



**UNIVERSIDAD CENTRAL
DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA**

**Digestibilidad *in vitro* y aprovechamiento
por el gorgojo de arroz (*Sitophilus oryzae* L.) de
almidones de papa nativa del estado Mérida,
Venezuela. Variedades andinita, ojos catires,
tiniruca, angostureña y amarilis.**

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

Presentado ante la Ilustre Universidad Central de Venezuela, por el bachiller **José Alberto Sánchez Manzanilla** como requisito parcial para optar al título de Licenciado en Biología.

Tutor: Dr. Alexander Laurentin

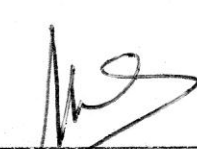
CARACAS, VENEZUELA
Febrero, 2018

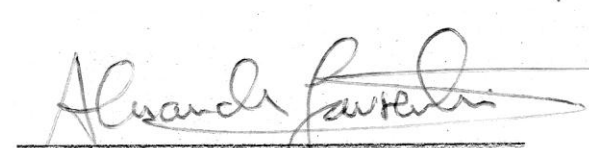
DEL EXAMEN PÚBLICO Y SOLEMNE DEL TRABAJO ESPECIAL DE GRADO DEL Br. JOSÉ ALBERTO SÁNCHEZ MANZANILLA

Quiénes suscribimos, miembros del jurado evaluador designado por el Consejo de la Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela para examinar el Trabajo Especial de Grado del Br. José Alberto Sánchez Manzanilla, C.I: 20.330.535, titulado “Digestibilidad *in vitro* y aprovechamiento por el gorgojo de arroz (*Sitophilus oryzae* L.) de almidones de papa nativa del estado Mérida, Venezuela. Variedades andinita, ojos catires, tiniruca, angostureña y amarilis.”, para optar al título de Licenciado en Biología, considerando que el trabajo cumple con los requisitos exigidos en los reglamentos respectivos lo consideramos **APROBADO**.

Para dar fe de ello se levanta la presente acta en la ciudad de Caracas, a los 9 días del mes de febrero del año dos mil dieciocho, dejando constar que el profesor Alexander Laurentin actuó como Coordinador del jurado examinador.



Prof. María Carolina Pérez

Dra. Mercedes Schnell

Prof. Alexander Laurentin
Tutor



Universidad Central de Venezuela
Facultad de Ciencias
Escuela de Biología
Dirección

CONSTANCIA

El Consejo de la Escuela de Biología, Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela, certifica que en su sesión del día 28/02/2018, acordó otorgar la **Mención Honorífica** al Trabajo Especial de Grado del bachiller **Sánchez M., José A.**, titular de la cédula de identidad No. 20.330.535; titulado: **"Digestividad in vitro y aprovechamiento por el gorgojo de arroz (*Sitophilus oryzae* L.) de almidones de papa nativa del estado Mérida, Venezuela. Variedades andinita, ojos catires, tiniruca, angostureña y amarillis."**; considerando la originalidad, independencia y creatividad en la elaboración del mismo, así como la sobresaliente calidad del trabajo escrito y la presentación oral.

Constancia que se expide a petición de la parte interesada a los veintinueve días del mes de marzo del año dos mil dieciocho.


Prof. Fernando Gonzalez
Director (Encargado)



/br.-

RESUMEN

La papa (*Solanum tuberosum*) es una importante fuente amilácea que requiere la caracterización fisicoquímica, funcional y nutricional de los almidones aislados, constituyendo la digestibilidad, el principal parámetro a considerar en el estudio nutricional. La papa nativa hace referencia a aquellas muestras de papa domesticadas en tiempos ancestrales y rescatadas en el páramo venezolano. En el presente estudio se caracterizó la digestibilidad de los almidones aislados de cinco variedades de papa nativa: amarilis, andinita, angostureña, ojos catires y tiniruca. La caracterización de la digestibilidad de los almidones de papa nativa, se realizó mediante estudios *in vitro* (estimación de los contenidos de almidón potencialmente disponible, la tasa de α -amilólisis y el almidón resistente total). Por otro lado, la digestibilidad *in vivo* se evaluó haciendo uso del bioensayo del gorgojo de arroz, *Sitophilus oryzae* L (supervivencia al día 8, variación de peso al día 8, actividad similar a α -amilasa y excreción de ácido úrico). Se encontró que los almidones de papa nativa presentan un porcentaje de almidón potencialmente disponible por encima del 90% (b.s.), la tasa de α -amilólisis estuvo por debajo de 7% (con base en almidón disponible) en todos los almidones crudos y el tenor de almidón resistente estuvo entre el 11% – 20% (b.s.). Los biomarcadores variación de peso (–20% – 7%), actividad similar a α -amilasa (571 – 1119 $\mu\text{mol/s}\cdot\text{L}$) y la excreción de ácido úrico (1472 – 5397 mg/kg) resultaron ser buenos estimadores de la digestibilidad de los almidones de papa nativa, puesto que lograron correlacionarse con varios parámetros de la digestibilidad *in vitro* ($p < 0,05$). Según la digestibilidad relativa las variedades andinita y angostureña fueron de muy alta digestibilidad, tiniruca presentó una digestibilidad intermedia, ojos catires fue de baja digestibilidad y amarilis tuvo muy baja digestibilidad.

Palabras clave: *Solanum tuberosum*, *Sitophilus oryzae*, bioensayo, biomarcadores, almidón, papa andina, Venezuela.

DEDICATORIA

A mi madre:
Por siempre estar ahí sin importar nada.

A mi padre:
Por siempre animarme a continuar y apoyarme.

A mi tía Domi:
Por tu cariño incondicional.

Los amo.

“Todos llevamos dentro una insospechada fuerza, que emerge cuando la vida nos pone a
prueba”
Isabel Allende

AGRADECIMIENTOS

A mi Dios:
Que no juzga.

A mis padres: Yolanda y Alberto.

A mi tía Domiciana y a su hija Karina, mi otra tía.

A mi tutor el Dr. Alexander Laurentin:
Gracias por creer en mí y enseñarme que lo fácil no es lo mejor.

A Estefanía por ser incondicional y siempre escucharme.

A Kati por su apoyo y amistad.

A Ina por calarse mis quejas y siempre tener la respuesta correcta.

A Radha por su buena vibra y comprensión.

A Sol por ser la amiga fiel y de las locuras.

A Rosita por su cariño.

A Keily por su apoyo.

A Ale por ser un buen amigo.

A todos los compañeros que me soportaron durante todos estos años.

A la profesora Mayra Oropeza por siempre tomarme en cuenta.

A mis compañeros de laboratorio: Roosevelt y Luis.

A mis compañeros del ICTA: Romel y Samuel.

A mis jurados: Mercedes y Carola.

A la Corporación para el Desarrollo Científico y Tecnológico (CODECYT S.A.).

ÍNDICE DE CONTENIDOS

I. INTRODUCCIÓN	1
1. El Almidón	1
1.1. Composición química	1
1.2. Estructura cristalina y granular	2
1.3. Tipos de almidón según la acción de las enzimas	4
1.4. Biodisponibilidad del almidón	5
1.5. Digestión del almidón	7
1.6. Almidón Resistente	9
1.6.1. Definición	9
1.6.2. Clasificación del almidón resistente	10
1.6.3. Efectos fisiológicos y metabólicos del almidón resistente	13
2. Digestibilidad del almidón	15
3. El gorgojo de arroz como modelo en los estudios nutricionales	16
II. ANTECEDENTES	21
1. Descripción de la papa como especie vegetal	21
2. La papa como fuente amilácea	22
3. La papa nativa	23
4. La papa nativa en Venezuela	25
5. Estudios in vitro e in vitro del almidón de papa	27
III. OBJETIVOS	30
1. Objetivo general	30
2. Objetivos específicos	30
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	31
1. Muestras de almidón	31
2. Digestibilidad in vitro de los almidones de papa nativa	32
2.1. Estimación del contenido de almidón total y de almidón disponible	32
2.2. Estimación de la tasa de α -amilólisis	34
2.3. Estimación del contenido de almidón resistente total	35
3. Digestibilidad in vivo de los almidones de papa nativa	37
3.1. Preparación de las dietas de almidón	38
3.2. Mantenimiento del cultivo de gorgojos	38
3.3. Selección de individuos para el bioensayo	38
3.4. Bioensayo con el gorgojo de arroz	39
3.5. Estimación de la supervivencia y variación de peso	39
3.6. Estimación de la actividad similar a α -amilasa	40
3.7. Estimación de la excreción de ácido úrico	41
4. Análisis estadístico	43

5. Financiamiento	43
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
1. Composición química de los almidones de papa nativa	44
2. Digestibilidad in vitro de los almidones de papa nativa	45
2.1. Almidón potencialmente disponible	45
2.2. Tasa de α -amilólisis in vitro de los almidones de papa nativa	47
2.3. Almidón resistente total	53
3. Digestibilidad in vivo de los almidones de papa nativa	55
3.1. Supervivencia al día 8	57
3.2. Variación de peso al día 8	62
3.3. Actividad similar a α -amilasa	67
3.4. Excreción de ácido úrico	70
3.5. Almidón de papa comercial como referencia alternativa	74
4. Digestibilidad relativa de los almidones de papa nativa	75
VI. CONCLUSIONES	77
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79
VIII. ANEXOS	88

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Contenido de amilosa y amilopectina de algunos almidones provenientes de distintas fuentes vegetales _____	2
Tabla 2. Información sobre la colecta de los materiales de papa. _____	31
Tabla 3. Composición química de los almidones de papa nativa _____	44
Tabla 4. Contenido de almidón disponible en los almidones de papa nativa. _____	46
Tabla 5. Velocidad inicial y magnitud final de hidrólisis in vitro de los almidones de papa nativa. _____	51
Tabla 6. Contenido de almidón resistente total en los almidones de papa nativa _____	53
Tabla 7. Peso promedio inicial, final y variación del peso de los insectos durante el bioensayo _____	64
Tabla 8. Actividad similar a α -amilasa del gorgojo de arroz alimentado con almidones de papa nativa _____	68
Tabla 9. Excreción de ácido úrico del gorgojo de arroz alimentado con los almidones de papa nativa _____	71
Tabla 10. Digestibilidad relativa de los almidones de papa _____	76

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Molécula de amilosa _____	1
Figura 2. Molécula de amilopectina _____	2
Figura 3. Estructura del gránulo de almidón. _____	4
Figura 4. Ataque enzimático de la molécula de almidón. _____	9
Figura 5. Diagrama esquemático de la estructura del aparato digestivo de un insecto ____	17
Figura 6. Cinética de hidrólisis in vitro de los almidones crudos de papa. _____	49
Figura 7. Cinética de hidrólisis in vitro de los almidones gelatinizados de papa nativa. ____	50
Figura 8. Supervivencia del gorgojo de arroz en la condición de ayuno, condición alimentada y la referencia. _____	58
Figura 9. Supervivencia del gorgojo de arroz alimentado con los almidones de papa nativa. _____	59
Figura 10. Variación del peso del gorgojo de arroz en la condición de ayuno, condición alimentada y en la referencia _____	63
Figura 11. Variación del peso del gorgojo de arroz alimentado con los almidones de papa nativa _____	64

I. INTRODUCCIÓN

1. El Almidón

1.1.Composición química

El almidón puro consiste principalmente en α -glucanos (aproximadamente 99% de la materia seca) en forma de amilosa y de amilopectina, los porcentajes de peso relativo oscilan entre el 72 y el 82% de amilopectina y entre el 18 y 33% de amilosa (Buléon y col., 1998; Tester y col., 2004). La amilosa (**Figura 1**) se define como una molécula lineal con enlaces α -D-(1 $\rightarrow$ 4), pero hoy en día es bien sabido que algunas de estas moléculas están ligeramente ramificadas por enlaces α -D-(1 $\rightarrow$ 6) (Buléon y col., 1998). La amilopectina (**Figura 2**): se forma a través de cadenas de residuos de α -D-glucopiranosilo unidos entre sí principalmente por enlaces α -D-(1 $\rightarrow$ 4) y con un 5 al 6% de enlaces α -D-(1 $\rightarrow$ 6) en los puntos de ramificación (Buléon y col., 1998).

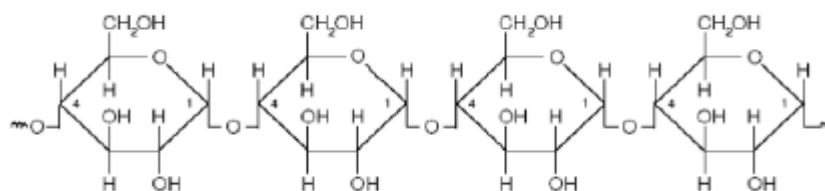


Figura 1. Molécula de amilosa

Estructura química de la amilosa. Adaptado de Meneses y col. (2007).

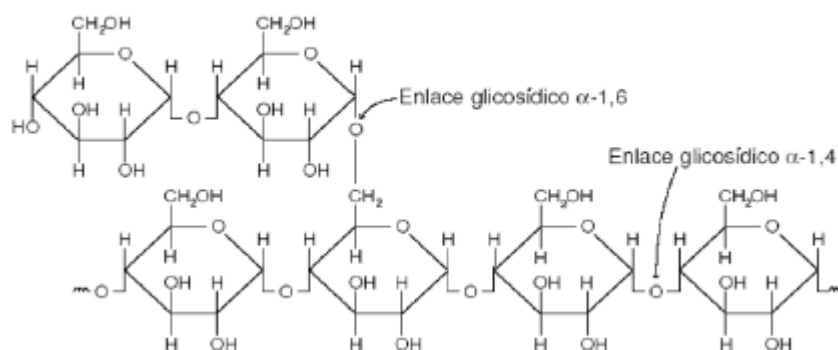


Figura 2. Molécula de amilopectina

Estructura química de la amilopectina en donde se observan el punto de ramificación α -D-(1 $\rightarrow$ 6). Adaptado de Meneses y col. (2007).

El contenido de amilosa y amilopectina en un almidón dependerá de la fuente de origen como se observa en la **Tabla 1** y representan siempre el 97% – 99% del peso seco de un buen almidón (Galliard, 1987).

Tabla 1. Contenido de amilosa y amilopectina de algunos almidones provenientes de distintas fuentes vegetales

Tipo de almidón	Amilopectina (%)	Amilosa (%)
Almidón de maíz	73	27
Almidón de papa	78	22
Almidón de arroz	83	17
Almidón de sorgo céreo	99 – 100	0 – 1
Los porcentajes están presentados en base seca. Modificado de Badui (1999).		

1.2.Estructura cristalina y granular

Los gránulos de almidón tienen diversas formas: esférica, esférica truncada, oval, poligonal, entre otros (Hernández y col., 2008). Estos gránulos se sintetizan en las

plantas como matrices semicristalinas, donde se generan los cristales por medio de las dobles hélices de amilopectina en forma de lamelas cristalinas intercaladas con lamelas amorfas que comprenden regiones de ramificación α -(1 $\rightarrow$ 6) de la amilopectina (**Figura 3**) (Tester y col., 2004).

Existe un orden establecido respecto a los cristales de cada uno de los componentes del almidón, los modelos actuales de estructura fina de amilopectina sugieren dos poblaciones de cadenas, cadenas A y B, que están presentes en proporciones casi iguales. La designación de los dos grupos de cadenas se basa en la posición relativa de una cadena en la estructura de la macromolécula: las cadenas A son no ramificadas y unidas a la molécula por un solo enlace, mientras que las cadenas B están ramificadas y conectadas a dos o más cadenas; cada molécula de amilopectina también posee una única cadena C, que contiene un grupo reductor (Oates, 1997).

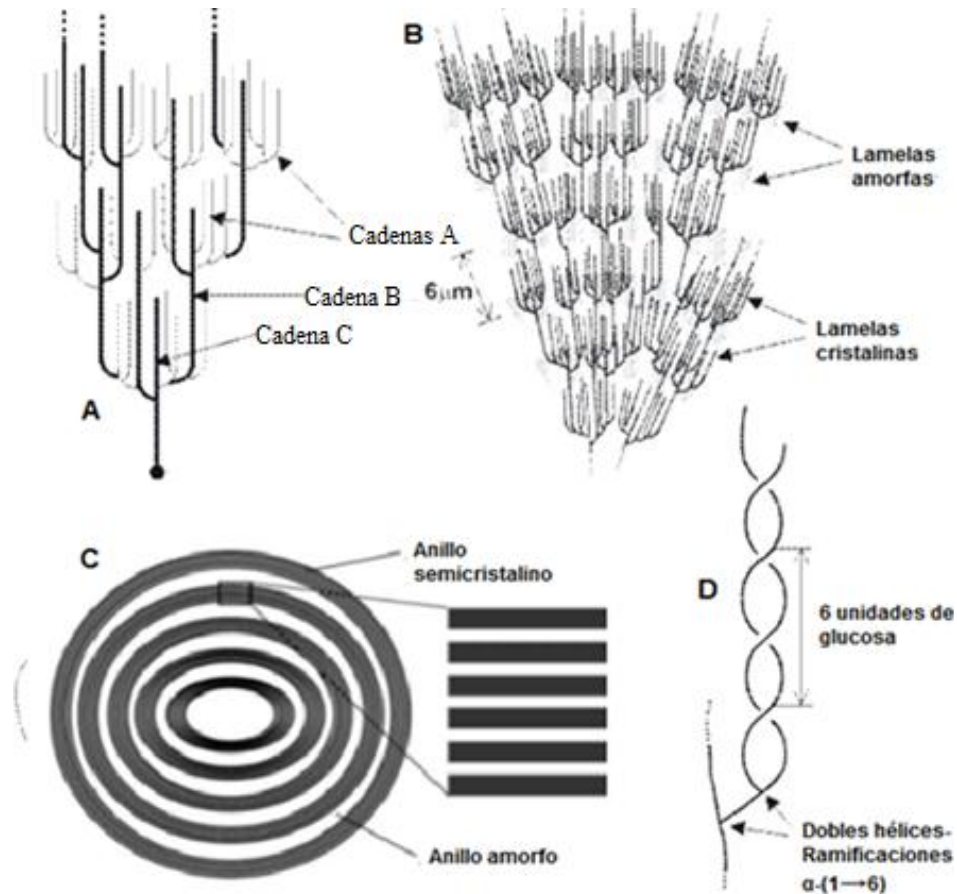


Figura 3. Estructura del gránulo de almidón.

(A) Cadenas formadas en la molécula de amilopectina (B) Organización concéntrica de las lamelas amorfas y cristalinas del almidón. (C) Organización de la molécula de almidón en una sección transversal de un gránulo. (D) Conformación en doble hélice. Adaptado de Sajilata y col. (2006) y de Téster y col. (2004).

1.3. Tipos de almidón según la acción de las enzimas

Una clasificación de los almidones con fines nutricionales y de acuerdo a su susceptibilidad a la digestión, fue propuesta por Englyst y colaboradores (1992). Las fracciones rápida y lentamente digeribles del almidón son estimadas mediante la cuantificación *in vitro* de los azúcares liberados de la hidrólisis enzimática controlada (por acción de la α -amilasa pancreática) del alimento amiláceo. Dicha clasificación es la siguiente:

Almidón digerible en forma rápida (ADR): consiste principalmente en almidón amorfo y disperso; se encuentra presente en altas cantidades en alimentos amiláceos cocinados por calor húmedo, como pan y papas. Su digestión es rápida, completa y se absorbe en el intestino delgado (Englyst y col., 1992)

Almidón digerible en forma lenta (ADL): esta categoría consiste en almidón amorfo físicamente inaccesible y en almidón crudo con una estructura cristalina de tipo A y tipo C según el patrón de difracción de rayos X, tales como los cereales, y almidón de tipo B. Es completamente digerido en el intestino delgado, pero de manera significativamente más lenta (Englyst y col., 1992).

Almidón resistente (AR): este término fue acuñado por primera vez por Englyst y colaboradores (1982) para describir una pequeña fracción de almidón que era resistente a la hidrólisis mediante tratamiento exhaustivo de α -amilasa y pululanasa *in vitro*. No se digiere en el intestino delgado, pero en el intestino grueso puede ser más o menos fermentado por la microbiota del colon (Englyst y col., 1992).

Las proporciones de almidón digerible en forma rápida, digerible en forma lenta y de almidón resistente varía entre los distintos grupos de alimentos presentes en la dieta, dependiendo parcialmente de la fuente del almidón, pero principalmente del tipo de procesamiento al cual el alimento ha sido sometido (Englyst y Hudson, 2000).

