

Pigmentos antociánicos y actividad antioxidante de raíces de ahípa (*Pachyrhizus ahípa*)

Rolny N.¹, Zaro M. J.^{2,3}, Díaz A.³, Dini C.³, Viña S. Z.^{2,3}

(1) Curso Análisis Químico, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (FCAYF) UNLP; ² Curso Bioquímica y Fitoquímica FCAYF UNLP; ³ CIDCA (Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos), Facultad de Ciencias Exactas UNLP – CONICET La Plata – CIC-PBA. Calle 47 y 116 S/N°, La Plata (B1900AJJ), Buenos Aires, Argentina. E-mail: nadiarolny@agro.unlp.edu.ar

RESUMEN

Se caracterizaron y cuantificaron compuestos fenólicos presentes en los tejidos internos (córtex+cilindro vascular) y externos (rizodermis+tejidos anexos) de raíces de ahípa. Los extractos se obtuvieron con metanol:HCl 1% y se analizaron espectrofotométricamente (pico máximo de absorbancia: 520nm). Se cuantificaron antocianinas totales mediante el método del pH-diferencial. Los extractos se purificaron y analizaron mediante HPLC-DAD. Se determinó la actividad antioxidante (AA) por los métodos ABTS^{•+} y FRAP y se cuantificaron fenoles, flavonoides y taninos. La concentración de antocianinas en los tejidos externos superó 8,7 veces la de los internos. El análisis cromatográfico mostró un perfil similar en ambos sectores, observándose al menos 5 tipos de antocianinas diferentes. La AA de la rizodermis+tejidos anexos superó 20 y 24 veces a la del córtex+cilindro vascular (ABTS^{•+} y FRAP, respectivamente). Los tejidos externos presentaron concentraciones superiores de fenoles (2228,2±26,3mg ácido gálico/kg), flavonoides (2979,0±202,7mg catequina/kg) y taninos (3582,8±59,6mg ácido tánico/kg). En los tejidos internos, la concentración de dichos componentes fue 359±5,5mg ácido gálico/kg, 605,1±21,9mg catequina/kg y 313,8±20,5mg ácido tánico/kg, respectivamente. Así, las raíces de ahípa constituirían una fuente de compuestos bioactivos, con moderada actividad antioxidante en los tejidos internos. La elevada concentración de antocianinas en la rizodermis posibilitaría aprovechar este material de desecho para la obtención de pigmentos naturales.

Palabras Clave: cultivos no tradicionales; reutilización de residuos; compuestos fenólicos; componentes bioactivos

ABSTRACT

Phenolic compounds present in the internal (cortex+vascular cylinder) and external (rhizodermis+ annexes tissues) tissues of ahípa roots were characterized and quantified. The extracts were obtained with methanol: HCl 1% and analyzed spectrophotometrically (absorbance peak: 520nm). Total anthocyanins were quantified by the pH-differential method. The extracts were purified and analyzed by HPLC-DAD. Antioxidant activity (AA) was determined by the ABTS^{•+} and FRAP methods. Total phenols, flavonoids and tannins were quantified spectrophotometrically. The concentration of anthocyanins in the outer tissues exceeded 8.7 times the internal one. Chromatographic analysis showed a similar profile in both sectors, showing at least 5 different types of anthocyanins. The AA of rhizodermis+annexes tissues exceeded 20 and 24 times the one of the cortex+vascular cylinder (ABTS^{•+} and FRAP, respectively). External tissues had higher concentrations of phenols (2228.2±26.3 mg gallic acid/kg), flavonoids (2979.0±202.7 mg catechin/kg) and tannins (3582.8±59.6 mg tannic acid/kg). In the internal tissues, the level of these components was 359±5.5 mg gallic acid / kg, 605.1±21.9 mg catechin/kg and 313.8±20.5 mg tannic acid/kg, respectively. Thus, the roots of ahípa constitute a source of bioactive compounds, with moderate antioxidant activity in the internal tissues. The high concentration of anthocyanins in the rhizodermis makes possible to take advantage of this waste material for the production of natural pigments.

