pulpa (-1) y entre ellos se agrupan totalmente. Mostrando valores más altos del parámetro los Snacks de pulpa (-1) que lo de harina (+). Por lo tanto, los snacks de pulpa muestran una tonalidad más clara y los de harina una tonalidad más oscura.

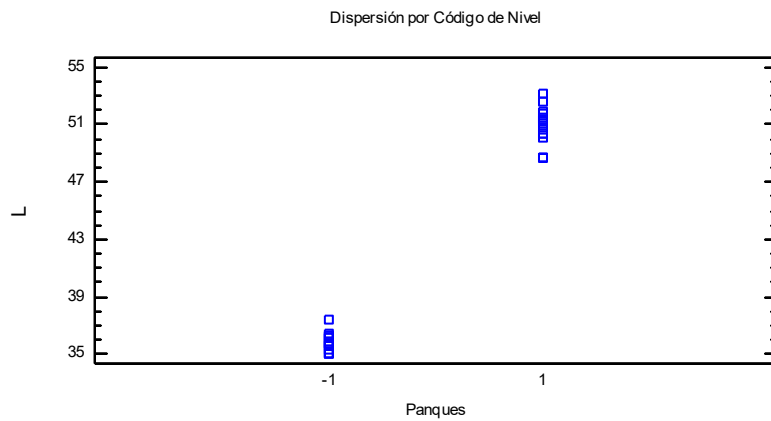
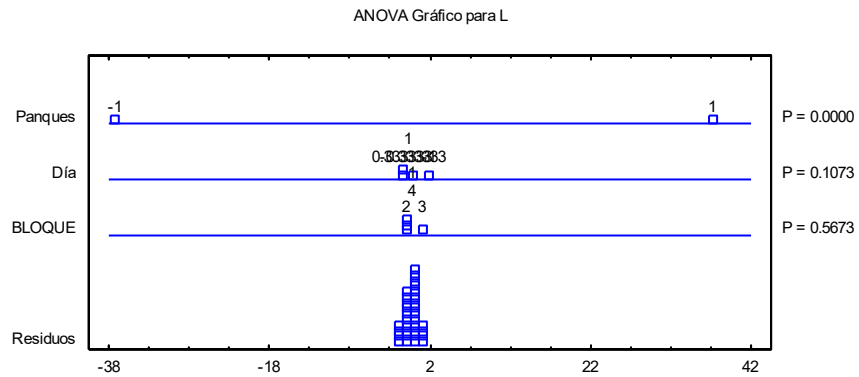
## PARÁMETRO L\*. LUMINOSIDAD

### Análisis de Varianza para L - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>de Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: BLOQUE	1.73634	3	0.57878	0.69	0.5673
B: Día	5.69099	3	1.897	2.26	0.1073
C: Snacks	1839.03	1	1839.03	2190.98	0.0000
RESIDUOS	20.1448	24	0.839366		
TOTAL (CORREGIDO)	1866.6	31			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual





En la dispersión de código de nivel se observa la diferencia entre el Snack de harina (1) y Snack de pulpa (-1) y entre ellos se agrupan totalmente. Mostrando valores más altos del parámetro los snacks de harina (1) que lo de pulpa (-1). Por lo tanto, los Snacks de harina muestran mayor luminosidad que los snacks de pulpa.