1.4.Biodisponibilidad del almidón

Carmona y Liuzzi (1998) definen biodisponibilidad como aquella fracción del nutriente, de la cantidad total ingerida, que es absorbida a nivel intestinal y es retenida en el organismo a los fines del crecimiento, recambio tisular y la reproducción. La

biodisponibilidad de un nutriente depende de la forma química como éste se presenta en un alimento, de la solubilidad, de la digestibilidad de dichas formas para liberar al nutriente de los complejos en que se encuentra, de los mecanismos de transporte trans-epitelial, del transporte plasmático, de la captación tisular, de la incorporación en biomoléculas, de su almacenamiento y excreción (Carmona y Liuzzi, 1998). Propiedades fisicoquímicas como la gelatinización y la retrogradación del gránulo de almidón modifican la biodisponibilidad, alterando principalmente la capacidad de las enzimas digestivas de ejercer su acción sobre el gránulo.

El procesamiento de los alimentos induce cambios físicos en el almidón que pueden modificar dramáticamente su susceptibilidad a la hidrólisis. Cuando el alimento amiláceo es sometido a la cocción (usualmente entre 50 – 70 °C) en exceso de agua (> 300% de humedad), la estructura granular sufre un cambio irreversible denominado gelatinización. El gránulo experimenta un proceso de hinchamiento que supone la pérdida del orden interno y de la cristalinidad. A escala molecular, los puentes de hidrógeno que estabilizan las estructuras cristalinas sufren una ruptura, generándose gránulos porosos con un esqueleto de amilopectina, dispersos en una solución amorfa de amilosa. El almidón gelatinizado es mucho más accesible a las α -amilasas que el almidón crudo, por lo cual es hidrolizado de forma más rápida y extensa (Colonna y col., 1992).

El almidón gelatinizado es una estructura inestable. Con el enfriamiento y el almacenamiento del alimento amiláceo, ocurre la reasociación de las cadenas de amilosa y de amilopectina, y la subsecuente recuperación de la propiedad semicristalina del almidón (retrogradación). La retrogradación de la amilosa es veloz, tomando solo unas pocas horas, mientras que la reasociación de las cadenas externas de la amilopectina puede demorar

varios días. Este proceso se acelera a bajas temperaturas, a altas concentraciones de almidón y en almidones con largas cadenas de amilosa y de amilopectina. El almidón retrogradado adopta característicamente un patrón cristalino de tipo B (Colonna y col., 1992).

Hoy es ampliamente aceptado que la biodisponibilidad del almidón y la velocidad con la cual ocurre la digestión y la absorción, dependen de múltiples factores inherentes o no al almidón (Englyst y col., 1992). Entre los factores intrínsecos (las propiedades del alimento amiláceo) que pueden afectar a la biodisponibilidad están la forma física del alimento amiláceo, el estado físico del almidón, el tamaño y morfología del gránulo, la cristalinidad del gránulo, la proporción relativa de amilosa y de amilopectina, la formación de complejos de amilosa-lípidos y la presencia de antinutrientes (Holm y col. 1983; Thorne y col., 1983; Berry, 1986; Colonna y col., 1992; Englyst y col., 1992; Oates, 1997; Tester y col. 2006).

Los factores intrínsecos pueden ser medidos de forma reproducible, pero no son necesariamente buenos predictores de la biodisponibilidad y de la tasa de hidrólisis del almidón entre diferentes individuos. Esto se debe a que la ingesta expone los alimentos a factores extrínsecos que pueden también retardar o acelerar la digestión: el grado de masticación, la concentración de la enzima α -amilasa en el intestino delgado y el tiempo de tránsito del alimento entre la cavidad bucal y el íleon terminal (Colonna y col., 1992).

1.5.Digestión del almidón

Debido a la naturaleza de los enlaces entre las unidades de glucosa, el almidón incluido en la dieta es potencialmente degradado por la acción de la α -amilasa. La enzima

α -amilasa es de naturaleza ubicua. En muchos animales (incluyendo a los humanos) la enzima es secretada en la saliva (donde posiblemente está involucrada con la limpieza de los dientes de los residuos amiláceos en lugar de iniciar la digestión propiamente dicha) y por el páncreas (Tester y col., 2004).

El almidón comienza a ser digerido por la α -amilasa salival, si bien esta actividad (que es inhibida por el bajo pH al ingresar el bolo alimentario al estómago) es relativamente irrelevante comparada con la de la α -amilasa pancreática en el intestino delgado. La α -amilasa hidroliza el almidón a maltosa, maltotriosa, oligosacáridos de glucosa y α -dextrinas (**Figura 4**) (Bowman y col., 2003).

La glucoamilasa hidroliza los polisacáridos y las α -dextrinas límite en oligosacáridos. Posteriormente la hidrólisis de la maltosa y de los oligosacáridos es responsabilidad de las disacaridasas, enzimas localizadas en la membrana de las microvellosidades del intestino delgado (borde en cepillo). La isomaltasa hidroliza los enlaces α -D-(1 $\rightarrow$ 6) y, junto con la maltasa, desdobla la maltosa y la maltotriosa en glucosa (Ganong, 2002). La glucosa liberada ingresa al enterocito por acción de una proteína cotransportadora dependiente de sodio (SGLT1); luego, una segunda proteína (GLUT 2) transporta la glucosa pasivamente del interior celular hacia el intersticio, desde donde se difunde a la sangre (Ganong, 2002).

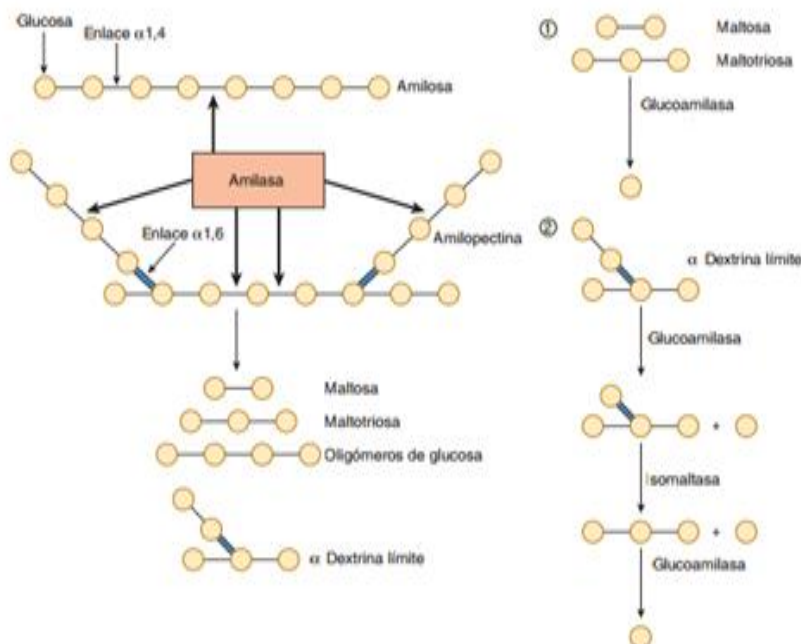


Figura 4. Ataque enzimático de la molécula de almidón.

Izquierda: estructura de la amilosa y la amilopectina, la glucosa es señalada con círculos. Estas moléculas son parcialmente digeridas por la enzima amilasa, generando los productos que se muestran en la base de la figura. Derecha: hidrolasas del borde en cepillo que intervienen en la digestión sucesiva de los productos de la digestión luminal de los almidones (1, oligómeros lineales; 2, α -dextrinas límite) (Ganong y col., 2002).

1.6. Almidón Resistente

1.6.1. Definición

En 1992, un grupo de investigadores europeos definió el almidón resistente como "la suma del almidón y los productos de la degradación del almidón no absorbidos en el intestino delgado de individuos sanos" (Asp, 1992). Este concepto cambió completamente nuestra comprensión de la acción de los carbohidratos en la dieta porque hasta principios de los ochenta, se pensó que los almidones eran completamente digeridos y absorbidos en el intestino delgado humano. Tres consideraciones importantes se adjuntan a esta definición

fisiológica. En primer lugar, el almidón resistente se compone no solo de polímeros de alto peso molecular sino que también puede incluir dextrinas, oligosacáridos pequeños e incluso glucosa, todas derivadas de almidón digerido que escapa a la absorción. En segundo lugar, los almidones resistentes llegan al intestino grueso humano donde son metabolizados por la compleja microbiota presente en el colon para producir una gama de moléculas bioactivas con beneficios potenciales para la salud (Laurentin y Edwards, 2013).

Por último, la cantidad de almidón resistente en un alimento (es decir, la cantidad que llega al colon) depende de la fisiología del individuo y puede verse afectada por la edad, por otros componentes de la matriz alimentaria y por enfermedad en el tracto gastrointestinal (Laurentin y Edwards, 2013).

1.6.2. Clasificación del almidón resistente

Englyst y col. (1992) reconocieron tres tipos de almidón resistente: almidón físicamente inaccesible, gránulos resistentes y almidón retrogradado. Actualmente se reconocen otras dos categorías: los almidones modificados químicamente y los complejos amilosa lípidos que se forman a partir de fracciones resistentes a la digestión (Bird y col., 2000). Laurentin y Edwards (2013) proponen que en la categoría de almidones modificados químicamente se incluyan a los almidones que sufren cambios mediante tratamientos físicos drásticos aplicados en la industria, y que además, dicha categoría sea denominada: almidones con enlaces no amiláceos (Laurentin y Edwards, 2013).

El almidón resistente tipo 1 agrupa los almidones físicamente inaccesibles a la acción de las α -amilasas debido a la presencia de estructuras externas que protegen al gránulo, por ejemplo, la pared de la célula vegetal. Se encuentra principalmente en las

semillas, los granos, los cereales y las legumbres, enteros o parcialmente molidos, aunque también puede hallarse en algunos alimentos amiláceos densamente empaquetados como la pasta. A pesar de que es estable al ser sometido a la cocción, el almidón resistente tipo 1 puede ser eliminado parcial o totalmente por la ruptura mecánica de la molienda, e incluso con la masticación de los alimentos (Sajilata y col., 2006; Laurentin y Edwards, 2013).

El almidón resistente tipo 2 incluye los almidones no susceptibles a la digestión debido a la combinación de algunas propiedades intrínsecas del gránulo: la forma, el tamaño, la cristalinidad, un alto contenido en amilosa, la presencia de complejos de amilosa y lípidos, etc. El almidón resistente tipo 2 se encuentra en plátanos inmaduros, papas crudas y almidones con alto contenido de amilosa. El almidón resistente tipo 2 desaparece durante la cocción, especialmente en agua, porque una combinación de agua y calor gelatiniza el almidón, lo que permite un mayor acceso a las amilasas (Sajilata y col., 2006; Laurentin y Edwards, 2013).

El almidón resistente tipo 3 agrupa a aquellos almidones que han sufrido retrogradación y constituye la fracción de almidón resistente más abundante en los alimentos. El almidón resistente tipo 3 está presente en los alimentos amiláceos sometidos a cocción y que han sido posteriormente enfriados y almacenados: la papa, el arroz, las legumbres, el pan y las hojuelas de maíz (Laurentin y Edwards, 2013).

Además de los complejos de almidón naturalmente resistentes, existen diferentes tipos de almidones modificados que son fabricados por la industria alimentaria por una variedad de razones. Pueden definirse como almidones nativos que han sido sometidos a uno o más tratamientos químicos o enzimáticos que promueven desorganización granular,

degradación de los polímeros, reordenamientos moleculares, oxidación o adición de grupos químicos. La digestibilidad de estos almidones modificados es variable y depende del tipo y extensión del tratamiento (Laurentin y Edwards, 2013).

Más recientemente se ha evidenciado que los almidones modificados mediante algunos tratamientos físicos como la pregelatinización (por extrusión o por secado en tambor) y la pirodextrinización (generación de rearrreglos moleculares mediante calor seco) generan fracciones resistentes a la hidrólisis enzimática. Laurentin y Edwards (2013) han propuesto entonces, como ya se mencionó, que en la cuarta categoría de almidón resistente o el almidón resistente tipo 4, se incluyan a los almidones modificados mediante los tratamientos físicos mencionados; quedando conformada esta categoría por los almidones modificados de forma química y física, los cuales pasarían a llamarse almidones con enlaces no amiláceos (almidón resistente tipo 4). Un ejemplo del almidón resistente tipo 4 puede ser el Fibersol-2[®], una rica fuente de fibra alimentaria utilizada como ingrediente en suplementos (Okuma y Wakabayashi, 2001).

Por último, el almidón resistente tipo 5 donde se encuentran las interacciones amilosa lípidos que se producen cuando los ácidos grasos de cadena mediana y larga (de 12 a 18 carbonos) son retenidos dentro de la estructura helicoidal de la amilosa (Hasjim y col., 2013). Los complejos amilosa lípidos se forman de manera natural durante la biosíntesis del almidón, pero también pueden producirse durante la cocción y tienen una menor digestibilidad que el almidón cocido (Holm y col., 1983). El maíz con alto contenido de amilosa (amilomaíz) es una de las principales fuentes de almidón resistente tipo 5 (Hasjim y col., 2013).

Es posible que las cadenas externas de la amilopectina tomen parte en la formación de complejos entre la amilopectina y los lípidos (Batres y White, 1986; Evans, 1986; Eliasson y Ljunger, 1988); sin embargo, no hay evidencia directa que indique que los lípidos puedan formar un verdadero complejo de inclusión con la amilopectina comparable a los complejos amilosa lípidos (Kugimiya y Donovan, 1981; Evans, 1986). La estructura altamente ramificada de la molécula de amilopectina crea un impedimento estérico, que evita la formación de complejos amilopectina lípidos altamente ordenados (Hasjim y col., 2013).

1.6.3. Efectos fisiológicos y metabólicos del almidón resistente

El almidón no suele estar presente en las heces humanas o en las heces de los animales experimentales, lo cual sugiere la fermentación más o menos completa de este polisacárido (Sajilata y col., 2006). Por ende, la principal propiedad nutricional del almidón resistente radica en su potencial fermentativo, del cual se derivan la mayoría de los efectos fisiológicos y metabólicos que son considerados beneficiosos para la salud humana. En resumen, algunos de estos efectos son: la estimulación de la sensación de saciedad (Willis y col., 2009), el control de la respuesta glucémica debido al bajo índice glucémico de los alimentos que presentan alto porcentaje de almidón resistente (Parada y Rozowski, 2008), la producción de algunos ácidos orgánicos durante la fermentación disminuye el pH luminal del colon haciendo que se inhiba el crecimiento de algunas poblaciones microbianas potencialmente patógenas como *Escherichia coli* y *Salmonella* (Cherrington y col., 1991), el incremento de la masa fecal como consecuencia de la proliferación bacteriana y de la retención de agua en las heces (Phillips y col., 1995), la prevención del

estreñimiento (Nugent y col., 2005) y un posible rol protector contra el cáncer colorrectal (O'Keefe y col., 2009).

Es importante destacar que la mayoría de estos efectos han sido observados con una ingesta de 20 – 30 g/día de almidón resistente, lo cual excede entre cinco a siete veces la ingesta estimada en la mayoría de los países (Laurentin y Edwards, 2013). Del proceso fermentativo del almidón resistente, los ácidos grasos de cadena corta: el acetato, el propionato y el butirato, son los principales productos. Entre las propiedades fisiológicas asociadas con estos ácidos grasos están las siguientes:

- **El acetato:** es el ácido graso de cadena corta mayormente producido durante la fermentación (50 – 70%) y es el único que alcanza la circulación periférica en cantidades significativas, proveyendo energía al músculo y a otros tejidos (Laurentin y Edwards, 2013).

- **El propionato:** es el segundo ácido graso de cadena corta más abundante (25%). En algunos estudios emprendidos en ratas (Chen y col., 1984; Cheng y Lai, 2000), el propionato ha demostrado reducir el colesterol sérico y las concentraciones hepáticas del colesterol y de los triglicéridos. Este efecto inhibitorio se ha demostrado también en los hepatocitos humanos (Lin y col., 1995), pero requiere concentraciones de 10 – 20 mmol/L para obtener un efecto similar. Además estimula la sensación de saciedad en los humanos (Arora y col., 2011).

- **El butirato:** es usualmente el ácido graso de cadena corta producido en menor proporción durante el proceso fermentativo de los carbohidratos no amiláceos (10 – 15%), aunque su producción es comparativamente superior con la fermentación del almidón

resistente (20 – 28%) (Brouns y col., 2002). Es usado como combustible en los colonocitos, induce la proliferación de colonocitos sanos, induce apoptosis en colonocitos diferenciados hacia ciertas líneas cancerígenas y ha mostrado propiedades antiinflamatorias en cultivos celulares (Laurentin y Edwards, 2013; González-Quilen, 2013). Actualmente se sabe que un aumento en la producción de butirato conduce a cambios en las bacterias intestinales ubicadas en la mucosa intestinal, en los niveles de fermentación y por ende en los marcadores de la actividad metabólica bacteriana; esto genera cambios en los biomarcadores que reflejan una reducción del riesgo de cáncer (O’Keefe y col., 2015).

2. Digestibilidad del almidón

En todo estudio nutricional relacionado con fuentes amiláceas se requiere de análisis de la digestibilidad de dichas fuentes o alimentos amiláceos, un parámetro que puede ser estudiado tanto *in vivo* como *in vitro*. La caracterización de la digestibilidad *in vitro* se realiza mediante un análisis químico enzimático, que simula las condiciones *in vivo*, y está basado en la estimación del contenido de almidón potencialmente disponible, del almidón resistente total y del almidón retrogradado en la muestra. Además, se realiza la determinación de la tasa a la cual la enzima amilolítica ejerce su función sobre el gránulo de almidón (Englyst y col, 1992; Tovar y col., 2003).

Por su parte el estudio de la digestibilidad *in vivo* requiere del empleo de modelos animales, en los cuales se estudian parámetros conocidos de modo general como biomarcadores, que reflejan la biodisponibilidad y el aprovechamiento del alimento suministrado (Tovar y col., 1992).

3. El gorgojo de arroz como modelo en los estudios nutricionales

La vívida descripción kafkiana de un humano que deviene en insecto, ejemplifica el acendrado desprecio por este grupo de artrópodos que, en nuestro subconsciente colectivo, se almacena como un ícono de grotesca cucaracha. Numerosos son, sin embargo, los aportes de los insectos a la ecología global del planeta, a la agricultura y a la alimentación (Carmona y col., 1998). En esta sección se describe el uso de insectos, específicamente de *Sitophilus oryzae* L, para evaluar la digestibilidad *in vivo* de una serie de dietas amiláceas.

El uso de insectos como modelos en ensayos nutricionales proporciona una alternativa a la utilización de animales vertebrados. Estos ensayos tienen como principales ventajas su corta duración y bajo costo (López, 1999). Resulta interesante que, aunque entre los grupos de la escala zoológica existen diferencias cualitativas y cuantitativas en sus requerimientos nutricionales, los nutrientes básicos son los mismos y las reacciones metabólicas esenciales que permiten su utilización se han conservado (Carmona y col., 1998). Desde esta perspectiva, son amplias las similitudes entre los insectos y los animales superiores, incluidos los seres humanos (López, 1999).

Desde el punto de vista nutricional, los requerimientos de los insectos y animales superiores, incluyendo a los humanos, son semejantes. Igualmente, la digestión de los alimentos se realiza extracelularmente en el tracto digestivo, hacia donde se secretan proteasas, amilasas y lipasas. Los mecanismos de acción de estas enzimas digestivas también son comparables, pudiendo hablarse de actividades similares a la tripsina, a la quimiotripsina y a la α -amilasa (Carmona y col., 1998).

Al igual que los humanos, los insectos cuentan con un sistema digestivo en donde se lleva a cabo una serie de mecanismos y reacciones metabólicas que permiten la digestión de los alimentos. El aparato digestivo o canal alimenticio de los insectos es un conducto, generalmente algo enrollado que se extiende desde la boca al ano. Se divide en tres regiones: el estomodeo, el mesenterón y el proctodeo (Borror y col., 1976).

El estomodeo o intestino anterior generalmente se diferencia en faringe, esófago, buche (un ensanchamiento en la parte final del esófago) y los proventrículos (**Figura 5**). El mesenterón es el intestino medio, que es un saco alargado de diámetro generalmente uniforme. A veces se subdivide en dos o más partes denominadas ventrículos, donde se encontrará un borde interno cubierto por microvellosidades, descritas por Snodgrass (1993) y Chapman (1998) para insectos en general. Macgown y Sikorowski (1981) reportaron que los ventrículos se encuentran revestidos externamente por ciegos gástricos, los cuales contienen bacterias y otros microorganismos del tubo digestivo que producen enzimas y vitaminas.