Keywords: non-traditional crops; waste re-utilization; phenolic compounds; bioactive components





INTRODUCCIÓN

En la industria de los alimentos son comúnmente usados diversos colorantes sintéticos. El interés por los pigmentos naturales se ha incrementado marcadamente debido a que los consumidores están cada vez más preocupados por los potenciales efectos colaterales de los aditivos artificiales (Aguilera et al. 2016).

Las antocianinas extraídas de tejidos vegetales pueden ser sustitutos adecuados para los colorantes sintéticos debido a sus colores atractivos, brillantes, su solubilidad en agua y la ausencia de efectos adversos para la salud (Sang et al. 2017). Se trata de un grupo de metabolitos fenólicos ampliamente distribuidos en frutas y hortalizas, responsables de variados colores tales como rojo, azul, violeta, incluso ligeramente anaranjados. En los últimos años se ha investigado profusamente sobre las antocianinas, debido a que muestran un amplio rango de propiedades beneficiosas para la salud tales como actividad antioxidante, capacidad cardioprotectora, efecto anti-inflamatorio, y actividad anticarcinógena especialmente a nivel del colon, por las modificaciones que pueden provocar en la composición de la microbiota intestinal (Wang et al. 2017).

En la actualidad, varios estudios se han enfocado en el hallazgo de nuevas fuentes vegetales con alto contenido de antocianinas. Cultivos indígenas sub-utilizados, muchas veces poco explorados, frutas y hortalizas ricas en estos compuestos, atraen el interés sustancial de la industria alimentaria y farmacéutica, como alternativas naturales a los colorantes artificiales y por sus propiedades terapéuticas (Swier et al. 2016).

Las especies del género *Pachyrhizus* (familia Leguminosas), nativas de América Central y del Sur, producen raíces tuberosas que se caracterizan por la acumulación de almidón, junto con una relativamente alta cantidad de proteínas. Las principales especies cultivadas son: *P. tuberosus*, *P. erosus* y *P. ahipa*. Esta última especie, comúnmente conocida como ahipa o *Andean yam bean*, procede de los Andes bolivianos y el norte de Argentina (Dopporto et al. 2010). La raíz se consume casi exclusivamente cruda, como las frutas, o incluso cocida. Su piel se desprende fácilmente (Milanez y Moraes-Dallaqua 2003) y acumula en algunos casos pigmentos antocianínicos, que pueden también encontrarse presentes en la parte interior, carnosa, de la raíz.

El objetivo del presente trabajo fue extraer, caracterizar y cuantificar compuestos fenólicos presentes en los tejidos internos (córtex+cilindro vascular) y externos (rizodermis y tejidos anexos) de raíces de ahipa, a fin de evaluar su potencial como fuente de compuestos bioactivos antioxidantes y pigmentos naturales de uso alimentario.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se trabajó con raíces de *Pachyrhizus ahipa* cultivadas en la EEA Montecarlo del INTA (Misiones, Argentina). Las mismas se cosecharon en el mes de abril de 2016. Una vez recibidas en el laboratorio (CIDCA-La Plata), las raíces se lavaron, se desinfectaron por inmersión en una solución de NaOCl (200 ppm, 10 minutos) y se secaron a temperatura ambiente. Las raíces se pelaron, separando manualmente los tejidos externos (rizodermis y tejidos anexos) de los tejidos internos (córtex + cilindro vascular). Estos últimos se cortaron en rodajas. Todas las muestras fueron conservadas a -20°C hasta su análisis.

Caracterización y cuantificación de antocianinas

La extracción de antocianinas, a partir de muestras congeladas en N₂ líquido y molidas en un molinillo hasta la obtención de polvos finos, exactamente pesadas, se llevó a cabo empleando metanol:HCl 1%. Los extractos se analizaron en un espectrofotómetro UV-Vis (Shimadzu AA-6650, Japón), obteniéndose el pico máximo de absorbancia a 520 nm.