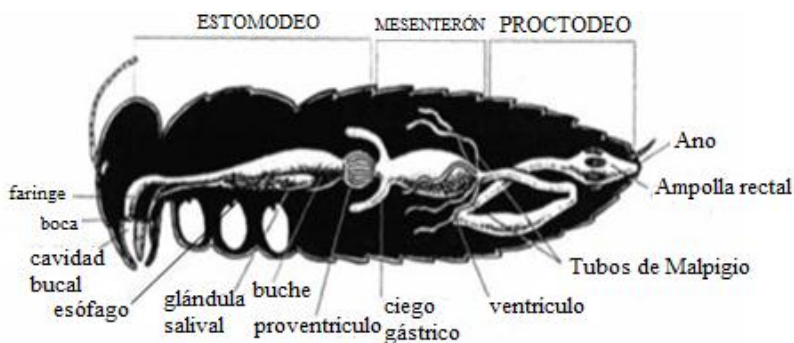


Figura 5. Diagrama esquemático de la estructura del aparato digestivo de un insecto

Estructura digestiva del aparato de un insecto en donde se observan las tres partes en las que se divide: estomodeo, mesenterón y proctodeo. Modificado de Liñán (1998).

El intestino medio no tiene cutícula, ni tampoco segrega mucus para lubricar la comida y proteger las células epiteliales. En cambio, las células epiteliales segregan una fina membrana de quitina y proteína, llamada membrana peritrófica la cual impide que los alimentos entren en contacto directo con las células epiteliales. Esta membrana es permeable, permitiendo el paso de enzimas digestivas en una dirección y de los productos de la digestión en la dirección opuesta. Se desprende, envuelve a una porción de los alimentos y es eliminada con los productos digestivos. La parte posterior del intestino se extiende desde la válvula pilórica hasta el ano, y esta representa el proctodeo (Borror y col., 1976).

El gorgojo de arroz, *Sitophilus oryzae* L. (Coleóptera: Curculionidae) ha sido utilizado con éxito como modelo animal desde hace varios lustros (Szwarcbort, 1980; Carmona y Gómez-Sotillo, 1997; Carmona y col., 1998; Carmona y col., 2001). Este bioensayo es de fácil manejo, económico, de corta duración y reproducible (Carmona y col., 2001). Además, no está sujeto a las regulaciones legales impuestas a los estudios con vertebrados (Law y Wells, 1989). Las experiencias con el bioensayo del gorgojo de arroz han permitido evaluar la eficacia de diversos biomarcadores como: supervivencia, variación de peso, cambios en la composición corporal (agua, grasa, nitrógeno proteico, nitrógeno cuticular, otros componentes), combustibles metabólicos (glucosa, trehalosa, glucógeno), actividades enzimáticas (proteasas, α -amilasas, aminotransferasas), excreción de metabolitos (ácido úrico), potencial reproductivo (ovoposición, crecimiento larval), entre otros; para evaluar tanto el valor nutritivo de diversos componentes de la dieta, como la toxicidad de alimentos (Laurentin y col., 2008; Laurentin y col., 2014b).

Los estudios realizados en este insecto, condujeron al planteamiento de una hipótesis acerca de cómo ocurre la degradación del endospermo del grano de trigo y el aprovechamiento de los gránulos nativos del almidón en el tubo digestivo del insecto (Baker y Woo, 1992: citado por González-Quilen 2013). El gorgojo de arroz presenta un aparato bucal masticador. En la cavidad bucal, la masticación mandibular extensiva de las células del endospermo, incrementa la susceptibilidad de los gránulos de almidón a la acción enzimática. Una vez triturados, los gránulos de almidón continúan su tránsito a través del esófago, el proventrículo y el buche. Las α -amilasas presentes en el medio luminal del buche inician la hidrólisis enzimática del almidón, proceso que parece ser facilitado por la acción de las lipasas y de los detergentes, pues favorecen la remoción del material lipídico de la superficie de los gránulos. La digestión del almidón continúa en el intestino medio y probablemente se detiene al alcanzar el intestino posterior, donde el material no digerido se prepara para ser defecado. Algunos estudios emprendidos en el gorgojo del arroz (Szwarcbort, 1980; Baker, 1987), señalaron que las α -amilasas presentes en este animal exhiben unas actividades catalíticas comparables con la de la α -amilasa pancreática porcina, enzima comúnmente utilizada en los estudios de digestibilidad *in vitro* de los alimentos amiláceos. Este modelo, por lo tanto, ha sido prometedor para emprender la tarea de identificar biomarcadores que permitan evaluar la calidad nutricional de este tipo de alimentos.

En investigaciones recientes llevadas a cabo por el Laboratorio de Polisacáridos Vegetales y el Laboratorio de Bioquímica Nutricional y Metabolismo del Instituto de Biología Experimental de la Universidad Central de Venezuela (García, 2003; Galeno 2006; Martín, 2010; González-Quilen; 2013, Lovera y col., 2017), se ha estudiado la

digestibilidad *in vitro* e *in vivo* de una amplia gama de almidones nativos y modificados. Los estudios *in vivo*, por su parte, demandan el uso del modelo animal; en donde la estimación de la grasa corporal, de la actividad similar a α -amilasa y de la excreción de ácido úrico del gorgojo de arroz alimentando con las dietas de almidón, son biomarcadores que en las citadas investigaciones han demostrado correlacionarse razonablemente con los parámetros que caracterizan la digestibilidad *in vitro* de los almidones. La experiencia acumulada en el Laboratorio de Polisacáridos Vegetales y en el Laboratorio de Bioquímica Nutricional y Metabolismo, señala que tanto la excreción de ácido úrico como la actividad similar a α -amilasa parecieran tener la sensibilidad necesaria para discriminar la digestibilidad entre las dietas estudiadas. Por ello, se proponen como biomarcadores de la digestibilidad entre las dietas de los alimentos amiláceos (Laurentin y col., 2014a).

Los estudios nutricionales *in vivo* e *in vitro* sobre almidones de distintas variedades de papa nativa y comercial son poco comunes y no aportan una información relevante sobre las variaciones del contenido de almidón en diferentes variedades. Por tanto, en el presente trabajo se planteó el estudio de la digestibilidad *in vitro* e *in vivo* de los almidones de cinco variedades de papa aportadas por la Fundación de Productores Independientes del Páramo (Proinpa), Mucuchíes, Mérida.

II. ANTECEDENTES

1. Descripción de la papa como especie vegetal

La papa o patata (*Solanum tuberosum*) es una especie de planta herbácea perteneciente al género *Solanum* de la familia de las solanáceas originaria de Sudamérica (Engel, 1970) y cultivada por todo el mundo por sus tubérculos comestibles. Fue domesticada en el altiplano andino por sus habitantes hace unos ocho mil años, y más tarde fue llevada a Europa por los conquistadores españoles como una curiosidad botánica más que como una planta alimenticia. Su consumo fue creciendo y su cultivo se expandió a todo el mundo hasta convertirse hoy día en uno de los principales alimentos para el ser humano (Engel, 1970; Spooner y col., 2005).

S. tuberosum se divide en dos subespecies. La subespecie *S. tuberosum andigena* se cultiva de modo restringido en ciertas regiones de América Central y América del Sur (Hawkes, 1990; OECD, 1997). Es nativa de Los Andes; se distribuye desde Venezuela hasta el norte de Argentina, haciendo eje en las cordilleras del Perú (Hawkes, 1990). Por otra parte, la subespecie *S. tuberosum tuberosum* es ampliamente cultivada en todo el mundo (América del Norte, Asia, Europa y África). Es indígena de la Isla de Chiloé, el archipiélago de Chonos y áreas adyacentes de Chile (Spooner, 2008). La principal diferencia entre las dos subespecies es que *S. tuberosum andigena* depende de un fotoperíodo corto para tuberizar (Hawkes, 1990; OECD, 1997). Además de esta diferencia, ambas subespecies se hallan netamente diferenciadas a nivel genético, tanto a nivel del genoma cloroplástico como nuclear (Hosaka y col., 1988; Grun, 1990; Raker y Spooner, 2002).

Los expertos han desarrollado miles de variedades de papa, muchas de las cuales van quedando obsoletas por la aparición de otras con mayor rendimiento y adaptabilidad, de manera que solo se consumen unas pocas decenas. Las variedades se pueden diferenciar por el color de la epidermis y de la pulpa, la resistencia a enfermedades, la duración del ciclo de cultivo y los requerimientos nutritivos, entre otras características de relevancia productiva. Rasgos irrelevantes para la producción, pero que sirven para identificar cultivares, son el color de las flores, la rugosidad de la epidermis y la profundidad de los ojos (Hawkes, 1994).

Los cultivos modernos suelen desarrollar tubérculos de forma redondeada, con la piel amarilla o rosada, la pulpa blanca o amarilla y los ojos poco profundos. En los países de origen del cultivo, también se conocen variedades tradicionales con estas formas, pero además existen muchas otras de piel púrpura, azul o bicolor, de carne azulada, violeta o amarilla y de formas alargadas, curvas o casi esféricas (Grun, 1990).

2. La papa como fuente amilácea

El almidón es una materia prima con un amplio campo de aplicaciones que van desde otorgar textura y consistencia a alimentos hasta la manufactura de papel, adhesivos y empaques biodegradables (Zhao y Whistler, 1994). El almidón se extrae de una amplia gama de productos agrícolas. Entre las materias primas que pueden ser utilizadas como fuentes de extracción de este polímero se encuentran los tubérculos, como la papa, ya que esta especie vegetal juega un papel significativo en el sistema global de alimentación y contribuye a los requerimientos energéticos para millones de personas en los países en vías de desarrollo (Pardo y col., 2013).

El tubérculo, por lo general, contiene 78% de humedad, 18,5% de almidón 1,87% de proteína, 1,8% de fibra y 0,1% de grasa; también, es rica en potasio (560 miligramos) y vitamina C (20 miligramos); valores que coinciden con los reportados en la tabla de composición de los alimentos de Venezuela del año 1999 (González, 2013).

3. La papa nativa

La papa como tubérculo que forma parte de la alimentación humana ha tenido una evolución continua a lo largo de la historia, aunque todavía subsisten plantas de papa en estado silvestre; estas son las denominadas papas nativas. Este tipo de papa es el resultado de un proceso de selección natural y conservación, con un arduo trabajo de uso de tecnologías ancestrales que datan de épocas anteriores a los Incas (Monteros y col., 2007).

En las zonas de gran diversidad, con un gran número de variedades, el intercambio de polen y el flujo genético es constante y continuamente surgen nuevas variedades. Las papas nativas aparecen y se incrementan por acción de la recombinación genética espontánea, la selección natural, las mutaciones, las migraciones y los flujos de tubérculos (Gómez y col., 2008: citado por González y col., 2013). También se dice que estas variedades son el resultado de un proceso de domesticación, selección y conservación ancestral por parte de los habitantes de las zonas alto andinas (Monteros y col., 2007).

La papa nativa ha representado en distintos países latinoamericanos como Perú y Bolivia una fuente de progreso social y económico, esto ha logrado recuperar sus cultivos a través del tiempo, siendo incluida en el mercado como producto estrella e insigne. Las papas nativas son una excelente fuente de carbohidratos bajos en grasa. También abundan en hierro, zinc y cantidades importantes de vitamina C, que mejora la absorción del hierro.

Sancochada, tiene más proteínas que el maíz y casi el doble de calcio. Una porción promedio de papas sin pelar suministra cerca del 10% de la dosis diaria recomendada de fibra. Además, prosperan en altitudes mayores a 4.000 metros donde se encuentran uno de los grupos de poblaciones rurales más vulnerables a los efectos de la inseguridad alimentaria. Por lo tanto, promocionar el consumo de las papas nativas mejoró la seguridad alimentaria y la nutrición en regiones más pobres del Perú. (Devaux y col., 2011; Devaux y col. 2012; Jiménez y col., 2013).

En el Perú, la papa es uno de los cultivos más importantes del sector agrario en términos económicos y sociales, pero por años ha sido relegada detrás de otros alimentos. Sin embargo, las cifras de la campaña agrícola 2010 – 2011 mostraron que la producción de papa se ha incrementado hasta 4 millones de toneladas, lo que se traduce en un aumento en el consumo de papa de 65 kilos a 83 kilos por persona al año. Esto ha sido posible gracias al esfuerzo conjunto de actores públicos y privados en los últimos diez años, que han posibilitado el desarrollo de productos frescos y procesados en base a la papa nativa y su uso en la gastronomía (Devaux y col., 2011; Devaux y col. 2012; Jiménez y col., 2013).

La papa nativa representa, además de una fuente nutricional excepcional, una excelente fuente económica debido a su introducción al mercado en donde ha sido utilizada como materia para la elaboración de productos comerciales como frituras y como exquisitez gourmet, siendo incluida en diversos platillos de alto valor gastronómico (Devaux y col., 2011; Devaux y col. 2012; Jiménez y col., 2013).

4. La papa nativa en Venezuela

El término papa nativa en Venezuela hace referencia a aquellas muestras de papa rescatadas en el páramo venezolano, que tienen una historia de consumo previo a la explotación comercial del cultivo basada en la importación masiva de semillas de los años 70 en adelante. Tienen en común su total ausencia dentro de los sistemas productivos intensivos empresariales, y su presencia puntual en huertas de familias campesinas y pequeños productores. Entre sus principales cualidades está, aparte de una alta diversidad de sabores y texturas, su capacidad para permanecer en los terrenos y en almacenamiento, sin deteriorarse durante largos períodos (Romero y Monasterio, 2005; Boscán, 2009).

Las variedades de papa nativa como andinita y tiniruca son cultivadas por pequeños productores altoandinos, bajo un sistema de producción tradicional. En Venezuela, específicamente en el estado Mérida, se han encontrado variedades utilizadas por los productores desde hace más de 30 años, las cuales aún conservan en sus unidades de producción (González, 2013).

En Venezuela, la papa nativa ha sido empleada principalmente por chefs para elaborar diversas recetas como vino artesanal de papa, ponche crema, pizzas, pudín de papa nativa, mermeladas de papa de distintos sabores como guayaba, quesillos, etc (González y col., 2013).

Rial y colaboradores (2011) encontraron en su estudio sobre la composición fisicoquímica de papas nativas de Los Andes de Venezuela que tanto la papa comercial (granola), como las papas nativas, mostraron una composición en azúcares reductores estadísticamente similar e inferior al 0,33% (base húmeda), el contenido de sólidos totales

tampoco varió en las tres variedades. Se apreció un valor superior en el contenido de azúcares reductores de arbolona negra ($0,24 \pm 0,05$ g/100 g de papa fresca) y papa rosada ($0,24 \pm 0,05$ g/100 de papa fresca) con relación a la granola ($0,19 \pm 0,07$ g/100 g de papa fresca). Este hecho pudiera estar relacionado con la baja temperatura de la zona de producción de las papas nativas que se encuentra a una mayor altitud y riesgo de heladas que la zona de producción de la papa comercial.

En efecto, Loyola y colaboradores (2003) en su investigación sobre cómo la atmósfera controlada podría disminuir la acumulación de azúcares totales, azúcares reductores y sacarosa en papa durante el almacenamiento, encontraron que las bajas temperaturas (las muestras de papa fueron almacenadas a $6,6^{\circ}\text{C}$ durante cinco meses) conducen a un incremento de azúcares, en especial los reductores, los cuales al quinto mes del experimento mostraron diferencias estadísticamente significativas respecto al primer día del diseño experimental ($p < 0,05$), con relación a las condiciones de almacenamiento y temperatura.

Más allá de conocer la utilidad y el aprovechamiento de los almidones de papa en la industria de alimentos, la importancia de su extracción y caracterización en diferentes variedades de papa permite establecer y dar a conocer información de vital importancia para la introducción de materiales de papa potenciales para el consumo fresco e industrial, que se adapten a las condiciones agroecológicas de las diferentes zonas paperas del estado venezolano y amerita valorar su adaptación, producción y calidad. Este fue el objetivo de Salazar y colaboradores (2008) cuyo estudio consistió en evaluar las características asociadas con el rendimiento y la calidad de 13 materiales de papa en la localidad de Marajabú, parroquia Santiago, municipio Urdaneta, estado Trujillo (Venezuela), usando a

la variedad andinita como testigo debido a sus condiciones idóneas para producción y venta comercial.

En cuanto al contenido de almidón los clones 392658-16, *9? y 393180-10 mostraron mayores valores (2,305 mg/g, 2,213 mg/g y 2,349 mg/g, en base seca respectivamente) que la referencia (andinita) (2,069 mg/g, en base seca); mientras que, el clon 392658-49 exhibió un contenido de almidón muy inferior (1,659 mg/g, en base seca). Además, el contenido de azúcares reductores de los clones 393160-3, 392658-16, *9?, 392639-1 y 392639-41 fueron superiores a la referencia (andinita), lo cual los hace no deseables para la industria, teniendo como base los estándares ofrecidos por la variedad andinita que presenta las condiciones apropiadas para su comercialización e industrialización (Salazar y col., 2008).

5. Estudios *in vitro* e *in vitro* del almidón de papa

Björck y Østergård (1989) en su estudio sobre almidones nativos de papa analizaron la digestibilidad de estos almidones mediante estudios *in vitro* sobre alícuotas del almidón crudo e *in vivo* usando ratas tratadas con Nebacitin[®] y ratas no tratadas, midiendo la digestión a glucosa de los almidones de papa *in vitro* e *in vivo* sobre el material fecal de los animales y en los restos de la dieta (almidón de papa) suministrada a los individuos. Björck y Østergård (1989) demostraron que la digestión de los almidones varía según el ataque enzimático de la α -amilasa, tanto *in vitro* como *in vivo*, sobre la molécula del almidón, los cambios en la cristalinidad de los almidones y los cambios físicos presentes en cada uno (Björck y Østergård, 1989).

Pardo y colaboradores (2013) en su estudio con diferentes variedades de papa en donde se incluyen variedades de papa nativa, encontraron que las características fisicoquímicas tienen un efecto significativo sobre la digestión de la molécula de almidón y el contenido de amilosa y amilopectina en cada variedad; principalmente el grado y el porcentaje de cristalinidad de cada almidón.

Pardo y colaboradores (2013) observaron que los almidones de las variedades ICA Única y Parda Pastusa muestran una cristalinidad mayor que las demás variedades ($> 17\%$). Las variedades ICA Purasé, ICA Huila y Tuquerreña presentan una cristalinidad similar y entre 12% y 17% ; siendo las variedades Criolla Latina y R-12 las que presentaron el menor valor ($< 10\%$). El grado de digestibilidad puede variar según el porcentaje de cristalinidad, ya que mientras este sea mayor, el ataque enzimático será más lento y en menor proporción.

Las investigaciones sobre el almidón de papa se centran en establecer su caracterización para determinar su uso potencial en la industria de alimentos desde las propiedades funcionales y fisicoquímicas, como en el caso de Zárate-Polanco y colaboradores (2014) en cuyo estudio lograron extraer y estudiar el almidón de 17 clones promisorios de papa criolla cosechados en dos municipios (municipio de Sibaté y municipio de Granada) del Departamento de Cundinamarca (Colombia). El almidón nativo de los clones promisorios se extrajo por triplicado y se caracterizó fisicoquímicamente presentando los siguientes rangos para los dos Municipios, así: humedad de $9,3\% - 22\%$, amilosa de $14\% - 49\%$ y amilopectina de $51\% - 86\%$.

Bjorck y Siljestrom (1992) evaluaron la digestibilidad *in vivo* de almidones extraídos de papa y de productos elaborados en base de papa como puré infantil y un

producto de guisantes. La digestibilidad en el intestino delgado se evaluó a través de experimentos en ratas tratadas con un antibiótico (Nebacetin[®]) para suprimir la actividad microbiana en el intestino posterior. Se realizaron experimentos paralelos en ratas sin el tratamiento con el antibiótico para estudiar la fermentabilidad del almidón no digerido. La digestibilidad del intestino delgado fue 93%, 82% y 70% del almidón total en el producto de patata, puré infantil y producto de guisantes, respectivamente. La parte no digerida del almidón total consistió en fracciones resistente a la acción de las amilasas *in vitro*. Para el estudio de la digestibilidad *in vitro*, Bjorck y Siljestrom (1992) determinaron la cantidad de almidón no digerido *in vitro* y la cantidad de almidón total según el método de Holm y colaboradores (1986), y con esta información calcularon los porcentajes de digestibilidad *in vitro* de los almidones como $(\text{almidón total no digerido} / \text{almidón total}) \times 100$. Los valores de digestibilidad variaron y estuvieron en los rangos 91% – 93%, 76% – 86% y 71% – 77% en el producto de patata, puré infantil y producto de guisante, respectivamente.

III. OBJETIVOS

1. Objetivo general

Comparar los parámetros que caracterizan la digestibilidad *in vitro* de los almidones aislados de cinco variedades de papa nativa: amarilis, andinita, angostureña, ojos catires y tiniruca, con los indicadores de disponibilidad *in vivo*, empleando el bioensayo del gorgojo de arroz.