Posteriormente, el contenido de antocianinas totales se cuantificó mediante el método del pH-diferencial (Giusti y Wrolstad 2001). Dicho método se basa en la absorbancia diferencial de los compuestos a pH 4,5 y 1. En el primer caso (pH 4,5), se tomó una alícuota del extracto metanólico de los tejidos y se agregó buffer NaCH₃COO 0,4M pH 4,5 (50:50); en el segundo caso (pH 1), a una alícuota del extracto se le agregó buffer KCl 0,025M pH 1 (50:50). Para el extracto obtenido a partir de los tejidos externos (rizodermis) la relación fue 20:80 para ambos pH. Se dejó reposar 15 min y se midió la absorbancia a 520 nm (longitud de máxima absorbancia) y a 700 nm. La cuantificación de antocianinas se realizó a partir de la siguiente expresión: A =



$(A_{\text{máx}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1} - (A_{\text{máx}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 4,5}$, donde $A_{\text{máx}}$ y $A_{700\text{nm}}$ son los valores de absorbancia a 520 y 700 nm respectivamente, a cada uno de los valores de pH analizados: pH=1 y pH=4,5.

Para la caracterización de los pigmentos, los extractos metanólicos se concentraron en rotavapor y se reconstituyeron en agua. A continuación se purificaron mediante separación en fase sólida empleando una columna Strata C18-E (Phenomenex, Torrance, CA, USA) previamente equilibrada con dos volúmenes de agua y metanol. Las antocianinas retenidas en la columna se eluyeron finalmente con metanol:HCl. Los extractos purificados se filtraron en membrana de nylon (0,45 μm) y se analizaron mediante HPLC-DAD (Waters Model 6000A LC, Milford, MA., EE.UU.). Para ello se empleó una columna Symmetry C18 (Waters) de 150 x 3,9 mm y una fase móvil compuesta por 5% ácido fórmico (A) y metanol (B). El gradiente de elución fue: 0-2 min: 5% B; 2-10 min: 5-20% B; 10-15 min: 20% B; 15-30 min: 20-30% B; 30-35 min: 30% B; 35-45 min: 5%. El caudal de fase móvil se mantuvo en 0,5 mL/min, el volumen inyectado fue 10 μL y la detección se realizó a 520 nm (Wu et al. 2004).

Análisis de la actividad antioxidante (AA) y cuantificación de fenoles totales, taninos y flavonoides totales

Para la preparación de los extractos, las muestras congeladas en N_2 líquido fueron molidas en molinillo. Del polvo resultante se pesaron exactamente 1 g (rizodermis) y 4 g (tejidos internos) que fueron extraídos con 4 ml de acetona:agua 70% durante 30 min y en agitación constante. Posteriormente se centrifugó a 12000 \times g (10 min a 4°C).

La determinación de compuestos fenólicos totales se llevó a cabo según Singleton et al. (1999). A una alícuota de 350 μl de extracto se le agregaron 50 μl de una dilución 1:1 del reactivo Folin-Ciocalteu y 1000 μl de H_2O destilada. Luego de 3 min de reacción se añadió 100 μl de Na_2CO_3 20% (p/v) y se llevó a volumen final de 2,5 ml con H_2O destilada. Posteriormente la mezcla de reacción se incubó a 20°C en oscuridad durante 90 min. Se midió la absorbancia a 760 nm y el contenido de compuestos fenólicos totales se cuantificó empleando ácido gálico como estándar. Los resultados se expresaron como mg/kg.

La determinación de taninos totales se realizó de acuerdo a Makkar et al. (2007). Una alícuota de 1000 μl de los extractos se hizo reaccionar con 1000 μl H_2O destilada y 100 mg de polivinilpirrolidona (PVPP). Se agitó e incubó a 4°C durante 15 min y posteriormente se centrifugó a 12.000 rpm durante 10 min. Los extractos pre-tratados se hicieron reaccionar con el reactivo de Folin-Ciocalteu tal como se describió anteriormente para la cuantificación de fenoles totales, a fin de obtener la fracción correspondiente a Fenoles No Taninos. El contenido de taninos se determinó por diferencia (Taninos = Fenoles Totales – Fenoles No Taninos) empleando ácido tánico como estándar. Los resultados se expresaron en mg/kg.