2. Objetivos específicos

2.1. Estimar los contenidos de almidón disponible y de almidón resistente total de los almidones aislados de las variedades de papas.

2.2. Evaluar la tasa de α -amilólisis *in vitro* de los almidones aislados de las variedades de papa.

2.3. Estimar la supervivencia, la variación del peso, la actividad similar a α -amilasa y la excreción de ácido úrico del gorgojo de arroz alimentado con los almidones aislados de las variedades de papa, indicadores que permitirán evaluar la disponibilidad *in vivo* del nutriente.

2.4. Correlacionar las respuestas biológicas observadas *in vivo* con los indicadores de disponibilidad evaluados *in vitro*.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Muestras de almidón

Los almidones caracterizados se aislaron de cinco variedades de papa nativa: amarilis, andinita, angostureña, ojos catires y tiniruca; donadas por la Fundación de Productores Independientes para la Agricultura (Proinpa). La colecta fue realizada en la ciudad de Mucuchíes, estado Mérida, el 29 de noviembre de 2016 (**Tabla 2**).

Tabla 2. Información sobre la colecta de los materiales de papa.

Variedad	Sector	Agricultor	Coordenadas	Altitud (m.s.n.m.)
Amarilis	El Pedregal	José Antonio Sánchez	70° 51' 44,96" O 8° 47' 0,88" N	3.266
Andinita	La Angostureña	Luis Castillo	70° 55' 9,9" O 8° 45' 55,27" N	3.258
Angostureña	El Pedregal	José Antonio Sánchez	70° 51' 44,96" O 8° 47' 0,88" N	3.266
Ojos catires*	La Angostureña	Onías Rivero	—	—
Tiniruca*	La Angostureña	Onías Rivero	—	—

*Al momento de realizar la colecta de estos materiales, el GPS presentó problemas por lo cual no fue posible registrar datos geográficos exactos.

Los almidones se aislaron según el método descrito por Pérez y col. (1993) en el Laboratorio de Granos, Raíces y Tubérculos “Doctora Mercedes Baragaño de Mosqueda” del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. Con fines comparativos se incluyó un almidón de papa aislado a partir de tubérculos comprados en un mercado local (papa comercial), el cual fue extraído en el mismo laboratorio donde se hizo la extracción del material colectado (Hernández, 2006).

La humedad (método 44 – 15.02), la cantidad de proteína cruda según el método de micro-Kjeldahl (método 46 – 13.01) (AACC International, 2003) y el almidón total (Tovar y col., 1990; descrito en la sección 2.1) de los almidones de papa aislados se determinaron como parte de la composición química de los almidones.

Para el mantenimiento y montaje del bioensayo se usaron arvejas verdes partidas compradas en un mercado local (Caracas, Venezuela) y el almidón de maíz (Maizena Americana® Alfonzo Rivas & CIA), respectivamente.

2. Digestibilidad *in vitro* de los almidones de papa nativa

La digestibilidad de las muestras de almidón de papa crudo fue caracterizada *in vitro* mediante la estimación de los parámetros: almidón disponible, almidón resistente y tasa de α -amilólisis. Como valor agregado, esta última variable también fue estimada en los almidones gelatinizados.

2.1. Estimación del contenido de almidón total y de almidón disponible

Para estimar el contenido de almidón se empleó el método enzimático descrito por Holm y colaboradores (1986) para el almidón que es potencialmente susceptible al ataque amilolítico y la modificación descrita por Tovar y colaboradores (1990) para estimar el almidón total.

Para la determinación del almidón total se dispersó una alícuota de 300 mg de peso seco de cada almidón ($n = 3$), en un volumen de 10 mL de agua y se agregaron 10 mL de KOH 4 mol/L recién preparado. Las muestras se dejaron en incubación a temperatura ambiente durante 30 minutos y posteriormente se neutralizaron con 7 mL de HCl 5 mol/L.

Para determinar el almidón potencialmente disponible se efectuó la dispersión de otra alícuota de 300 mg de peso seco de cada almidón ($n = 3$), en un volumen de 20 mL de agua. Posterior a la dispersión de las muestras para determinar almidón total y potencialmente disponible, se ajustó el pH de la suspensión entre 6,5 – 7 unidades y se agregaron 0,1 mL de α -amilasa bacteriana termoestable Termamyl[®] 120L (NOVO Biolabs, Bagsvaerd, Dinamarca) para luego incubar la suspensión en un baño de María en ebullición por 20 minutos, proceso que ocasiona la gelatinización del almidón e inicia su hidrólisis. Una vez atemperada, se trasvasó y enrasó la suspensión en un balón aforado de 100 mL. En un tubo de ensayo se vertieron 0,5 mL de la suspensión junto con 1 mL de solución 0,5 g/L de la amiloglucosidasa de *Rhizopus sp.* (A-7255, Sigma Chemical Co., St. Louis, EE. UU.) y se incubó la mezcla en un baño de María a 40° C por 60 minutos con agitación constante. Luego, se trasvasó y enrasó la solución en un balón aforado de 10 mL.

Se estimó la cantidad de glucosa liberada con ayuda de un estuche comercial (glucosa oxidasa cat. 89250, Industrias Invelab[®], Caracas) basado en el sistema glucosa oxidasa-peroxidasa. Se adicionó en tubo de ensayo, 0,05 mL del hidrolizado junto con 1 mL del reactivo enzimático. Una vez iniciada la reacción, los tubos se incubaron en un baño de María a 37 °C durante 10 minutos. Culminado el período de incubación, se empleó un espectrofotómetro para medir la absorbancia de las muestras a 510 nm. Para la cuantificación de la glucosa se utilizó una curva de calibración elaborada con un estándar de glucosa a 1 g/L: $y = 0,0319x + 0,028$ ($R^2 = 0,998$; $n = 6$).

El método colorimétrico acopla las reacciones de dos enzimas: la glucosa oxidasa y la peroxidasa. La glucosa es oxidada enzimáticamente por la glucosa oxidasa produciendo D-gluconato y peróxido de hidrógeno. Este último oxida al cromógeno (4-aminoantipirina e

hidroxibenzoato) en presencia de la peroxidasa, produciendo un compuesto rosado (quinoneimina) cuya intensidad de color es proporcional a la concentración de glucosa en solución. La fórmula empleada para el cálculo del porcentaje de almidón disponible y de almidón total en base seca, se indica a continuación:

$$\text{Almidón disponible o total (\%)} = \frac{\text{cantidad de glucosa } (\mu\text{g}) \times 10^{(a)} \times 100^{(b)} \times 0,9^{(c)}}{0,05^{(d)} \times 0,5^{(e)} \times 1000^{(f)} \times \text{peso seco de la muestra (mg)}} \times 100$$

(a) Volumen final luego de la digestión con amiloglucosidasa, en mililitros.

(b) Volumen final luego de la digestión con Termamyl®, en mililitros.

(c) Corrección de glucosa a glucano.

(d) Alícuota tomada para la cuantificación de glucosa, en mililitros.

(e) Alícuota tomada para la digestión con amiloglucosidasa, en mililitros.

(f) Conversión de microgramo a miligramo.

2.2. Estimación de la tasa de α -amilólisis

El método enzimático descrito por Holm y colaboradores (1985) permite estimar la velocidad a la cual es degradado el almidón potencialmente disponible hasta carbohidratos reductores, los cuales son cuantificados como equivalentes de maltosa. Para cada muestra, la cinética de hidrólisis se estimó tanto en el almidón crudo ($n = 3$) como en el gelatinizado ($n = 2$). Se pesaron, de cada muestra, un par de alícuotas correspondientes a 500 mg de almidón disponible que luego se dispersaron en 50 mL de buffer fosfato Na,K 44 mmol/L, pH 6,9.

El almidón a gelatinizar se introdujo en un baño de María a ebullición durante 20 minutos. Transcurrido el tiempo, se incubó la suspensión en un baño de María a 37 °C. En el caso del almidón crudo, se obvió la incubación en el baño de María a ebullición y las muestras se atemperaron a 37 °C. La reacción se inició añadiendo 1 mL de la solución de α -

amilasa pancreática porcina (A-3176, Sigma Chemical Co., St. Louis, EE. UU.) 4 g/L en el buffer fosfato, pH 6,9. Se tomaron alícuotas de 0,2 mL de cada hidrolizado a los 0, 5, 15, 30 y 60 minutos y se finalizó la reacción transfiriéndolas a una mezcla de 0,8 mL de agua y 1 mL del reactivo de ácido dinitrosalicílico. Este reactivo contiene 10 g/L de ácido 3,5-dinitrosalicílico (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, EE. UU.) disuelto en tartrato de Na,K a 300 g/L en NaOH (16 g/L).

La cuantificación de los azúcares reductores liberados por acción de la α -amilasa pancreática se realizó según el método químico descrito por Hostettler y colaboradores (1951). Las muestras fueron introducidas en un baño a ebullición durante 10 minutos. Finalizada la incubación, se dejaron atemperar en un baño de María a temperatura ambiente por 2 minutos; luego se les añadió 15 mL de agua destilada, se mezclaron por inversión y se les midió la absorbancia a 530 nm. Para calcular los contenidos de azúcares reductores, se utilizó la fórmula de una curva patrón elaborada con un estándar de maltosa 10 g/L: $y = 0,3705x - 0,018$ ($R^2 = 0,999$; $n = 6$).

El porcentaje de α -amilólisis se calculó para cada tiempo y se expresó en equivalentes de maltosa según la siguiente ecuación:

$$\alpha - \text{amilólisis (\%)} = \frac{\text{cantidad de maltosa (mg)} \times 50^{(a)} \times 0,95^{(b)}}{0,2^{(c)} \times \text{Contenido de almidón disponible (mg; p.s.)}} \times 100$$

(a) Volumen de solución donde ocurre la hidrólisis, en mililitros.

(b) Corrección de maltosa a glucano.

(c) Alícuota tomada para la cuantificación de los azúcares reductores, en mililitros.

2.3. Estimación del contenido de almidón resistente total

El método enzimático descrito por Goñi y colaboradores (1996) permite cuantificar el tenor de almidón resistente total de los alimentos, esto es, la suma de la fracción

físicamente inaccesible (almidón resistente tipo 1), más las fracciones de gránulos nativos no digeribles (almidón resistente tipo 2) y aquellas debidas a retrogradación (almidón resistente tipo 3).

El almidón con enlaces no amiláceos (almidón resistente tipo 4) y los complejos amilosa lípidos (almidón resistente tipo 5) no son cuantificables con este método. No obstante, las muestras ensayadas carecen de almidón resistente tipo 4 debido a que no fueron modificadas.

La primera etapa del método busca simular las condiciones estomacales. Una alícuota de 100 mg de almidón crudo en peso seco de cada almidón ($n = 3$) se dispersó en 10 mL de buffer KCl-HCl, pH 1,5. Se agregaron 0,2 mL de solución de pepsina (P-7000, Sigma Chemical Co., St. Louis, EE. UU.) 100 g/L en buffer HCl-KCl y se incubó la muestra en un baño de María a 40 °C por 60 minutos en agitación constante.

En la segunda etapa se promueve la hidrólisis del almidón susceptible al ataque amilolítico, proceso que ocurre naturalmente en el intestino delgado. Para ello, se adicionó a la suspensión 9 mL de buffer Tris-maleato 0,1 mol/L, pH 6,9, junto con 1 mL de solución de α -amilasa pancreática porcina (A-3176, Sigma Chemical Co., St. Louis, EE. UU.) 40 g/L en buffer Tris-maleato. La mezcla se incubó con agitación constante en un baño de María a 37 °C durante 16 horas. Luego se separa el almidón resistente y la fibra (componentes insolubles) de la fracción hidrolizada (componente soluble). Para ello se centrifugó la suspensión a $3.000 \times g$ por 15 min (a 10 °C). Se descartó el sobrenadante y se resuspendió el sedimento en 10 mL de agua destilada. Luego, se aplicó una segunda centrifugación y se descartó nuevamente el sobrenadante.

En la tercera etapa se busca separar el almidón resistente de la fibra y promover la hidrólisis del primero. Se agregaron 3 mL de agua destilada y 3 mL de solución 4 mol/L de KOH recién preparado. Luego de agitar la suspensión magnéticamente durante 30 minutos a temperatura ambiente, se adicionaron 5,5 mL de solución de HCl 2 mol/L, 3 mL de buffer acetato de sodio 0,4 mol/L, pH 4,75 y 1 mL de solución de amiloglucosidasa de *Rhizopus* (A-7255, Sigma Chemical Co., St. Louis, EE. UU.) a 4,8 g/L en el buffer acetato. Se incubó la mezcla a 40 °C con agitación constante durante 60 minutos. Una vez atemperada, la mezcla se centrifugó un par de veces a $3.000 \times g$ durante 15 min (a 10 °C) cada una. Los sobrenadantes resultantes se trasvasaron a un balón aforado de 100 mL. La determinación de la glucosa se realizó tal como se ha indicado en el apartado 2.1 de la presente sección. La fórmula empleada para el cálculo del porcentaje de almidón resistente total se indica a continuación:

$$\text{Almidón resistente total (\%)} = \frac{\text{Cantidad de glucosa } (\mu\text{g}) \times Vf^{(a)} \times 0,9^{(b)}}{0,05^{(c)} \times 1000^{(d)} \times \text{peso seco de la muestra (mg)}} \times 100$$

(a) Vf: Volumen final de la solución que contiene la glucosa liberada a partir del almidón resistente, en mililitros (usualmente 100 mL).

(b) Corrección de glucosa a glucano.

(c) Alícuota tomada para la cuantificación de la glucosa, en mililitros.

(d) Conversión de microgramo a miligramo.

3. Digestibilidad *in vivo* de los almidones de papa nativa

La caracterización *in vivo* de la digestibilidad de las muestras de almidón de papa nativa, se llevó a cabo mediante la utilización del gorgojo de arroz (*S. oryzae*) como modelo animal. Se estimaron los biomarcadores: supervivencia, variación del peso, excreción de ácido úrico y actividad similar a α -amilasa del gorgojo de arroz alimentado con las dietas de almidón.

3.1. Preparación de las dietas de almidón

En el bioensayo del gorgojo de arroz, los almidones suministrados como dieta fueron proporcionados en forma de semillas artificiales de manera que los insectos logaran alimentarse. Las semillas artificiales se elaboraron según el método descrito por Martín (2010). A una alícuota de 7 g de cada almidón se le añadió un volumen de aproximadamente 6 mL de agua destilada hasta obtener una mezcla con una consistencia semisólida. La suspensión debió ser lo suficientemente diluida para que el almidón seco no quedara en el fondo del recipiente, pero lo suficientemente densa como para observar un flujo continuo al verter una porción de la mezcla desde 1 o 2 cm de altura con ayuda de un agitador de vidrio. Utilizando una inyectora de 10 mL, se colocaron sobre un papel encerado dispuesto sobre una bandeja, dos gotas de mezcla por cada semilla artificial. Las semillas artificiales húmedas se dejaron secar en una estufa a 37 °C durante 24 horas.

3.2. Mantenimiento del cultivo de gorgojos

Para el mantenimiento del cultivo de gorgojos de arroz, se vació un frasco de menos de 10 semanas de antigüedad sobre un colador plástico de malla ancha, que fue dispuesto sobre un recipiente apropiado. Con un pincel ancho, se removieron circularmente los restos de la dieta de mantenimiento a fin de que los insectos se depositaran en el recipiente. En un frasco de vidrio limpio, se depositaron 100 g de arvejas verdes partidas como dieta de mantenimiento. Se añadieron al frasco con arvejas, una población de 100 gorgojos de arroz. Posteriormente los frascos se cerraron con una malla doble y se almacenaron en oscuridad.

3.3. Selección de individuos para el bioensayo

Se colocaron 200 individuos en cada frasco de vidrio y conteniendo 200 g de arvejas verdes partidas (1 insecto por cada gramo de alimento) y cerrados con una malla

doble. Los frascos, usualmente 8, se almacenaron en oscuridad. Una vez transcurridos 15 días, los insectos padres fueron retirados de los cultivos y se esperó de 3 a 4 semanas adicionales para la emergencia de la progenie. Así, fue posible obtener poblaciones relativamente homogéneas de insectos con una edad y una masa corporal semejantes. Durante la emergencia, se seleccionaron de los cultivos aquellos insectos con un peso de $1,6 \pm 0,1$ mg (día -1). El bioensayo se inició al día siguiente de la selección (día 0).

3.4. Bioensayo con el gorgojo de arroz

En viales de vidrio se depositaron 2 g de las semillas artificiales del almidón correspondiente junto con poblaciones de 30 insectos, para un total de tres réplicas por dieta. Adicionalmente, se incluyó un control de calidad (condición de ayuno y condición alimentada [arvejas verdes partidas, la misma dieta utilizada para el mantenimiento de los cultivos]) y un almidón de referencia (almidón de maíz) con la finalidad de comparar el efecto sobre los biomarcadores de las dietas suministradas.

Se cuantificó interdiariamente el número de insectos sobrevivientes y su peso total, iniciando el día mismo en que se prepararon los viales (día 0) y finalizando al octavo día del bioensayo. Al finalizar el bioensayo, tanto los insectos sobrevivientes como los viales conteniendo las excretas y los restos de las dietas, se almacenaron por separado a -20 °C.

3.5. Estimación de la supervivencia y variación de peso

Con los datos registrados durante el bioensayo, se estimaron los biomarcadores supervivencia (S) y variación del peso (VP). Las fórmulas empleadas para el cálculo de ambos biomarcadores se indican a continuación:

$$S (\%) = \frac{\text{Número de insectos al día "n"}}{\text{Número inicial de insectos}} \times 100$$

$$VP (\%) = \frac{\text{Peso promedio al día "n"}^{(a)} - \text{Peso promedio inicial}^{(b)}}{\text{Peso promedio inicial}} \times 100$$

(a) El *peso promedio al día "n"* es el peso total del grupo de insectos sobrevivientes al día "n", entre el número de sobrevivientes.

(b) El *peso promedio inicial* es el peso total del grupo de insectos al día 0, entre el número de insectos seleccionados (30 insectos).

3.6. Estimación de la actividad similar a α -amilasa

La actividad similar a α -amilasa de los grupos de insectos alimentados con los almidones de papa, se estimó mediante el método descrito por González-Quilen (2013) y Lovera y colaboradores (2017). Los grupos de insectos provenientes de cada vial ($n = 3$), que sobrevivieron al día 8, fueron homogeneizados en un volumen apropiado de buffer acetato de sodio (50 mmol/L, pH 5 a 4 °C, 15 insectos por mililitro) empleando un homogeneizador Potter-Elvehjem con 10 golpes a 750 r.p.m. (usualmente un minuto y veinte segundos). Luego, los extractos se centrifugaron en tubos Eppendorf a $16.000 \times g$ por 5 min.

Una alícuota de 40 μ L de cada sobrenadante, fue llevada a un volumen final de 0,5 mL con el buffer acetato. Luego, se añadieron 0,5 mL de una solución al 5% de almidón soluble comercial (Fisher Scientific Inc., Nueva Jersey, EE. UU.) gelatinizado en el buffer acetato. La reacción enzimática se desarrolló a 45 °C por 3 minutos, tiempo tras el cual se detuvo añadiendo 1 mL del reactivo del ácido dinitrosalicílico.

La estimación de los azúcares reductores liberados por las enzimas del insecto se realizó según el método químico propuesto por Hostettler y colaboradores (1951). Para calcular el contenido de azúcares reductores, se utilizó la fórmula de una curva patrón elaborada con un estándar de maltosa 2 g/L: $y = 0,4351x - 0,010$ ($R^2 = 0,999$; $n = 4$). La

actividad similar a α -amilasa (ASA) se expresó como los micromoles de equivalentes de maltosa liberados por segundo y por litro del extracto acuoso ($\mu\text{mol/s} \times \text{L}$):

$$ASA (\mu\text{mol/s} \times \text{L}) = \frac{\text{Cantidad de maltosa (mg)} \times 10^6 (a) \times 10^6 (b)}{1000 (c) \times 342 (d) \times 180 (e) \times 40 (f)}$$

(a) Factor de conversión de mol a micromol.

(b) Factor de conversión de microlitro a litro.

(c) Factor de conversión de miligramo a gramo.

(d) Masa molecular de la maltosa, en gramos por mol.

(e) Tiempo de reacción en segundos.

(f) Alícuota del sobrenadante tomada para llevar a cabo la reacción enzimática, en microlitros.