El contenido de flavonoides totales se determinó según Shin et al. (2007). A una alícuota de 800 μl de extracto se le añadió 200 μl H_2O destilada y 75 μl NaNO_2 al 5% (p/v). Se agitó e incubó 5 min a 25°C. Luego se agregó 75 μl AlCl_3 al 10% (p/v), se agitó e incubó 6 min a 25°C. Finalmente se agregó 500 μl de NaOH 1M y se llevó a volumen final de 2500 μl con H_2O destilada. La absorbancia de la solución fue medida luego de 30 min a 510 nm. El contenido de flavonoides totales se calculó empleando catequina como estándar. Los resultados se expresaron en mg/kg.

La determinación de la actividad antioxidante se llevó a cabo a partir de la inactivación del radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (Re et al. 1999). Para ello se colocaron 10 μl del extracto acetónico y se añadió 1 ml de solución $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (absorbancia $0,700 \pm 0,02$ a 734 nm). Se incubó durante 6 min a temperatura ambiente y la caída de la absorbancia se midió espectrofotométricamente a 734 nm. Se empleó Trolox como antioxidante estándar y los resultados se expresaron como Actividad Antioxidante Equivalente a Trolox (TEAC) en mg/kg.

Se midió asimismo la actividad antioxidante por el método FRAP basado en la capacidad de una muestra de reducir el catión Fe^{3+} , según Benzie y Strain (1996). A 100 μl de extracto se le añadieron 900 μl de una solución buffer ácido acético-acetato de sodio (pH 3,6) en presencia de tripiridil triazina férrica (TPTZ) y FeCl_3 . La mezcla de reacción se incubó durante 7 min y se determinó la absorbancia a 593 nm. Se empleó Trolox como antioxidante estándar y los resultados se expresaron en mg/kg.

Análisis estadístico



En todos los casos, las determinaciones fueron realizadas al menos por triplicado. Los datos se sometieron al análisis de varianza (ANOVA) correspondiente con un nivel de significación $p < 0,05$. Las medias se compararon con el test de la diferencia mínima significativa (DMS) ($p < 0,05$).

Para el análisis se utilizó el programa Infostat versión 2012 (Grupo InfoStat, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La concentración de antocianinas en los tejidos externos superó 8,7 veces la cuantificada en los tejidos internos ($1630,7 \pm 49,7$ y $186,9 \pm 1,2$ mg/kg, respectivamente). En la **Figura 1** puede apreciarse la mayor pigmentación en la zona exterior respecto a la interior de las raíces, principalmente en la cara interna de lo que comúnmente se denomina “cáscara”.

El análisis cromatográfico de los extractos purificados mostró un perfil similar en ambas zonas del tejido, observándose cinco picos bien resueltos, por lo que las raíces de ahípa contienen una mezcla de al menos 5 tipos de antocianinas diferentes (**Figura 2**). Por lo común, ciertos órganos y tejidos vegetales contienen mezclas más o menos complejas de diferentes pigmentos, y este tipo de distribución se verifica también para las antocianinas.

Por ejemplo, y como ha sido reportado previamente, las antocianinas de los frutos de berenjena (*Solanum melongena* L.) presentan un perfil cromatográfico compuesto por cuatro picos bien diferenciados correspondientes a las cuatro delfinidinas presentes, correspondiendo el pico más retenido al compuesto mayoritario: delfinidin 3-rutinósido (Zaro et al. 2014). En la **figura 2** se observa que en ahípa existen cuatro antocianinas prevalentes (correspondientes a los picos designados como A, B, C y E), cuyos tiempos de retención fueron de 19,80; 25,45; 28,53 y 33,95 min, respectivamente. Estos valores se encuentran comprendidos en el rango de t_R que abarcan las antocianinas de berenjena (16,75 – 36,61 min), bajo las mismas condiciones de corrida.



Figura 1. A) Raíces enteras, con su rizodermis (“cáscara”) (izquierda) y peladas (derecha); B) rizodermis y tejidos anexos (“cáscara”) (cara externa a la izquierda e interna a la derecha); C) Corte transversal de las raíces peladas (córtex+cilindro vascular).