3.7. Estimación de la excreción de ácido úrico

La excreción de ácido úrico del gorgojo de arroz se estimó mediante el método propuesto por González-Quilen y Laurentin (2012) y Lovera y colaboradores (2017). El ácido úrico se extrajo a partir de las excretas adheridas a la superficie interna del vial de vidrio y de los restos de la dieta al final del bioensayo (día 8) ($n = 3$). Se requirió primeramente, la transferencia exhaustiva de los restos de la dieta fuera del vial y su posterior homogeneización. Las semillas artificiales de almidón se trituraron manualmente con un mortero; mientras que, las arvejas verdes partidas de la condición alimentada, se molieron en un molinillo eléctrico previo a la trituración manual con el mortero. Una vez homogeneizado el material, se pesó y se devolvió cuidadosamente al vial, una alícuota de 500 mg. La extracción del ácido úrico se realizó vertiendo 3 mL de agua destilada en ebullición sobre los restos de la dieta amilácea, procurando arrastrar las excretas adheridas al vial de vidrio. Luego de mezclar el contenido del vial empleando un vórtex a velocidad máxima por un minuto, se transfirió la suspensión a un par de tubos Eppendorf (1,5 mL de suspensión por cada tubo). Los tubos Eppendorf fueron centrifugados a $16.000 \times g$ durante

5 min. Los sobrenadantes resultantes de la centrifugación se juntaron en un tercer tubo Eppendorf. Para la extracción de los viales de la condición de ayuno, se llevó a cabo el mismo procedimiento, pero obviando el paso de la homogeneización, y para esta condición como para la condición alimentada se realizó la extracción usando 2 mL de agua destilada en ebullición siguiendo con el resto del procedimiento como ya se mencionó anteriormente.

La estimación del contenido de ácido úrico se realizó con ayuda de un estuche comercial (ácido úrico enzimático-colorimétrico cat. 89015, Industrias Invelab®, Caracas). Se adicionaron en un tubo de ensayo, 25 μ L del sobrenadante junto con 1 mL del reactivo enzimático. Una vez iniciada la reacción, los tubos se dejaron reposar a temperatura ambiente por 30 min. Luego, se utilizó un espectrofotómetro para medir la absorbancia de las muestras a 520 nm. Para determinar la cantidad de ácido úrico se utilizó una curva de calibración elaborada con el estándar de ácido úrico 0,05 g/L del estuche comercial: $y = 0,1398x - 0,002$ ($R^2 = 0,999$; $n = 4$).

El método colorimétrico acopla las reacciones de dos enzimas: la uricasa y la peroxidasa. El ácido úrico es oxidado enzimáticamente por la uricasa produciendo alantoína, dióxido de carbono y peróxido de hidrógeno. Este último oxida al cromógeno (4-aminoantipirina y dihidroxibisulfonato) en presencia de la peroxidasa, produciendo un complejo rosado cuya intensidad de color es proporcional a la concentración de ácido úrico en la muestra.

La excreción de ácido úrico (EAU) es reportada como los miligramos de ácido úrico excretado durante los 8 días del bioensayo, por el de peso en kilogramos de los insectos sobrevivientes al día 8; según la siguiente ecuación:

$$EAU = \frac{\text{Cantidad de ácido úrico } (\mu g) \times Vext^{(a)}(mL) \times 1000^{(b)}}{0,025^{(c)} \times \text{Peso de sobrevivientes al día 8 (mg)}} \times FD$$

(a) Vext: Volumen de extracción, en mililitros (usualmente 3 mL).

(b) Conversión de miligramo a gramo.

(c) Alícuota tomada para la cuantificación del ácido úrico, en mililitros.

FD: factor de dilución empleado durante el ensayo colorimétrico.

4. Análisis estadístico

Los cálculos y las regresiones lineales (coeficiente de determinación) de las curvas de calibración se realizaron con Microsoft Office Excel[®] 2010 de Microsoft Corporation (Redmond, WA, EE. UU.). Los análisis de varianza de una vía y las correlaciones simples (coeficiente de Pearson) se realizaron con Minitab[®] 16 de Minitab Inc. (State College, PA, EE. UU.). Se utilizó $\alpha = 0,05$ como nivel de significancia.

5. Financiamiento

Esta investigación fue realizada con el apoyo del proyecto “Producción de semilla mejorada y certificada de ajo (*Allium sativum*), apio criollo (*Arracacia xanthorrhiza*), fresa (*Fragaria ananassa*), cacao (*Theobroma cacao*), café (*Coffea arabica*) y zanahoria (*Daucus carota*)”; otorgado por la Corporación para el Desarrollo Científico y Tecnológico (CODECYT S.A) del Ministerio del Poder Popular para la Educación Superior, Ciencia y Tecnología en noviembre de 2016 y financiado por el proyecto LOCTI No. 2013000618.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente trabajo se caracterizó la digestibilidad de los almidones aislados de cinco variedades de papa nativa. Para ello, se emprendieron estudios *in vitro* e *in vivo*. En todos los análisis *in vivo* se incluyó una referencia de alta biodisponibilidad.

1. Composición química de los almidones de papa nativa

Bajo condiciones atmosféricas normales, muchos almidones comerciales contienen entre 10 y 20% de humedad (p/p). La humedad en almidones usualmente se equilibra al alcanzar 12% (Swinkels, 1985). Estos valores de humedad son los adecuados para lograr que el producto tenga una mayor estabilidad durante el período de almacenamiento, ya que a estos valores el desarrollo microbiano es muy lento (Jay, 1996). La humedad de los almidones de papa nativa estuvo en un rango entre 10 – 12% (**Tabla 3**). Estos resultados referentes al porcentaje de humedad están acordes con la información reportada para almidón de papa entre 7% a 13 % (Hoover, 2001; Sangeetha, 2006).

Tabla 3. Composición química de los almidones de papa nativa

Variedad	Humedad (%)	Proteína cruda (%)	Almidón total (%)
Papa comercial	8,85 ± 0,05 ^e	0,11 ± 0,04 ^b	94,4 ± 1,1 ^{a,b,c}
Amarilis	11,78 ± 0,16 ^a	0,22 ± 0,04 ^a	88,6 ± 0,5 ^d
Andinita	11,26 ± 0,06 ^c	0,22 ± 0,00 ^{5a}	96,4 ± 1,0 ^a
Angostureña	10,29 ± 0,28 ^d	0,16 ± 0,04 ^{ab}	95,4 ± 4,5 ^{a,b}
Ojos catires	11,60 ± 0,06 ^b	0,19 ± 0,05 ^a	91,6 ± 1,8 ^{b,c,d}
Tiniruca	11,66 ± 0,12 ^b	0,18 ± 0,05 ^{ab}	91,4 ± 1,6 ^{c,d}

Los valores son el promedio ± la desviación estándar (n = 3), sobre la base seca (excepto para humedad cuyos valores se expresan en base fresca). El análisis de varianza de una vía realizado para cada variable, mostró que las medias dentro de cada columna con letras distintas como superíndice, son significativamente diferentes (p < 0,05; ANOVA, prueba de Fisher). El almidón de papa comercial se incluyó con fines comparativos.

Hernández y colaboradores (2008) y Lovera y colaboradores (2017) reportan para almidón de papa comercial contenidos de proteína en el rango de 0,06% – 0,11%. Los valores de proteína encontrados en los almidones de papa nativa (**Tabla 3**) estuvieron por encima del rango encontrado por los otros investigadores, siendo los almidones de las variedades andinita y amarilis aquellos con el mayor contenido de proteína en comparación con el resto de los almidones de papa nativa.

Kingman y Englyst (1994) reportaron para papa cruda, valores de almidón total entre el 75% – 80%. Lovera y colaboradores (2017) reportaron un 88% de almidón total para una muestra de almidón de papa comercial. Los almidones de papa nativa presentaron contenidos mayores de almidón total (91% – 96%) en comparación a los reportados por otros investigadores para muestras de almidón de papa comercial, con excepción de la variedad amarilis.

2. Digestibilidad *in vitro* de los almidones de papa nativa

El estudio de la digestibilidad *in vitro* de los almidones de papa nativa involucró la estimación del contenido de almidón disponible, la tasa de hidrólisis por acción de la α -amilasa pancreática porcina y el tenor de almidón resistente total del almidón crudo.

2.1. Almidón potencialmente disponible

En la **Tabla 4** se muestra el contenido de almidón disponible de los almidones de papa estudiados. Los almidones de papa nativa presentaron un porcentaje entre el 90% – 97% de almidón potencialmente disponible. Aunque todos los almidones ensayados tuvieron el mismo origen botánico, se encontró cierto grado de variabilidad en el contenido de almidón disponible, lo cual podría atribuirse a las diferencias existentes a nivel de

cultivo que existen entre las papas nativas. La variedad andinita presentó una cantidad de almidón disponible mayor que el almidón de papa comercial, mientras que la variedad amarilis arrojó el menor valor.

Tabla 4. Contenido de almidón disponible en los almidones de papa nativa.

Variedad	Almidón disponible (%)
Papa comercial	94,9 ± 1,3 ^b
Amarilis	89,9 ± 1,6 ^c
Andinita	97,1 ± 0,4 ^a
Angostureña	97,2 ± 0,3 ^a
Ojos catires	91,1 ± 0,3 ^c
Tiniruca	91,3 ± 0,7 ^c

Los valores son el promedio ± la desviación estándar sobre la base seca (g/100 g; n = 3). El análisis de varianza de una vía mostró que las medias con letras distintas como superíndice, son significativamente diferentes ($p < 0,05$; ANOVA, prueba de Fisher). Como control de calidad para el ensayo de almidón disponible se utilizó el almidón de papa comercial Potatis mjöl (Lyckeby Stärkelsen, Suecia) ($94,8 \pm 1,22\%$; n=12). El almidón de papa comercial se incluyó con fines comparativos.

Lovera y colaboradores (2017) reportaron 86% de almidón disponible para el almidón de papa comercial, siendo el menor valor reflejado en su investigación en comparación con las otras muestras estudiadas de almidón de ocumo chino (96%), yuca (95%), mapuey (94%) y apio (91%); dicho valor de almidón potencialmente disponible en el almidón de papa comercial es menor a los porcentajes encontrados en los almidones de papa nativa de la presente investigación. Sin embargo, el rango de almidón disponible encontrado en los almidones de papa nativa coincide con los valores reportados por García (2003) y Galeno (2006) para los almidones aislados de otras fuentes amiláceas como el maíz (98%), el apio (94%) y la misma papa (95%).

Leeman y colaboradores (2005) estimaron porcentajes de almidón disponible de 88% y 89% para materiales de papa (papas frescas cocidas y papas cocidas y almacenadas, respectivamente) empleando el método de Holm y col. (1986) que se utilizó en el presente estudio.

Loyola y colaboradores (2010) establecieron en su investigación que no existen diferencias estadísticamente significativas respecto al contenido de almidón entre papas cultivadas de forma comercial y papas cultivadas de forma orgánica tal y como son los cultivos de las papas nativas. Sin embargo autores como Storey y Davies (1992) y Hans (1998) señalan que el efecto de la sinergia del nitrógeno, potasio y cloruro de potasio tiene un efecto negativo en el contenido de almidón, lo que pudo haber atentado en contra de la cantidad de almidón factible de acumular en los tubérculos, particularmente al haber sido cultivado en forma orgánica.

2.2.Tasa de α -amilólisis *in vitro* de los almidones de papa nativa

La cinética de hidrólisis del almidón por acción de la α -amilasa es un proceso que depende de un conjunto de factores, a saber: el estado físico del almidón, la morfología del gránulo, la relación amilosa-amilopectina, el tipo y grado de cristalinidad, la asociación del almidón con las proteínas y lípidos y las modificaciones estructurales promovidas por los tratamientos químicos, físicos y enzimáticos aplicados en la industria de los alimentos (Colonna y col., 1992). En la caracterización nutricional de los alimentos amiláceos es particularmente importante evaluar este parámetro, porque las respuestas glucémica e insulinémica derivadas de la ingesta, son un reflejo de la velocidad de digestión del almidón (Björck, 1994).

En la **Figura 6** se muestran las curvas de amilólisis *in vitro* estimadas para los almidones crudos de papa nativa y en la **Figura 7** se muestran las curvas para los almidones gelatinizados. Los porcentajes de hidrólisis fueron expresados sobre la base de almidón disponible a fin de garantizar que las posibles diferencias encontradas en las tasas de digestión, obedezcan a las propiedades intrínsecas de los almidones ensayados y no a las diferencias en las concentraciones de α -glucanos potencialmente digeribles. Para la evaluación de la cinética de hidrólisis se consideraron dos parámetros (**Tabla 5**): la velocidad de hidrólisis inicial, que constituye la proporción de almidón hidrolizado en los primeros 15 minutos de reacción, y la magnitud de hidrólisis final, que representa la proporción total de almidón digerido al cabo de los 60 minutos de duración del ensayo.

Los almidones crudos de papa nativa (**Figura 6** y **Tabla 5**) presentaron velocidades iniciales en un rango de 0,1% – 0,7% y magnitudes finales de hidrólisis de 2,9% – 6,2%. Estos resultados son similares a los encontrados por Lovera y colaboradores (2017), empleando el mismo método de Holm y colaboradores (1985), respecto a la velocidad inicial (1,2%) y magnitud final (2,9%) del almidón crudo de papa comercial.

La baja tasa de hidrólisis enzimática de los almidones crudos podría estar dada por el alto contenido de almidón resistente tipo 2, debido al patrón de difracción de rayos X de tipo B que generalmente presentan este tipo de fuentes botánicas (Zobel, 1988).

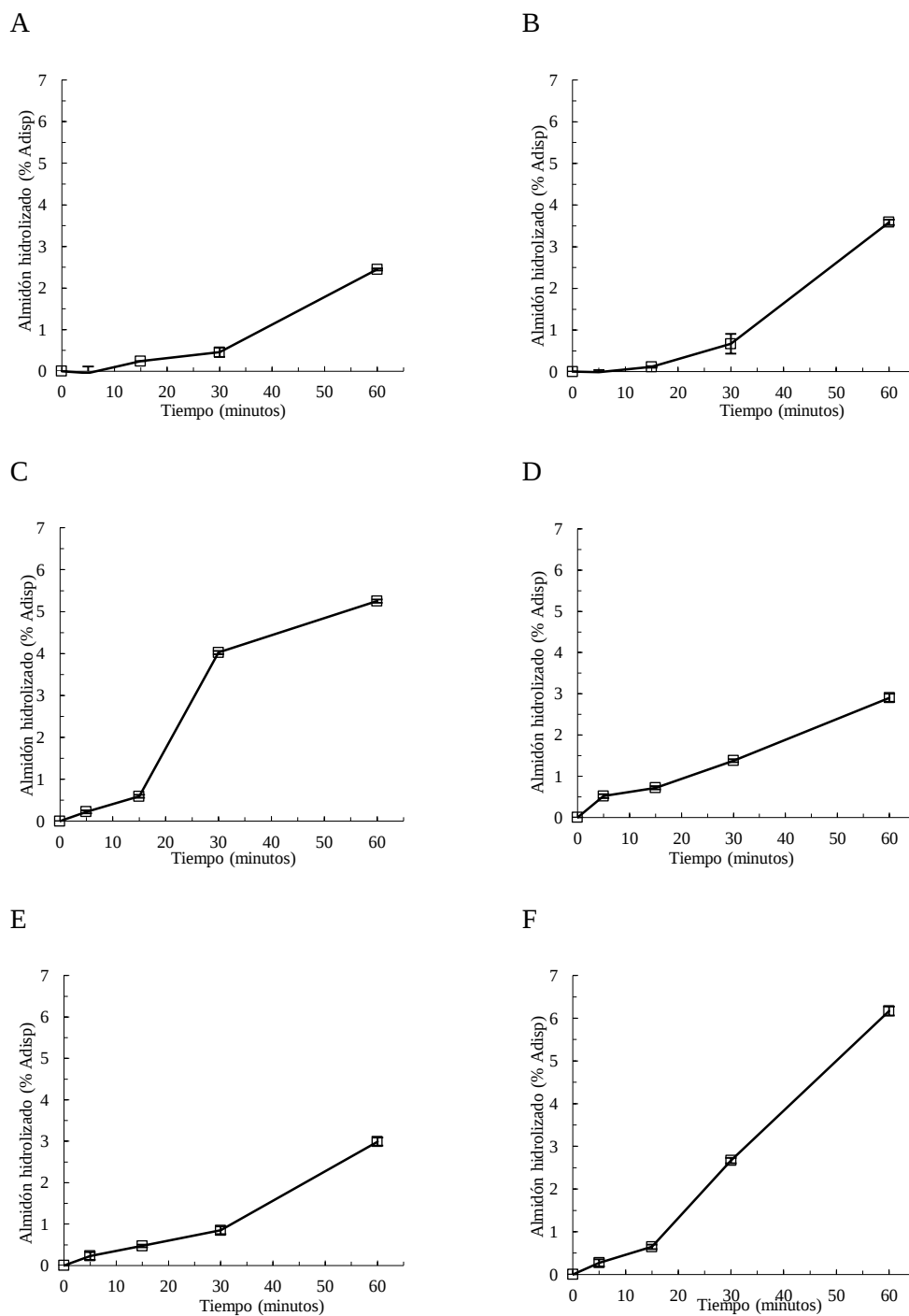


Figura 6. Cinética de hidrólisis *in vitro* de los almidones crudos de papa.

Cada punto representa el porcentaje de almidón hidrolizado sobre la base de almidón disponible de los almidones crudos de papa. A: papa comercial (incluido con fines comparativos), B: variedad amarilis, C: variedad andinita, D: variedad angostureña, E: variedad ojos catires, F: variedad tiniruca. Las barras indican la desviación estándar de la media (n = 3).

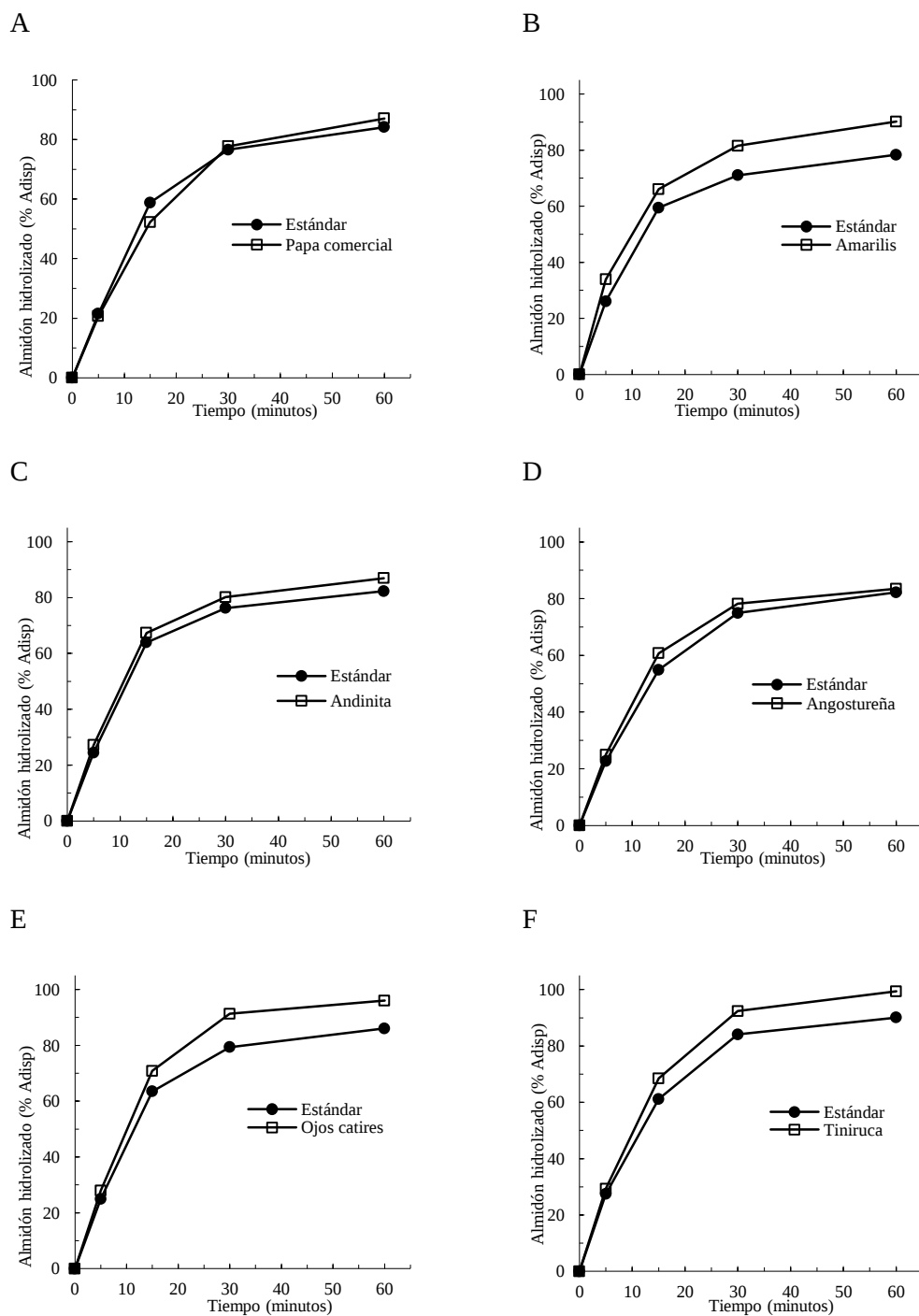


Figura 7. Cinética de hidrólisis *in vitro* de los almidones gelatinizados de papa nativa.