Wu y Prior (2005), quienes han estudiado el perfil de antocianinas provenientes de diferentes fuentes, observaron que las delfinidinas de berenjena aparecen a valores de t_R entre 13,5 y 24,7 min en las condiciones de corrida empleadas. En dicho trabajo, de todas las fuentes vegetales estudiadas, sólo las delfinidinas, junto con la petunidina 3,5-diglucósido, son las antocianinas que aparecen a t_R inferiores a 24,6 min. Bajo las mismas condiciones, en el presente trabajo se observó que las principales antocianinas de ahípa aparecen a valores de t_R menores que el correspondiente al pico más retenido de berenjena.



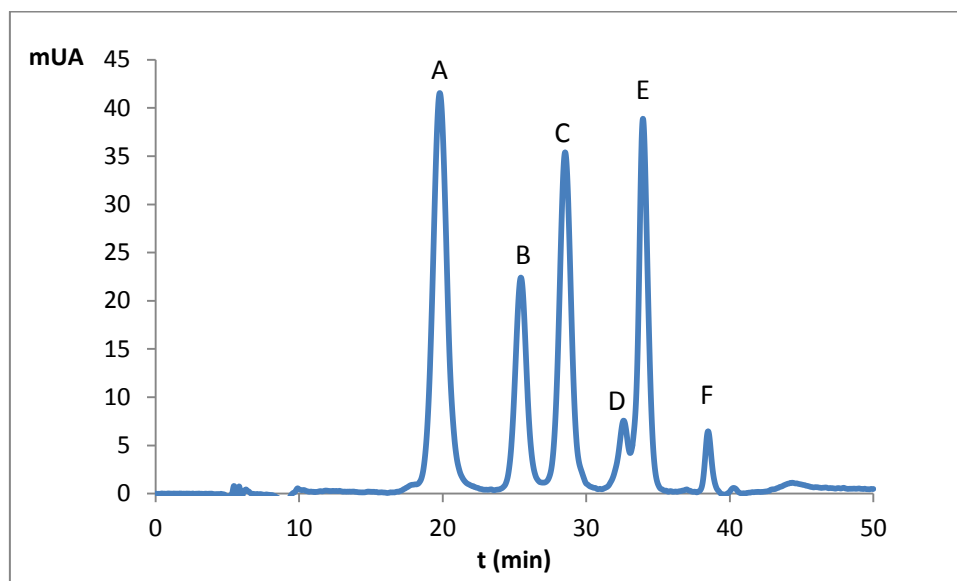


Figura 2. Cromatograma obtenido para las antocianinas de ahípa. Las letras A-F identifican los diferentes picos observados en la corrida.

Con respecto a antocianinas presentes en raíces, Kammerer et al. (2004) informaron que el contenido de antocianinas totales en los extractos obtenidos a partir de 15 cultivares de zanahoria negra (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) se encontró en el rango de 45,4 mg/kg a 17,4 g/kg de materia seca.

Por otra parte, Terahara et al. (1999) han señalado que ocho antocianinas aciladas fueron aisladas a partir de las raíces tuberosas de batatas púrpuras o violetas (*Ipomoea batatas* cultivar Yamagawamurasaki), que constituyen una fuente de colorantes alimentarios. Seis de estos compuestos fueron identificados como antocianinas diaciladas, en las que cada sustituyente acilo fue un residuo *p*-hidroxibenzoilo, (*E*) cafeilo o (*E*) ferulilo, determinado principalmente mediante análisis NMR.

Se encuentra descrito que los residuos de azúcar de las antocianinas pueden estar acilados con ácidos orgánicos. Los agentes acilantes comunes incluyen a los ácidos cinámicos, tales como cafeico, *p*-cumárico, ferúlico y sinápico (Bąkowska-Barczak 2005). Aparecen también ciertos ácidos alifáticos tales como el acético, málico, malónico, oxálico y succínico. Los ácidos cinámicos pueden ellos mismos portar azúcares glicosídicos. La acilación aromática y alifática puede ocurrir en una misma molécula, formando una estructura poliacilada.