Cada punto representa el porcentaje de almidón hidrolizado sobre la base de almidón disponible y constituye el promedio de dos determinaciones próximas. A: papa comercial, B: variedad amarilis, C: variedad andinita, D: variedad angostureña, E: variedad ojos catires, F: variedad tiniruca. Como control de calidad para los ensayos de α -amilólisis se utilizó el almidón de maíz (Maizena Americana®, Alfonso Rivas 8 CIA, Caracas, Venezuela) gelatinizado (n = 12; Estándar).

Tabla 5. Velocidad inicial y magnitud final de hidrólisis *in vitro* de los almidones de papa nativa.

Variedad	Cruda		Gelatinizada	
	Velocidad inicial (%)	Magnitud final (%)	Velocidad inicial (%)	Magnitud final (%)
Papa comercial	0,24 ± 0,06 ^c	2,45 ± 0,09 ^e	52,29	87,08
Amarilis	0,12 ± 0,02 ^d	3,59 ± 0,06 ^c	66,09	90,16
Andinita	0,59 ± 0,04 ^{ab}	5,25 ± 0,04 ^b	67,33	86,95
Angostureña	0,72 ± 0,04 ^a	2,90 ± 0,10 ^d	60,75	83,46
Ojos catires	0,47 ± 0,03 ^b	2,99 ± 0,09 ^d	70,83	95,98
Tiniruca	0,65 ± 0,05 ^{ab}	6,17 ± 0,10 ^a	68,48	99,39

Los porcentajes son el promedio de almidón hidrolizado sobre la base de almidón disponible (n=3 para los almidones crudos; los almidones gelatinizados están presentados como el promedio de los duplicados próximos). El análisis de varianza de una vía realizado para cada variable, mostró que las medias dentro de cada columna con letras distintas como superíndice, son significativamente diferentes ($p < 0,05$; Prueba LSD de Fisher). La velocidad inicial es la proporción de almidón hidrolizado en los primeros 15 minutos, mientras que la magnitud final es la proporción total de almidón hidrolizado al cabo de los 60 minutos. Como control de calidad para los ensayos de α -amilólisis se utilizó el almidón de maíz gelatinizado (Maizina Americana®, Alfonso Rivas & Cía; n=12); los valores obtenidos fueron $60,3 \pm 3,28\%$ y $83,9 \pm 3,82\%$ para la velocidad inicial y la magnitud final, respectivamente. El almidón de papa comercial se incluyó con fines comparativos.

Martín (2010) analizó el almidón de maíz regular crudo y encontró una magnitud final de hidrólisis de 9,6%. Lovera y colaboradores (2017) encontraron magnitudes finales de hidrólisis de 9,7% para almidón crudo de yuca y 10,5% para almidón crudo de apio. Estos valores reportados en distintos almidones crudos de otras especies vegetales son mayores a los mostrados en el presente estudio para los almidones crudos de papa nativa.

La gelatinización incrementó cuantiosamente la susceptibilidad de los almidones a la digestión (**Figura 7** y **Tabla 5**), pudiéndose observar en los almidones de papa nativa, magnitudes finales de hidrólisis mayores (83% – 99%) a las estimadas en la contraparte cruda, algunas incluso comparables y similares a las encontradas en el almidón de referencia gelatinizado ($83,9 \pm 3,8\%$). Estos resultados evidenciaron que el proceso de

gelatinización eliminó la mayor parte del almidón resistente de tipo 2, lo cual se explica por los procesos de hinchamiento y de pérdida del orden interno del gránulo, causados por el efecto hidrotérmico (Colonna y col., 1992).

Noda y colaboradores (2008) encontraron distintos rangos de magnitudes finales de hidrólisis luego de dos horas de incubación a 37 °C con enzimas amilolíticas, en 15 muestras de almidón de papa (crudo y gelatinizado) provenientes de diferentes tubérculos de papa comercial y papa dulce, con el mismo origen botánico, pero cultivadas de distintas formas. En general la magnitud final de hidrólisis en los almidones crudos de papa fue baja al igual que los valores encontrados en los almidones de papa nativa de esta investigación, en un rango del 1% – 10%. Un porcentaje de hidrólisis relativamente alto (7% – 10%) fue encontrado en otros tres almidones crudos de papa, mientras que los almidones crudos de papa dulce mostraron la mayor magnitud final de hidrólisis (17% – 25%). Con el proceso de gelatinización las magnitudes finales de hidrólisis en los almidones de papa aumentaron drásticamente, obteniendo valores entre el 66% y el 80%.

Según Englyst y col. (1982) el almidón de papa es similar al almidón de banano, que es resistente a la α -amilasa pancreática tanto *in vitro* como *in vivo*. Sin embargo, cuando las papas se cocinan para el consumo, el almidón se gelatiniza, y se hace susceptible a la hidrólisis con α -amilasa. González-Quilen (2013) reportó bajas magnitudes finales para los almidones crudos de banano (0,89% – 2%) y valores muy similares a los encontrados en los almidones de papa nativa respecto a las magnitudes finales para los almidones gelatinizados de banano (83% – 90%).

2.3. Almidón resistente total

En la **Tabla 6** se muestran los resultados obtenidos para el contenido de almidón resistente total en los almidones de las cinco variedades de papa nativa. En las variedades amarilis, andinita y angostureña el contenido de almidón resistente fue mayor a 10%, mientras que en el caso de ojos catires y tiniruca fue mayor a 19%. Según la clasificación propuesta por Goñi y colaboradores (1996) los almidones de las variedades amarilis, andinita y angostureña presentaron un contenido de almidón resistente *alto* (entre el 5% y 15%), mientras que las variedades ojos catires y tiniruca poseen un porcentaje de almidón resistente *muy alto* (superiores a 15%).

Tabla 6. Contenido de almidón resistente total en los almidones de papa nativa

Variedad	Almidón resistente total (%)
Papa comercial	28,0 ± 0,1 ^a
Amarilis	11,3 ± 0,1 ^e
Andinita	13,8 ± 0,0 ^d
Angostureña	13,9 ± 0,6 ^d
Ojos catires	22,1 ± 0,1 ^b
Tiniruca	19,2 ± 0,3 ^c

Los valores son el promedio ± la desviación estándar sobre la base seca (g/100 g; n = 3). Como control de calidad para los ensayos de almidón resistente total se utilizó Corn flakes® (3,56 ± 0,15%; n=4). El análisis de varianza de una vía realizado mostró que las medias con letras distintas como superíndice, son significativamente diferentes (p < 0,05; Prueba LSD de Fisher). El almidón de papa comercial se incluyó con fines comparativos.

El tenor de almidón resistente estimado en los almidones de papa nativa y papa comercial del presente estudio (**Tabla 6**) es menor a los reportados por otros autores para papa comercial (Hernández, 2006, Paredes y col., 2013 y Lovera y col., 2017) quienes obtuvieron porcentajes de almidón resistente para muestras de papa entre 36-71%. Específicamente Hernández (2006) reportó para la misma muestra de almidón de papa

comercial evaluada en la presente investigación un tenor de almidón resistente de 46%, aproximadamente el doble del valor reportado en la **Tabla 6**.

El almidón resistente está presente en alimentos, tanto crudos como procesados, y su estudio es de gran importancia en el área nutricional, debido a que posee ciertas características que generan respuestas fisiológicas en los organismos que lo consumen. Estas respuestas fisiológicas han sido asociadas con aparentes beneficios a la salud y están mediadas por los ácidos grasos de cadena corta que se generan a partir de la fermentación del almidón resistente por la microbiota del colon (Bird y col., 2000; Laurentin, 2004). Por lo tanto una alta cantidad de almidón resistente es un valor agregado que presenta el alimento, como en el caso de los almidones de papa nativa estudiados (**Tabla 6**).

Dado que los almidones analizados están crudos, en el sentido de que no han sido sometidos a un proceso de gelatinización, la cantidad de almidón retrogradado que podría encontrarse en ellos sería muy baja o incluso nula. Por esta razón, la mayoría del almidón resistente total encontrado en estos almidones se debe, principalmente, a fracciones de almidón intrínsecamente resistente (Lovera y col., 2017). Esto guarda relación con que el alto contenido de almidón resistente total en los almidones de papa se debe a su particular organización cristalina que los hace menos susceptibles a la hidrólisis enzimática (Englyst y col., 1986; Englyst y col., 1992; Gallant y col., 1992; Bello-Pérez y col., 2000; Hernández, 2006) y está asociado al patrón de difracción de rayos X tipo B, característico del almidón de papa comercial (Zobel, 1988).

Más aún, Pardo y colaboradores (2013) encontraron que al analizar los almidones de distintas variedades de papa nativa (ICA única, ICA huila, ICA puracé, criolla latina,

parada pastusa, tuquerreña y R-12), la difracción mostró patrones de cristalinidad tipo B, propia de tubérculos como ya se dijo, estableciendo que la cristalinidad en los almidones está asociada con el contenido de amilopectina y la fase amorfa con la amilosa. Los gránulos de almidón con estructura cristalina tipo B presentan en la periferia una capa gruesa formada por bloques grandes y más o menos esféricos, que se encuentran apilados y están constituidos por lamelas cristalinas y amorfas de amilopectina con un alto grado de compactación (Gallant y col. 1992). Esta organización dificulta el acceso de las enzimas digestivas al interior del gránulo y los hace más resistentes a la hidrólisis (Pardo y col., 2013).

La cristalinidad de los almidones es uno de los factores que más influye sobre el porcentaje de almidón resistente total encontrado (Englyst y col., 1992). Al someter al almidón a un proceso de gelatinización la estructura cristalina desaparece y aumenta la accesibilidad para el proceso de hidrólisis por parte de las enzimas. Leeman y col. (2005) encontraron porcentajes de almidón resistente entre 3% – 5% en muestras de papas cocinadas y por ende sometidas a un proceso de gelatinización para el almidón. Estos porcentajes reportados por Leeman y col. (2005) representan contenidos de almidón resistente *intermedios* (entre 3% y 5%) según Goñi y col. (1996) y son más bajos al compararlos con los obtenidos para los almidones crudos de papa nativa (**Tabla 6**). Además estos valores demuestran la importancia de la estructura cristalina asociada a los almidones, sobre la cantidad de almidón resistente total encontrada.

3. Digestibilidad *in vivo* de los almidones de papa nativa

Los resultados obtenidos en los parámetros que caracterizan la digestibilidad *in vitro* de los almidones estudiados, ameritan estudios detallados de su comportamiento y destino

metabólico *in vivo* (Tovar, 2001). El gorgojo de arroz (*S. oryzae*) fue empleado como modelo animal para llevar a cabo los estudios *in vivo*. Se evaluó la supervivencia, la variación del peso, la actividad similar a α -amilasa y la excreción de ácido úrico de los insectos alimentados con los distintos almidones de papa nativa, como biomarcadores de la digestibilidad de las dietas suministradas. Este bioensayo con el gorgojo del arroz ha sido utilizado en diversos estudios nutricionales (Szwarcbort, 1980; Carmona y Gómez-Sotillo, 1997; Carmona y col., 1998; López, 1999; Carmona y col., 2001; García, 2003; Galeno, 2006; Lovera, 2008; Gamero y col., 2010; Martín, 2010; González-Quilen, 2013; León, 2015, Lovera y col., 2017).

Para el bioensayo se establece una condición de ayuno en donde se elimina completamente la ingesta de alimento y una condición alimentada en la cual se suministra a los insectos arvejas verdes partidas, la misma dieta de mantenimiento de los cultivos, la cual satisface los requerimientos nutricionales del animal y le proporciona un exceso de nutrientes. Estas dos condiciones representan un control de calidad en el bioensayo ya que permite evaluar la respuesta del insecto ante condiciones extremas ya establecidas y reportadas en otras investigaciones (Szwarcbort, 1980; Carmona y Gómez-Sotillo, 1997; Carmona y col., 1998; López, 1999; Carmona y col., 2001; García, 2003; Galeno, 2006; Lovera, 2008; Gamero y col., 2010; Martín, 2010; González-Quilen, 2013; León, 2015, Lovera y col., 2017).

Debido al uso del gorgojo de arroz como modelo animal en el estudio de la biodisponibilidad de almidones aislados, se incluyó una referencia que corresponde a un almidón de alta biodisponibilidad, en este caso el almidón de maíz, con la finalidad de comparar la digestibilidad de las dietas suministradas con la digestibilidad de esta referencia (Galeno, 2006; Martín, 2010; Lovera y col., 2017). No obstante, esta referencia

de almidón de maíz no pudo discriminar a los cinco almidones de papa nativa evaluados (como se discute en las páginas subsiguientes), por lo que fue necesario usar una referencia alternativa. Se eligió como referencia alternativa al almidón de papa comercial. De esta manera, la digestibilidad de las dietas suministradas también se comparó con la digestibilidad de la referencia alternativa.

3.1. Supervivencia al día 8

En la **Figura 8** se muestra la supervivencia del gorgojo de arroz durante los ocho días de duración del bioensayo en la condición de ayuno, en la condición alimentada y con la referencia (almidón de maíz). En la **Figura 9** se observa la supervivencia del insecto alimentado con los almidones de papa nativa. La supervivencia del gorgojo de arroz en la condición alimentada se mantuvo en 100% hasta el octavo día del bioensayo, mientras que en aquellos mantenidos en ayunas, se observó una disminución que se acentuó a partir del día 4; presentando para el día 8 una supervivencia del $65,9 \pm 2,8\%$ (**Figura 8**). La muerte de los insectos en el ayuno prolongado está asociada a cambios en distintos sistemas enzimáticos esenciales, como la cadena respiratoria, debido al consumo de las reservas corporales de grasa y especialmente de proteínas como consecuencia de la ausencia de alimento (Kleiber, 1975; citado por García, 2003). Estos resultados concuerdan con los reportados en los estudios previos (García, 2003; Galeno, 2006; Martín, 2010; González-Quilen, 2013; León, 2015; Lovera y col. 2017), con supervivencias en la condición alimentada entre 98% – 100% y entre 70% – 80% para la condición de ayuno.

La supervivencia al día 8 de los insectos alimentados con la referencia (almidón de maíz) fue de $97,8 \pm 1,1\%$ y no se encontró diferencia significativa con respecto a la condición alimentada ($p > 0,05$). Carmona y colaboradores (1998) lograron establecer que

el almidón de maíz constituye una dieta basal mínima que aporta una cantidad de nutrientes limitada aunque suficiente para satisfacer las demandas nutricionales del gorgojo de arroz y promover una ganancia de peso similar a la que se observa cuando el insecto es alimentado con arvejas verdes partidas.

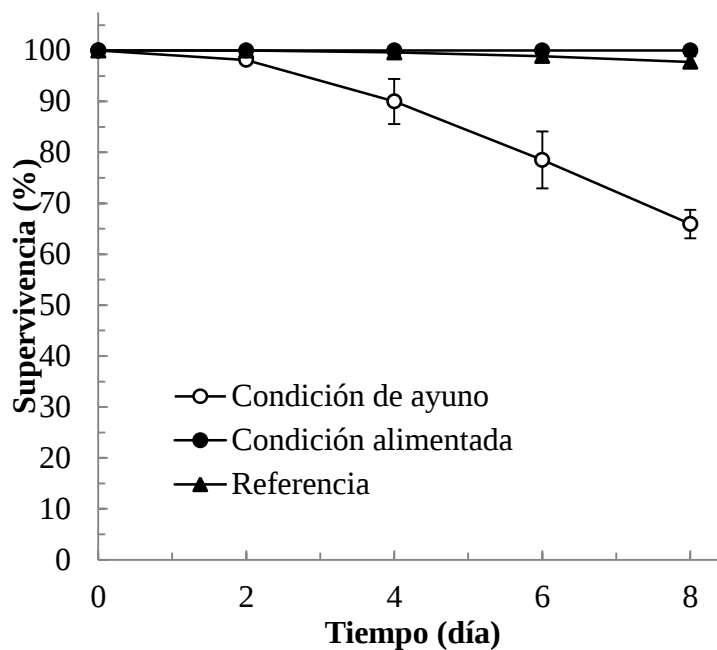


Figura 8. Supervivencia del gorgojo de arroz en la condición de ayuno, condición alimentada y la referencia.

Las barras indican la desviación estándar de la media ($n = 3$). La condición alimentada es la dieta de arvejas verdes partidas. La referencia es el almidón de maíz.

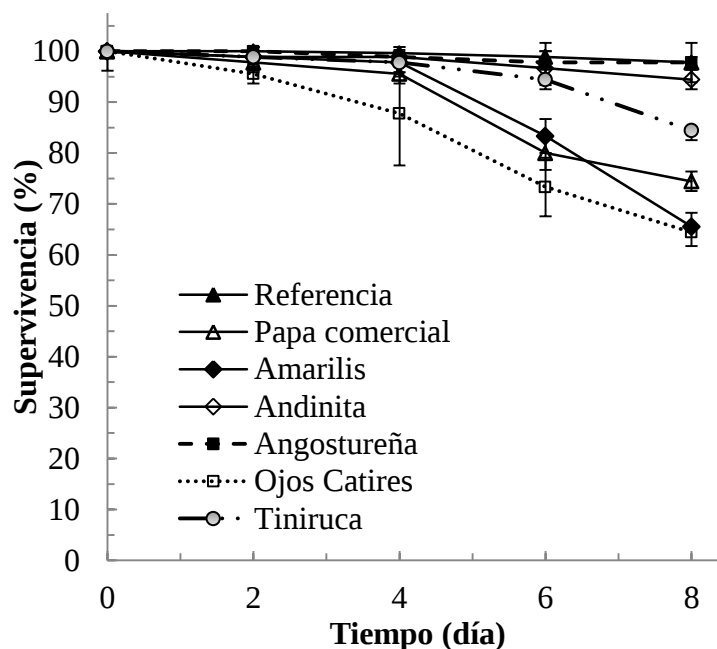


Figura 9. Supervivencia del gorgojo de arroz alimentado con los almidones de papa nativa.

Las barra indican la desviación estándar de la media ($n = 3$). La referencia es el almidón de maíz. La dieta de papa comercial se incluyó con fines comparativos.

Los insectos alimentados con los distintos almidones de papa nativa presentaron supervivencias muy variadas y significativamente diferentes (**Figura 9**), llegando a obtener porcentajes de supervivencia al día 8 similares a la condición de ayuno. Las variedades angostureña ($97,8 \pm 3,8\%$) y andinita ($94,4 \pm 1,9\%$) presentaron una supervivencia al día 8 cercana a la referencia (almidón de maíz; $97,8 \pm 1,1\%$, $p > 0,05$). La variedad tiniruca presentó un valor de $84,4 \pm 1,9\%$, el cual fue significativamente menor que la referencia ($p < 0,05$). Las variedades amarilis y ojos catires promovieron la menor supervivencia al día 8 ($65,6 \pm 3,9\%$ y $64,4 \pm 3,9\%$, respectivamente) que el resto de las dietas (**Figura 9**). Además no fueron significativamente diferentes entre sí ni con la condición de ayuno ($p > 0,05$), pero sí presentaron diferencia significativa con el almidón de referencia ($p < 0,05$).

Galeno (2006) reportó supervivencias de 80 – 85% para las dietas poco biodisponibles de almidón de papa y de plátano, valores ligeramente superiores a lo obtenido en su estudio para la condición de ayuno (81%). Esta autora justifica la disminución en la supervivencia de los insectos alimentados con almidón de papa, con base a que este almidón presenta una baja digestibilidad *in vitro*. Sin embargo, García (2003) encontró una supervivencia, en insectos alimentados con almidón de papa, que no fue significativamente diferente al 100% y que, además, fue la misma que en el caso de insectos alimentados con la referencia (almidón de maíz).

El biomarcador supervivencia mostró una correlación positiva y moderada con dos variables *in vitro*: la cantidad de almidón potencialmente disponible (coeficiente de Pearson: $r = 0,759$; $p < 0,05$; $n = 18$) y la velocidad inicial de hidrólisis del almidón crudo ($r = 0,769$; $p < 0,05$; $n = 18$). En este estudio, la cinética de hidrólisis se evaluó tanto en el almidón crudo como en el gelatinizado (**Tabla 5**), sin embargo, la correlación se realizó para el almidón crudo porque fue a partir de él que se elaboraron las dietas que consumieron los insectos.

Estos resultados pueden explicar la supervivencia de los insectos alimentados con las variedades angostureña y andinita, ya que estos almidones presentaron el mayor contenido de almidón potencialmente disponible (**Tabla 4**) y altas velocidades iniciales de hidrólisis (**Tabla 5**). En contraposición, los almidones de las variedades amarilis y ojos catires, presentaron bajo tenor de almidón potencialmente disponible y baja velocidad inicial de hidrólisis; resultando en una baja supervivencia para los insectos alimentados con estas dietas.

El contenido de almidón resistente total es un parámetro *in vitro* que correlacionó con los biomarcadores estudiados por otros investigadores (García, 2003; Galeno, 2006; Lovera, 2008; Martín, 2010; González-Quilen, 2013; Lovera y col., 2017). En esta investigación no se observó la correlación ($r = -0,326$; $p > 0,05$; $n = 18$). Un análisis visual de los gráficos de ajuste lineal de las variables estudiadas, mostró que la variedad amarilis produjo puntos excéntricos (**Figura A1**, panel A; ver Anexos), que al eliminarlos del análisis de correlación, el biomarcador supervivencia correlacionó de forma negativa y moderada con el tenor de almidón resistente total ($r = -0,794$; $p < 0,05$; $n = 15$). La correlación negativa entre estas dos variables, indica que la supervivencia es afectada a medida que la dieta contiene almidón resistente.

En estudios previos (Carmona y col., 1998; Carmona y col., 2001; García, 2003; Galeno, 2006; Martín, 2010; González-Quilen, 2013) el biomarcador supervivencia no fue un estimador de la digestibilidad de los almidones, ya que no discriminó entre las dietas ensayadas ni correlacionó con las variables *in vitro*. En el presente trabajo la supervivencia sí mostró diferencias significativas entre las dietas y correlacionó con algunas variables *in vitro* por lo que, al menos para los almidones de papa nativa, este biomarcador pudiera estimar disponibilidad de los almidones. En este sentido, la digestibilidad de las variedades angostureña y andinita fue igual a la de la referencia (almidón de maíz), mientras que la digestibilidad de la variedad tiniruca fue menor que la de la referencia. En el caso de las variedades amarilis y ojos catires, es difícil asegurar que su digestibilidad fue menor que la de la referencia, ya que la supervivencia al día 8 de estas variedades fue igual que la de la condición de ayuno. Gamero y col (2010), utilizando el biomarcador tiempo de supervivencia media (TSM), señalan que un TSM igual al de la condición de ayuno sugiere

una dieta con moderada toxicidad para *S. oryzae*. Si las variedades amarilis y ojos catires producen algún tipo de toxicidad para el insecto, la supervivencia al día 8 no debiera ser utilizada para predecir la digestibilidad de esos almidones. Un estudio detallado del TSM para los almidones de papa nativa estuvo fuera de los objetivos del presente trabajo.

3.2. Variación de peso al día 8

La **Figura 10** muestra las curvas de la variación del peso del insecto en la condición de ayuno, la condición alimentada y la referencia (almidón de maíz); en la **Figura 11** se muestra las curvas correspondientes a los almidones de las papas nativas y la **Tabla 7** muestra el peso promedio al inicio, al final del bioensayo y la variación del peso del gorgojo de arroz alimentado con las distintas dietas de almidón de papa nativa. La condición alimentada generó el incremento progresivo del peso corporal, hasta ubicarse en $13,8 \pm 3,1\%$ al finalizar el bioensayo (**Figura 10**). Galeno (2006), González-Quilen (2013) y Lovera y col. (2017) reportaron incrementos del 6 al 10% en el peso de los insectos de la condición alimentada, mientras que Martín (2010) reportó un incremento del 1%.

En la condición de ayuno, los insectos presentaron una variación de peso de $-28,0 \pm 8,5\%$ al día 8 (**Figura 10**), valor que guarda relación con investigaciones previas que reportaron una pérdida de peso entre el 20 – 25% (García, 2003; Galeno, 2006; Martín, 2010; González-Quilen, 2013; Lovera y col., 2017). Esta disminución de peso del insecto durante el bioensayo se explica por la utilización de las reservas corporales, con la subsecuente pérdida de agua, de grasa y de proteína corporal (López, 1999). Estos biomarcadores de la composición corporal del insecto no fueron medidos en el presente trabajo.

Tomando en cuenta los resultados de la supervivencia y de la variación de peso para las condiciones de ayuno y alimentada se concluye que el insecto se comportó como era de esperarse ante estas dos condiciones extremas.

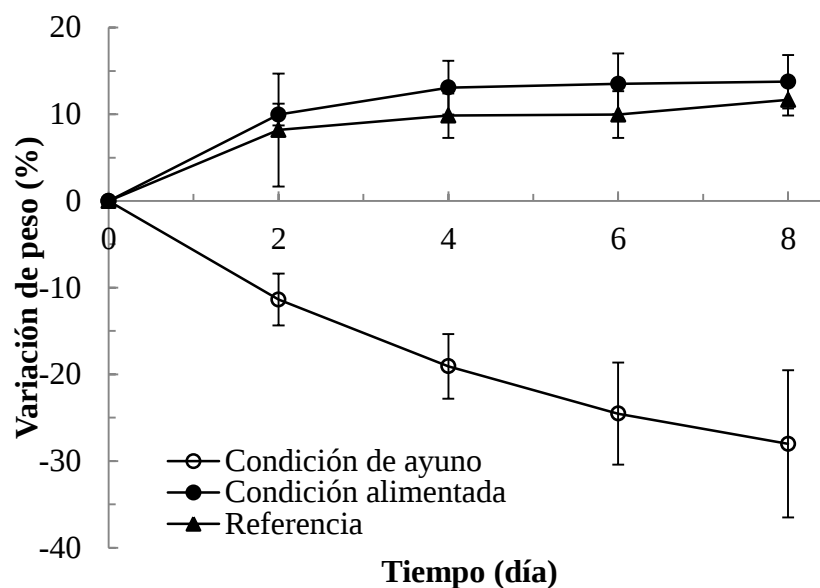


Figura 10. Variación del peso del gorgojo de arroz en la condición de ayuno, condición alimentada y en la referencia

Las barras indican la desviación estándar de la media ($n = 3$). La condición alimentada es la dieta de arvejas verdes partidas. La referencia es el almidón de maíz.

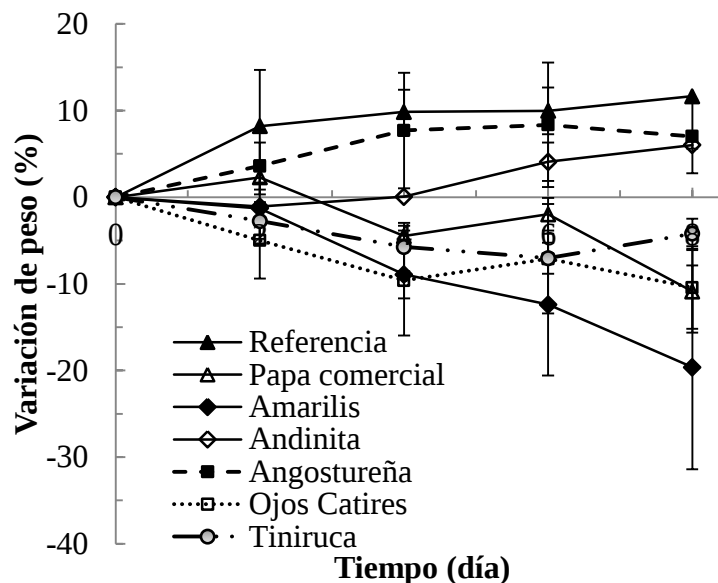


Figura 11. Variación del peso del gorgojo de arroz alimentado con los almidones de papa nativa

Las barras indican la desviación estándar de la media (n = 3). La referencia es el almidón de maíz. La dieta de papa comercial se incluyó con fines comparativos.

Tabla 7. Peso promedio inicial, final y variación del peso de los insectos durante el bioensayo

Dieta	Peso promedio al día 0 (mg)	Peso promedio al día 8 (mg)	Variación del peso al día 8 (%)
Referencia	1,74 ± 0,04 ^{bc}	1,94 ± 0,06 ^a	11,7 ± 1,8 ^a
Papa comercial	1,73 ± 0,02 ^c	1,54 ± 0,08 ^{cd}	-10,9 ± 4,8 ^b
Amarilis	1,83 ± 0,01 ^a	1,47 ± 0,21 ^d	-19,6 ± 11,8 ^c
Andinita	1,76 ± 0,03 ^{bc}	1,80 ± 0,09 ^{ab}	6,0 ± 0,9 ^a
Angostureña	1,74 ± 0,02 ^{bc}	1,86 ± 0,06 ^a	7,0 ± 4,2 ^a
Ojos Catires	1,77 ± 0,01 ^b	1,62 ± 0,05 ^{bcd}	-8,5 ± 3,8 ^b
Tiniruca	1,74 ± 0,03 ^{bc}	1,66 ± 0,03 ^{bc}	-4,2 ± 1,7 ^b

Los valores son el promedio ± desviación estándar (n = 3). Valores con letras distintas en una misma columna difieren significativamente (p < 0,05; ANOVA, prueba de Fisher). La referencia es el almidón de maíz. El promedio del peso promedio al día 0 fue 1,76 ± 0,01 (n = 7).

El almidón de referencia (almidón de maíz), por su parte, produjo un aumento del $11,7 \pm 1,8\%$ en el peso de los insectos (**Figura 10** y **Tabla 7**), valor que no es significativamente diferente a la condición alimentada (Carmona y col., 1998) y que coincide con la información establecida por otros investigadores que reportan un aumento entre el 5% y 10% para la referencia (García, 2003; Galeno, 2006; Martín, 2010; González-Quilen, 2013; Lovera, 2017).

Los almidones de las variedades de papa nativa mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre sí y con respecto a la referencia (almidón de maíz) (**Figura 11** y **Tabla 7**). Las variedades angostureña y andinita promovieron un aumento de peso similar al promovido por la referencia ($p > 0,05$), las variedades ojos catires y tiniruca generaron la pérdida de peso en los insectos, al igual que la variedad amarilis; aunque los individuos alimentados con este almidón presentaron la mayor pérdida de peso ($-19,6 \pm 11,8\%$) al día 8 del bioensayo.

Gómez y colaboradores (2008) reportaron una disminución del 12% en el peso de los insectos alimentados con almidón de papa. Por su parte, Galeno (2006) obtuvo sensibles variaciones en el peso de los insectos alimentados con la dieta de almidón de papa y de plátano, que alcanzaron entre 15 – 20% de disminución. Una pérdida importante de peso con la dieta de almidón de papa podría estar relacionada con la disminución de la supervivencia de los insectos (Lovera, 2015).

El biomarcador variación del peso al día 8, al igual que la supervivencia al día 8, correlacionó en forma moderada y positiva con dos variables *in vitro*: la cantidad de almidón potencialmente disponible ($r = 0,708$; $p < 0,05$; $n = 18$) y la velocidad inicial de

hidrólisis del almidón crudo ($r = 0,774$; $p < 0,05$; $n = 18$). Además, la variación de peso al día 8 solo mostró una correlación negativa y fuerte con el contenido de almidón resistente total cuando no se consideraron en el análisis los puntos excéntricos (**Figura A1**, panel B; ver Anexos) generados por la variedad amarilis ($r = -0,900$; $p < 0,05$; $n = 15$ en contraposición con $r = -0,195$; $p > 0,05$; $n = 18$). De esta manera, un alto tenor de almidón disponible, una alta velocidad inicial de hidrólisis del almidón crudo y un bajo contenido de almidón resistente fueron indicadores de una mayor digestibilidad del almidón; promoviendo la ganancia de peso en el insecto, como fue el caso de las variedades angostureña y andinita (**Tabla 7**). Por el contrario, un bajo tenor de almidón disponible, una baja velocidad inicial de hidrólisis del almidón crudo y un alto contenido de almidón resistente fueron indicadores de una menor digestibilidad del almidón; promoviendo la pérdida de peso en el gorgojo, como se observó para la variedad ojos catires (**Tabla 7**). Al parecer, los puntos excéntricos de la variedad amarilis se deben a que este almidón presentó un menor tenor de almidón resistente (**Tabla 6**) que al esperado según la respuesta biológica del insecto, en cuanto a la supervivencia y a la variación de peso al día 8 del bioensayo.

Recientemente, Lovera y colaboradores (2017) reportaron por primera vez que el biomarcador variación de peso al día 8 es lo suficientemente sensible como para estimar la digestibilidad de dietas con *muy alto* contenido de almidón resistente, como el almidón de papa y de mapuey evaluados por esos investigadores. En este trabajo la variable variación de peso al día 8 se perfiló como un biomarcador de la digestibilidad de los almidones de papa nativa al mostrar diferencias significativas entre las dietas, correlación con algunas variables *in vitro* y con el biomarcador supervivencia al día 8 ($r = 0,755$; $p < 0,05$; $n = 18$).

De esta manera, la digestibilidad de las variedades angostureña y andinita fue igual a la del almidón de maíz, un almidón de alta digestibilidad, usado como referencia que promueve un aumento de peso; mientras que, las variedades tiniruca, ojos catires y amarilis mostraron una menor digestibilidad que la referencia, al promover una pérdida de peso. Es posible que el biomarcador variación del peso al día 8 sea sensible a la digestibilidad de los almidones en situaciones relativamente extremas de biodisponibilidad, como pareciera ser el caso de los almidones de papa nativa.

3.3. Actividad similar a α -amilasa

En la **Tabla 8** se muestran los resultados de la estimación del biomarcador actividad similar a α -amilasa en los insectos alimentados con los almidones de papa nativa. Todos los almidones de papa ensayados presentaron actividades α -amilolíticas (entre 570 y 1.120 $\mu\text{mol/s}\cdot\text{L}$) estadísticamente superiores a la de la referencia. Entre las variedades de papa nativa, angostureña presentó la mayor actividad, mientras que tiniruca y andinita presentaron las actividades más bajas y no fueron estadísticamente diferentes entre sí.

Tabla 8. Actividad similar a α -amilasa del gorgojo de arroz alimentado con almidones de papa nativa

Dieta	Actividad similar a α-amilasa ($\mu\text{mol/s}\cdot\text{L}$)	Cociente*	Cociente alternativo[†]
Referencia	275 ± 25^e	1	—
Papa comercial	677 ± 3^c	2,46	1
Amarilis	833 ± 34^b	3,02	1,23
Andinita	571 ± 52^d	2,07	0,84
Angostureña	1.119 ± 50^a	4,06	1,65
Ojos Catires	808 ± 54^b	2,93	1,19
Tiniruca	619 ± 97^{cd}	2,25	0,91

La actividad similar a α -amilasa está expresada en μmol de equivalentes de maltosa liberados por segundo en un litro del extracto acuoso del insecto. Los valores son el promedio $\pm$ la desviación estándar ($n = 3$). Valores con letras diferentes difieren significativamente ($p < 0,05$; ANOVA, prueba de Fisher). La referencia es el almidón de maíz. Las actividades enzimáticas en la condición de ayuno y en la condición alimentada fueron de 298 ± 58 ($n = 3$) y $1.337 \pm 138 \mu\text{mol/s}\cdot\text{L}$, respectivamente.

*El cociente constituye la actividad enzimática correspondiente a la dieta entre la actividad enzimática correspondiente a la referencia.

[†]El cociente alternativo constituye la actividad enzimática correspondiente a la dieta entre la actividad enzimática correspondiente al almidón de papa comercial.

Resultados similares han sido reportados por García (2003), Galeno (2006), Martín (2010) y González-Quilen (2013), quienes evidenciaron que dietas amiláceas poco digeribles como los almidones de papa y de banano, tienden a promover en el gorgojo de arroz actividades α -amilolíticas superiores a la registrada con la referencia (almidón de maíz). Lovera y colaboradores (2017) reportaron que con el almidón de papa se obtuvo la mayor actividad similar a α -amilasa en comparación con los almidones de otras cuatro fuentes botánicas (mapuey, ocumo chino, apio y yuca); obteniendo un valor de $728 \pm 71 \mu\text{mol/s}\cdot\text{L}$.

A diferencia de los biomarcadores supervivencia y variación de peso al día 8, la actividad similar a α -amilasa obtuvo una correlación moderada y negativa con una sola variable *in vitro*: la magnitud final de hidrólisis de los almidones crudos ($r = -0,575$; $p < 0,05$; $n = 18$). Lovera (2015) también reportó una correlación moderada y negativa entre estas dos variables. Galeno (2006) reportó, realizando un análisis de correlación múltiple, un coeficiente fuerte y negativo ($r = -0,88$); posiblemente porque esta autora corrigió el valor del biomarcador por la ingesta del insecto. Un mayor tenor en la magnitud final implica que más almidón estaría disponible para el insecto, promoviendo una menor actividad similar a α -amilasa. Este fue el caso de los almidones de las variedades andinita y tiniruca, que mostraron la menor actividad enzimática (**Tabla 8**) y los mayores valores en la magnitud final (**Tabla 5**). Las variedades angostureña y ojos catires, por otra parte, promovieron la mayor actividad similar a α -amilasa (**Tabla 8**), probablemente por presentar las magnitudes finales de hidrólisis más bajas (**Tabla 5**).

La variable almidón resistente total no correlacionó con este biomarcador ($r = -0,295$; $p > 0,05$; $n = 18$), ni siquiera al eliminar los puntos (**Figura A1**, panel C; ver Anexos) obtenidos para la variedad amarilis ($r = -0,259$; $p > 0,05$; $n = 15$); resultado contrario a lo obtenido por otros autores quienes reportan una correlación positiva y débil (Martín, 2010; González-Quilen, 2013) o, incluso, fuerte (García, 2003; Galeno, 2006; Lovera y col., 2017) entre la actividad similar a α -amilasa y el tenor de almidón resistente total.

El biomarcador actividad similar a α -amilasa también ha mostrado correlación con otros parámetros de la digestibilidad *in vitro* de los almidones, como el almidón resistente por retrogradación (García, 2003), el almidón disponible (García, 2003; Lovera y col.,

2017) y la cantidad de proteína cruda de los almidones (Martín, 2010), por lo que ha sido empleado como biomarcador de la digestibilidad de estos materiales. En el presente estudio, este biomarcador sugiere que todos los almidones de papa nativa evaluados presentaron una menor digestibilidad que la referencia (almidón de maíz), debido a que la actividad enzimática fue de 2,0 a 4,1 veces la de la referencia (**Tabla 8**).

La dieta del gorgojo de arroz radica principalmente en cereales, alimentos con un alto contenido de almidón como nutriente (Baker y Woo, 1992), por ello las α -amilasas desempeñan un papel fundamental en la vida de estos insectos (Hemlata y col., 2012). *S. oryzae* tiene dos isoenzimas con actividad α -amilolítica (Baker, 1987) y es posible que ambas actividades estén implicadas en la digestión del almidón. Cuando el gorgojo de arroz consume una dieta de baja digestibilidad, se produce una respuesta adaptativa que conlleva a un aumento en la concentración de las isoenzimas (Laurentin y col., 2014); incrementando de esta manera la actividad α -amilolítica cuantificable en el extracto acuoso. Es posible que en este insecto esté operando un mecanismo parecido al descrito para *Drosophila melanogaster* (Díptera: Drosophilidae), donde una dieta rica en glucosa reduce la actividad de las α -amilasas al reprimir la transcripción de los genes codificantes de estas enzimas (Magoulas y col., 1993).

3.4.Excreción de ácido úrico

En la **Tabla 9** se muestra la excreción de ácido úrico del gorgojo de arroz alimentado con los almidones de papa nativa. Todas las variedades mostraron diferencias estadísticamente significativas entre sí ($p < 0,05$) y fueron mayores que la referencia

(almidón de maíz); en donde el almidón de la variedad amarilis promovió la mayor excreción de ácido úrico y la variedad andinita la menor excreción.