De acuerdo con Bąkowska-Barczak (2005), el hallazgo de que los pigmentos antociánicos que contienen sustituyentes acilos son marcadamente estables abre nuevas oportunidades para los procesadores de alimentos. Las antocianinas aciladas están presentes en grandes cantidades en hortalizas tales como repollo colorado, zanahoria negra, rábano rojo, papas rojas, maíz rojo, entre otros. Estos pigmentos presentan una baja sensibilidad a los cambios de pH y una mayor estabilidad al calor y la luz. Por esta razón, las antocianinas aciladas resultarían adecuadas para incorporarse en la formulación de alimentos con bajo pH, como también en productos neutros y ligeramente alcalinos (como por ejemplo productos lácteos, polvos y postres listos para consumir).

Las determinaciones llevadas a cabo para este trabajo se complementarán con análisis orientados a la caracterización estructural detallada de los compuestos presentes, a través de espectrometría infrarroja por transformadas de Fourier (FTIR) y análisis mediante HPLC-MS.

En cuanto a la cuantificación espectrofotométrica de los compuestos fenólicos totales, flavonoides y taninos,



los resultados se muestran en la **Tabla 1**.



Tabla 1. Contenido de fenoles, flavonoides totales y taninos en raíces de ahípa

Parte de la raíz analizada	Fenoles totales (mg de ácido gálico/kg)	Flavonoides totales (mg de catequina/kg)	Taninos (mg de ácido tánico/kg)
Rizodermis y tejidos anexos (“cáscara”)	2228,2±26,3 ^a	2979,0±202,7 ^a	3582,8±59,6 ^a
Córtex y cilindro vascular	359±5,5 ^b	605,1±21,9 ^b	313,8±20,5 ^b

Los valores informados corresponden a las medias ± la desviación estándar. Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

La evaluación del contenido de compuestos fenólicos resulta sumamente relevante, ya que se ha mencionado que contribuyen directamente a la acción antioxidante de los productos de origen vegetal (Duh et al. 1999). Huang et al. (2004) han indicado que los compuestos polifenólicos tienen efectos inhibidores sobre la mutagénesis y carcinogénesis en los seres humanos, cuando se lleva a cabo una ingesta de hasta 1,0 g todos los días a partir de una dieta rica en frutas y hortalizas (Tanaka et al. 1998). Las actividades antioxidantes observadas se pueden atribuir a los diferentes mecanismos ejercidos por los diversos compuestos fenólicos y a los efectos sinérgicos desarrollados.

Según Huang et al. (2004) los compuestos flavonoides totales de diferentes fracciones extraídas a partir de plantas de batata, expresados como μ moles equivalentes de catequina por gramo de peso seco, se presentaron en mayor concentración en los extractos acuosos obtenidos de las hojas. Los extractos obtenidos en ese caso a partir de los órganos subterráneos presentaron una concentración de flavonoides totales 14 veces más baja. Las plantas de ahípa se caracterizan por presentar en la parte aérea compuestos fenólicos del tipo de los isoflavonoides, específicamente rotenona, que le confieren toxicidad a los tejidos (Catteau et al. 2013). En cuanto a sus mecanismos de acción, la toxicidad aguda de la rotenona en insectos está relacionada con su capacidad para bloquear el complejo óxido-reductasa NADH-ubiquinona y para inhibir las cadenas respiratorias mitocondriales. En los mamíferos se ha comprobado que la rotenona causa daño oxidativo a nivel celular y pérdida neuronal dopaminérgica implicada en la fisiopatología de la enfermedad de Parkinson (Lautié et al. 2012). Por este motivo, y con los materiales genéticos disponibles, resulta limitado el aprovechamiento de los órganos superiores de las plantas de ahípa, mientras que sus raíces constituyen la única parte comestible.

Los valores hallados en la cuantificación de la actividad antioxidante (AA) de los distintos componentes de las raíces, se muestran en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Actividad antioxidante (AA) de raíces de ahípa

Parte de la raíz analizada	AA (mg Trolox equivalentes /kg)	
	ABTS ^{•+}	FRAP
Rizodermis y tejidos anexos (“cáscara”)	6.278,0±175,6 ^a	10.856,3±425,7 ^a
Córtex y cilindro vascular	309,3±40,1 ^b	439,2±13,5 ^b

Los valores informados corresponden a las medias ± la desviación estándar. Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

De los valores indicados en la **Tabla 2**, puede observarse que la AA de la rizodermis y tejidos anexos superó en 20 y 24 veces a la del córtex+cilindro vascular, según los ensayos ABTS^{•+} y FRAP, respectivamente.

Para la extracción a partir de los tejidos vegetales de compuestos antioxidantes de carácter hidrofílico se han utilizado distintos solventes, tales como metanol, etanol, mezclas de etanol-agua, acetona-agua y metanol-agua, así como también extracciones en medio ácido (pH=2) con metanol-agua, seguida de acetona-agua y agua-acetonitrilo, ensayados en diferentes relaciones (Agudo Medina 2010).



Los métodos seleccionados para la cuantificación del efecto antioxidante corresponden, en el caso del empleo del radical catiónico ABTS^{•+}, a una determinación directa donde se mide la disminución de la absorbancia por una reducción en la concentración del radical, a medida que se produce su inactivación. Por otra parte, el método FRAP representa una determinación indirecta, que se fundamenta en el poder que tiene una sustancia antioxidante para reducir el Fe³⁺ a Fe²⁺, reduciéndose el complejo férrico-TPTZ incoloro, para obtener el complejo ferroso coloreado.

Sreeramulu y Raghunath (2010) determinaron la actividad antioxidante de raíces, tubérculos y hortalizas comúnmente consumidos en India y la correlacionaron con el contenido de compuestos fenólicos totales. Dichos autores informaron que la actividad FRAP de las muestras analizadas se encontró en el rango de 243 a 10.510 mg equivalentes de FeSO₄/100 g. La actividad más alta correspondió a repollo colorado, que también contiene antocianinas en sus tejidos, y la más baja, a calabaza. En general, observaron una buena correlación entre los contenidos de fenoles totales y la actividad antioxidante, medida en ese caso por los métodos DPPH[•] y FRAP para las hortalizas, raíces y tubérculos estudiados.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos, los compuestos fenólicos del tipo flavonoides, y especialmente las antocianinas, son mayoritarios en raíces de ahípa y responsables en gran medida de su capacidad antioxidante. En este sentido, además de ser aprovechadas por su contenido de almidón (principal compuesto de reserva), las raíces de ahípa resultan una buena fuente de compuestos potencialmente bioactivos, con moderada actividad antioxidante en los tejidos internos. Por su parte, la elevada concentración de antocianinas en la rizodermis resulta interesante desde un punto de vista agroindustrial, puesto que constituye un material de desecho que podría ser aprovechado para la obtención de aditivos alimentarios y pigmentos naturales.

BIBLIOGRAFÍA

- Agudo Medina L. 2010. Técnicas para la determinación de compuestos antioxidantes en alimentos. Autodidacta, Revista de la Educación en Extremadura, 27-34.
- Aguilera Y, Mojica L, Rebollo-Hernanz M, Berhow M, González de Mejía E, Martín-Cabrejas MA. 2016. Black bean coats: New source of anthocyanins stabilized by β -cyclodextrin copigmentation in a sport beverage. Food Chemistry, 212: 561–570.
- Bąkowska-Barczak A. 2005. Acylated anthocyanins as stable, natural food colorants – a Review. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 14/55: 107–116.
- Benzie IF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. Analytical Biochemistry, 239(1):70-76.
- Catteau L, Lautie E, Kone O, Coppee M, Hell K, Pomalegni CB, Quetin-Leclercq J. 2013. Degradation of rotenone in yam bean seeds (*Pachyrhizus* sp.) through food processing. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61: 11173–11179.
- Dopporto MC, Mugridge A, Chaves AR, García MA, Viña SZ. 2010. Valor nutritivo y parámetros fisiológicos relativos a la conservación poscosecha de raíces de ahípa (*Pachyrhizus ahípa*). Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, 11: 75-81.
- Duh PD, Tu YY, Yen GC. 1999. Antioxidant activity of water extract of Harng Jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). Lebensmittel- Wissenschaft und Technologie, 32: 269-277.
- Giusti M, Wrolstad RE. 2001. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy. En: Wrolstad RE, Acree TE, Decker EA, Penner MH, Reid DS, Schwartz SJ, Shoemaker CF, Smith DM, Sporns P, editores. Current Protocols in Food Analytical Chemistry. Hoboken, NJ: John Wiley and Sons, Inc. pág F.1.2.1-F.1.2.13.
- Huang D-J, Lin Ch-D, Chen H-J, Lin Y-H. 2004. Antioxidant and antiproliferative activities of sweet potato



- (*Ipomoea batatas* [L.] Lam 'Tainong 57') constituents. Botanical Bulletin of Academia Sinica, 45: 179-186.
- Kammerer D, Carle R, Schieber A. 2004. Quantification of anthocyanins in black carrot extracts (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) and evaluation of their color properties. European Food Research and Technology, 219: 479-486.
- Lautié E, Rozet E, Hubert P, Quetin Leclercq J. 2012. Quantification of rotenone in seeds of different species of yam bean (*Pachyrhizus* sp.) by a SPE HPLC–UV method. Food Chemistry, 131:1531–1538.
- Makkar HPS, Siddhuraju S, Becker K. 2007. Plant secondary metabolites. Totowa, NJ, Humana Press Inc. pág 122.
- Milanez CRD, Moraes-Dallaqua MA. 2003. Ontogênese do sistema subterrâneo de *Pachyrhizus ahipa* (Wedd.) Parodi (*Fabaceae*). Revista Brasileira de Botânica, 26: 415-427.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine, 26(9–10): 1231–1237.
- Sang J, Sang J, Ma Q, Hou X, Li C. 2017. Extraction optimization and identification of anthocyanins from *Nitraria tangutorun* Bobr. seed meal and establishment of a green analytical method of anthocyanins. Food Chemistry, 218: 386–395.
- Shin Y, Liu R, Nock J, Holliday D, Watkins C. 2007. Temperature and relative humidity effects on quality, total ascorbic acid, phenolics and flavonoid concentrations, and antioxidant activity of strawberry. Postharvest Biology and Technology, 45(3): 349–357.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods in Enzymology, 299: 152-178.
- Sreeramulu D, Raghunath M. 2010. Antioxidant activity and phenolic content of roots, tubers and vegetables commonly consumed in India. Food Research International, 43: 1017–1020.
- Swier TL, Chauhan K, Paul PK, Mukhim C. 2016. Evaluation of enzyme treatment conditions on extraction of anthocyanins from *Prunus nepalensis* L. International Journal of Biological Macromolecules, 92: 867–871.
- Tanaka M, Kuei CW, Nagashima Y, Taguchi T. 1998. Application of antioxidative Maillard reaction products from histidine and glucose to sardine products. Nippon Suisan Gakkaishil., 54: 1409-1414.
- Terahara N, Shimizu T, Kato Y, Nakamura M, Maitani T, Yamaguchi M, Goda Y. 1999. Six diacylated anthocyanins from the storage roots of purple sweet potato, *Ipomoea batatas*. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 63: 1420-1424.
- Wang Y, Li J, Li B. 2017. Chitin microspheres: A fascinating material with high loading capacity of anthocyanins for colon specific delivery. Food Hydrocolloids, 63: 293-300.
- Wu X, Prior RL. 2005. Identification and characterization of anthocyanins by High-Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-Tandem Mass Spectrometry in common foods in the United States: vegetables, nuts, and grains. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53: 3101-3113.
- Zaro MJ, Keunchkarian S, Chaves AR, Vicente AR, Concellón A. 2014. Changes in bioactive compounds and response to postharvest storage conditions in purple eggplants as affected by fruit developmental stage. Postharvest Biology and Technology, 96: 110-117.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras agradecen a los Ingenieros Fassola H., Rohatsch P. y Feltan R. (EEA-INTA Montecarlo) por la provisión de las raíces de ahipa. El financiamiento para la realización de este trabajo fue otorgado por la ANPCyT (PICT 2012-1213, IR Dra. MA García) y el CONICET (PIP 0555, Titular Dra. SZ Viña).