Tabla 9. Excreción de ácido úrico del gorgojo de arroz alimentado con los almidones de papa nativa

Dieta	Excreción de ácido úrico (mg/kg)	Cociente*	Cociente alternativo[†]
Referencia	471 ± 34 ^g	1	—
Papa comercial	4.738 ± 200 ^b	10,05	1
Amarilis	5.397 ± 591 ^a	11,45	1,13
Andinita	1.472 ± 31 ^f	3,12	0,31
Angostureña	2.128 ± 27 ^e	4,51	0,44
Ojos Catires	4.004 ± 235 ^c	8,50	0,85
Tiniruca	3.059 ± 160 ^d	6,49	0,64

La excreción de ácido úrico está expresada en miligramos de ácido úrico excretado durante los 8 días del bioensayo, por el peso en kilogramos de los insectos sobrevivientes al día 8. Los valores son el promedio ± la desviación estándar (n = 3). Valores con letras distintas difieren significativamente (p < 0,05; ANOVA, prueba de Fisher). La referencia es el almidón de maíz. Los niveles de excreción de ácido úrico en la condición de ayuno y en la condición alimentada fueron de 19.572 ± 2.147 y 5.748 ± 2.147 mg/kg, respectivamente.

*El cociente constituye la excreción correspondiente a la dieta entre la excreción correspondiente a la referencia.

†El cociente alternativo constituye la excreción correspondiente a la dieta entre la excreción correspondiente al almidón de papa comercial.

García (2003), Galeno (2006) y Lovera y col. (2017) reportaron que el almidón de papa presentó la mayor excreción de este metabolito (7 – 10 veces la excreción de la referencia); similar a lo obtenido en el presente estudio, donde la excreción fue de 3,1 a 11,5 veces la de la referencia.

Igual que lo obtenido para los biomarcadores supervivencia y variación de peso al día 8, la excreción de ácido úrico correlacionó con dos variables *in vitro*: el contenido de

almidón potencialmente disponible, de forma moderada y negativa ($r = -0,678$; $p < 0,05$; $n = 18$), y la velocidad inicial de hidrólisis de los almidones crudos, de forma fuerte y negativa ($r = -0,869$; $p < 0,05$; $n = 18$). Además, la excreción de ácido úrico mostró una correlación fuerte y positiva con la cantidad de almidón resistente total cuando no se consideraron en el análisis los puntos excéntricos (**Figura A1**, panel D; ver Anexos) generados por la variedad amarilis ($r = 0,969$; $p < 0,05$; $n = 15$ en contraposición con $r = 0,316$; $p > 0,05$; $n = 18$).

Así, un alto tenor de almidón potencialmente disponible, una alta velocidad inicial de hidrólisis del almidón crudo y un bajo contenido de almidón resistente total, fueron indicadores de una mayor digestibilidad; promoviendo una baja excreción de ácido úrico por parte del insecto, como se observó en las variedades andinita y angostureña (**Tabla 9**). Caso contrario, un bajo tenor de almidón potencialmente disponible, una baja velocidad inicial de hidrólisis de almidón crudo y un alto contenido de almidón resistente total fueron indicadores de una menor digestibilidad del almidón; elevando la excreción de ácido úrico, como se evidenció en las variedades tiniruca y ojos catires (**Tabla 9**). La variedad amarilis, a pesar de mostrar la mayor excreción de ácido úrico, presentó el menor tenor de almidón resistente total (**Tabla 6**). Los puntos excéntricos observados para la variedad amarilis se deben a que el almidón resistente fue menor al esperado según la respuesta biológica del gorgojo, con relación a la excreción de ácido úrico; así como se evidenció para la supervivencia y la variación de peso al día 8.

García (2003), Galeno (2006), González-Quilen (2013) y Lovera y col. (2017) reportaron a la excreción de ácido úrico como un biomarcador útil para estimar la digestibilidad de los almidones. En el presente estudio, este biomarcador sugiere que todos

los almidones de papa nativa evaluados presentaron una menor digestibilidad que la referencia, debido a que promovieron una mayor excreción del metabolito que el almidón de maíz (**Tabla 9**). La excreción de ácido úrico está estrechamente relacionada con el catabolismo de las proteínas (Baker, 1976). Una dieta amilácea difícil de digerir (de baja digestibilidad) aportará menos energía al insecto, lo que genera la degradación de las proteínas corporales para suplir ese déficit energético (Laurentin y col., 2014); aumentado así la excreción del ácido úrico (Munro, 1951).

La excreción de ácido úrico posee un comportamiento bifásico con respecto al tenor de la proteína de la dieta (Martín, 2010). Si la cantidad de proteína es menor a la requerida por el insecto, se degradarán las proteínas corporales; aumentando el nivel del biomarcador. Si la dieta tiene un tenor de proteína mayor al requerimiento, se encontrarán altos niveles de excreción, producto de la eliminación del exceso de nitrógeno, y el efecto de la digestibilidad sobre este biomarcador podría quedar enmascarado (Martín, 2010). No fue este el caso para las papas nativas evaluadas, debido a que presentaron un contenido de proteína cruda entre 0,11% y 0,22% (**Tabla 3**); valores por debajo del requerimiento proteico del gorgojo de arroz (0,5 – 0,7%) sugerido por López (1999).

Finalmente, el biomarcador excreción de ácido úrico correlacionó con otros dos biomarcadores: la supervivencia al día 8 y la variación de peso al día 8. Ambas correlaciones fueron fuertes y negativas ($r = -0,870$ y $r = -0,900$, respectivamente; $p < 0,05$; $n = 18$), lo que sugiere que los tres biomarcadores ofrecen esencialmente la misma información y pueden ser utilizados como indicadores del aprovechamiento biológico de las dietas amiláceas cuando se evalúan almidones poco biodisponibles como los presentes en la papa nativa venezolana. La excepción sea quizás para el biomarcador

supervivencia al día 8, cuando se evalúe la digestibilidad en aquellos almidones cuya supervivencia sea igual a la de la condición de ayuno.

3.5. Almidón de papa comercial como referencia alternativa

Los cuatro biomarcadores estudiados fueron lo suficientemente sensibles como para discriminar las cinco dietas elaboradas a partir de los almidones de papa nativa en función de su digestibilidad. No obstante, la relativa baja digestibilidad de estos materiales comparada con la del almidón de maíz (almidón de alta digestibilidad) usado como la referencia en el bioensayo del gorgojo de arroz, clasificó a todos los almidones como de menor digestibilidad que la referencia; con la excepción de las variedades angostureña y andinita que mostraron igual digestibilidad que la referencia, tanto por la supervivencia al día 8 (**Figura 9**) como por la variación de peso al día 8 (**Figura 11** y **Tabla 7**).

Dado que la papa comercial se incluyó en todos los análisis con fines comparativos, se propone usarla como una referencia alternativa; pudiéndose estimar un nuevo cociente, el cociente alternativo, tanto para la actividad similar a α -amilasa (cociente alternativo: 0,84 – 1,65; **Tabla 8**) como para la excreción de ácido úrico (0,31 – 1,13; **Tabla 9**).

De esta manera, el biomarcador supervivencia al día 8 clasificó a las papas nativas en dos grupos: las variedades angostureña, andinita y tiniruca que presentaron mayor digestibilidad y las variedades amarilis y ojos catires que presentaron menor digestibilidad que la referencia alternativa. Por otro lado, el biomarcador variación de peso al día 8 estableció tres grupos: angostureña y andinita con mayor digestibilidad, ojos catires y tiniruca de igual digestibilidad y amarilis con menor digestibilidad que la referencia alternativa. De igual forma, con el biomarcador actividad similar a α -amilasa se obtuvieron

tres grupos: andinita de mayor digestibilidad, tiniruca de igual digestibilidad y ojos catires, amarilis y angostureña de menor digestibilidad que la referencia alternativa. Finalmente, el biomarcador excreción de ácido úrico estableció dos grupos: andinita, angostureña, tiniruca y ojos catires de mayor digestibilidad y la variedad amarilis de menor digestibilidad en comparación con la referencia alternativa.

4. Digestibilidad relativa de los almidones de papa nativa

El *Z-score* (o puntuación *Z*) se utilizó para estimar la digestibilidad relativa de los almidones de papa nativa. Esto es posible debido a que el *Z-score* estandariza cada variable independientemente de las otras y sin necesidad de comparar contra referencia alguna. Para ello, los valores estandarizados de cada variable se distribuyeron en quintiles; clasificados arbitrariamente como: muy alta digestibilidad, alta digestibilidad, digestibilidad intermedia, baja digestibilidad y muy baja digestibilidad (González-Quilen, 2013). De esta forma resultó relativamente sencillo identificar las coincidencias (**Tabla 10**) entre los biomarcadores (variación de peso al día 8, actividad similar a α -amilasa y excreción de ácido úrico) y los parámetros de digestibilidad *in vitro* (almidón potencialmente disponible, velocidad inicial de hidrólisis de los almidones crudos y almidón resistente total).

Según las coincidencias del *Z-score* entre las distintas variables, las variedades andinita y angostureña presentaron una muy alta digestibilidad entre los almidones de papa, tiniruca presentó una digestibilidad intermedia; mientras que, ojos catires tuvo una baja digestibilidad y amarilis mostró muy baja digestibilidad (**Tabla 10**). Vale la pena hacer notar que la estandarización destacó los puntos excéntricos de amarilis con respecto al almidón resistente total; clasificando erróneamente a esta variedad como de muy alta digestibilidad. De igual forma, angostureña fue erróneamente clasificada como de muy baja

digestibilidad por la actividad similar a α -amilasa. La digestibilidad relativa del almidón de papa comercial no fue del todo clara, pero con tendencia hacia una muy baja digestibilidad.

Tabla 10. Digestibilidad relativa de los almidones de papa

Almidón	Variación de peso al día 8	Actividad similar a α -amilasa	Excreción de ácido úrico	Almidón disponible	Almidón resistente total	Velocidad inicial de hidrólisis
Papa comercial	Baja	Alta	Muy baja	Alta	Muy baja	Muy baja
Amarilis	Muy baja	Baja	Muy baja	Baja	Muy alta	Muy baja
Andinita	Muy alta	Muy alta	Muy alta	Muy alta	Alta	Alta
Angostureña	Muy alta	Muy baja	Muy alta	Muy alta	Alta	Muy alta
Ojos catires	Baja	Intermedia	Baja	Baja	Muy baja	Intermedia
Tiniruca	Intermedia	Alta	Intermedia	Baja	Intermedia	Alta

La valoración (*Z-score*) se realizó mediante la siguiente fórmula: $Z = x - \mu/\sigma$. Los quintiles se definieron así: muy alta digestibilidad ($Z < 20\%$), alta digestibilidad ($20\% \leq Z < 40\%$), digestibilidad intermedia ($40\% \leq Z < 60\%$), baja digestibilidad ($60\% \leq Z < 80\%$) y muy baja digestibilidad ($Z \geq 80\%$). La velocidad inicial de hidrólisis corresponde a la de los almidones crudos. El almidón de papa comercial se incluyó con fines comparativos.

En el presente estudio se ofrece un primer aporte sobre la caracterización nutricional de las papas nativas venezolanas a través de la evaluación de los parámetros de digestibilidad *in vitro* y se confirma la utilidad del bioensayo del gorgojo de arroz como primera aproximación en la caracterización de la biodisponibilidad de los almidones aislados de papa nativa. La relativa brevedad de los ensayos *in vivo* realizados y su bajo costo económico, facilita el análisis de un gran número de muestras en cortos períodos de tiempo y la identificación de aquellos almidones con características nutricionales de interés, que posteriormente puedan ser evaluadas mediante estudios en animales superiores; incluyendo el hombre.

VI. CONCLUSIONES

1. Los almidones de papa nativa de las variedades amarilis, andinita, angostureña, ojos catires y tiniruca presentaron contenidos de almidón potencialmente disponible por encima del 90%.
2. Las tasas de α -amilólisis *in vitro* de los almidones crudos de papa nativa fueron muy bajas; encontrándose magnitudes finales de hidrólisis menores a 7% en todas ellas.
3. En los almidones de papa nativa las tasas de α -amilólisis *in vitro* en estado gelatinizado, estuvieron por encima o fueron casi iguales a la presentada por el almidón de alta digestibilidad (almidón de maíz). Este hecho sugirió la eliminación de gran parte del almidón resistente presente en los almidones crudos.
4. Los almidones de papa nativa de las variedades amarilis, andinita y angostureña presentaron contenidos de almidón resistente *alto* en un rango de 11% – 14%, mientras que las variedades ojos catires y tiniruca poseen un porcentaje de almidón resistente *muy alto* entre el 19% – 23%.
5. La variación de peso del gorgojo de arroz, la actividad similar a α -amilasa y la excreción de ácido úrico resultaron ser buenos estimadores de la biodisponibilidad de los almidones de papa nativa; en el caso de la supervivencia mostró sensibilidad como biomarcador pero para establecer su uso como estimador de digestibilidad es necesario evaluar el biomarcador de toxicidad tiempo de supervivencia media. Se observaron respuestas que estuvieron correlacionadas con los parámetros *in vitro*, específicamente con el tenor de almidón potencialmente disponible y la velocidad inicial de hidrólisis de los almidones crudos en el caso de la supervivencia al día 8,

la variación de peso al día 8 y la excreción de ácido úrico; y con la magnitud final de hidrólisis de los almidones crudos en el caso de la actividad similar a α -amilasa.

6. El almidón de papa nativa de la variedad andinita resultó ser el de mayor digestibilidad según los parámetros de digestibilidad *in vitro* e *in vivo*. Según la digestibilidad relativa las variedades andinita y angostureña presentaron una muy alta digestibilidad, tiniruca fue de digestibilidad intermedia, ojos catires de baja digestibilidad y amarilis de muy baja digestibilidad.
7. El bioensayo del gorgojo de arroz fue útil como primera aproximación en la caracterización de la biodisponibilidad de los almidones aislados de papa nativa.
8. Se ofreció un primer aporte respecto a la caracterización nutricional y evaluación de la digestibilidad de cinco variedades de papa nativa cultivadas en Los Andes de Venezuela.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AACC International. 2003. Approved methods of analysis. AACC International. Décimoprimera Edición, MN <http://methods.aacnet.org/>.
- Asp, N. G. 1992. Resistant starch. *European Journal of Clinical Nutrition*. **46**(2): 1-148.
- Arora, T., Sharma, R., Frost, G. 2011. Propionate. Anti-obesity and satiety enhancing factor? *Appetite*. **56**: 511-515.
- Badui, S. 1999. Química de los alimentos. Prentice Hall, Logman de México Edición S.A. D.C. C.V. Cuarta Edición, Naucapal de Juárez, México.
- Baker, J.E. 1976. Nitrogenous excretory products of adults of *Sitophilus oryzae* and *Sitophilus granarius*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. **53**: 107-109.
- Baker, J.E. 1987. Purification of isoamylases from the rice weevil, *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera : Curculionidae), by high-performance liquid chromatography and their interaction with partially-purified amylase inhibitors from wheat. *Insect Biochemistry*. **17**:37-44.
- Baker, J.E., Woo, S.M. 1992. Digestion of starch granules by alpha-amylases from the rice weevil, *Sitophilus oryzae*: effect of starch type, fat extraction, granule size, mechanical damage, and detergent treatment. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. **22**(6): 529-537.
- Batres, L.R., White, P.J. 1986. Interaction of amylopectin with monoglycerides in model systems in relation to breadmaking conditions. *Journal of the American Oil Chemists Society*. **63**: 1537-1540.
- Bello-Pérez, L.A., Agama-Acevedo, E., Sáyago-Ayerdi, S.G., Moreno-Damian, E. 2000. Some structural, physicochemical and functional studies of banana starches isolated from two varieties growing in Guerrero, México. *Starch/Stärke*. **52**(2-3): 68-73.
- Bird, A., Brown, I., Topping, D. 2000. Starches, resistant starches, the gut microflora and human health. *Current Issues in Intestinal Microbiology*. **1**: 25-37.
- Björck, I., Gunnarsson, A., Østergård, K. 1989. A study of native and Chemically modified potato starch. Part II: Digestibility in the rat intestinal tract. *Starch/Stärke*. **41**: 128-134.
- Björck, I., Siljeström, M. 1992. *In-vivo* and *in-vitro* digestibility of starch in autoclaved pea and potato products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **58**: 541-553.
- Björck, I., Granfeldt, Y., Liljerberg, H., Tovar, J., Asp, N.-G. 1994. Food properties affecting the digestion and absorption of carbohydrates. *American Journal of Clinical Nutrition*. **59**(3): 699-705.
- Borror, D. J., DeLong, D. M., Triplehorn, C. A. 1976. An introduction to the study of insects. Holt, Rinehart and Winston, Cuarta Edición, Nueva York, E.U.A.

- Boscán, K. 2009. Un aporte para la caracterización de las papas nativas merideñas. Tesis de grado (Maestría). Universidad de los Andes. Mérida, Venezuela.
- Bowman, B. A., Russell, R. M. 2003. Conocimientos actuales sobre nutrición. Organización Panamericana de la Salud, Octava Edición, Madrid, España.
- Brouns, F., Kettlitz, B., Arrigoni, E. 2002. Resistant starch and "the butyrate revolution". Trends in Food Science & Technology. **13**: 251-261.
- Buléon, A., Colonna, P., Planchot, V., Ball, S. 1998. Starch granules: structure and biosynthesis. International Journal of Biological Macromolecules. **23**: 85-112.
- Carmona, A., Gómez-Sotillo, A. 1997. Uso de insectos en estudios nutricionales. Cambios en la composición corporal inducidos por la dieta. Anales Venezolanos de Nutrición. **10**: 20-26.
- Carmona, A., Liuzzi, J.P. 1998. Biodisponibilidad de nutrientes: fácil de definir, difícil de evaluar. Anales Venezolanos de Nutrición. **11**: 66-78.
- Carmona, A., López, Y., Gómez-Sotillo, A., Casotto, M. 1998. Toxicología nutricional: un enfoque "artropocéntrico". Memorias del Instituto de Biología Experimental. **1**: 37-40.
- Carmona, A., Casotto, M. 2001. Índice de eficiencia alimentaria (FER) en gorgojos de arroz (*Sitophilus oryzae*): herramienta para evaluar la utilización metabólica del alimento. Memorias del Instituto de Biología Experimental. **3**: 49-52.
- Carmona, A., López, Y., Gómez-Sotillo, A., Casotto, M. 2001. Uso de biomarcadores para evaluar la calidad proteica de la dieta en bioensayos con gorgojos. Memorias del Instituto de Biología Experimental. **3**: 53-56.
- Chapman, R. F. 1998. The insects: structure and function. Cambridge University Press, Cuarta Edición, Cambridge, Reino Unido.
- Chen, W.J., Anderson, J.W., Jennings, D. 1984. Propionate may mediate the hypocholesterolemic effects of certain soluble plant fibers in cholesterol-fed rats. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. **175**(2): 215-218.
- Cheng, H.-H., Lai, M. H. 2000. Fermentation of resistant rice starch produces propionate reducing serum and hepatic cholesterol in rats. The Journal of Nutrition. **130**(8): 1991-1995.
- Cherrington, C.A., Hinton, M., Pearson, G.R., Chopra, I. 1991. Short-chain organic acids at pH 5.0 kill *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. without causing membrane perturbation. Journal of Applied Bacteriology. **70**(2): 161-165.
- Colonna, P., Leloup, V., Buléon A. 1992. Limiting factors of starch hydrolysis. European Journal of Clinical Nutrition. **46**: 17-32.
- Devaux, A., Ordinola, M., Horton, D. 2011. Innovation for Development: The papa andina experience. Internacional Potato Center, Lima, Perú.

- Devaux, A., Ordinola, M., Andrade-Piedra, J., Velasco, C., Manrique, K., Thoman, A., Fonseca, C., López, G., Reinoso, I., Oros, R., Horton, D. 2012. Innovación para el desarrollo: Las estrategias y experiencias de papa andina. *Revista Latinoamericana de la Papa*. **17**: 12-45
- Eliasson, A. C., Ljunger, G. 1988. Interactions between amylopectin and lipid additives during retrogradation in a model system. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **44**(4): 353-361.
- Engel, F. 1970. Exploration of the Chilca Canyon, Peru. *Current Anthropology*. **11**: 55-58.
- Englyst, H.N., Wiggins, H.S., Cumming, J.H. 1982. Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. *Analyst*. **107**: 307-318.
- Englyst, H.N. y Cummings, J.H. 1986. Digestion of the carbohydrates of banana (*Musa paradisiaca sapientum*) in the human small intestine. *The American Journal of Clinical Nutrition*. **44**: 42-50.
- Englyst, H., Kingman, S., Cumming, J. 1992. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*. **46**(2): 33-50.
- Englyst, H. N., Hudson, G. J. 2000. Carbohydrates. Págs. 61-76 en: Garrow, J.S., James, W.P.T., Ralph, A. *Human Nutrition and Dietetics*. Churchill Livingstone, Décima Edición, Edimburgo, Escocia.
- Evans, I.D. 1986. An investigation of starch/surfactant interactions using viscosimetry and differential scanning calorimetry. *Starch/Stärke*. **38**: 227-235.
- Galeno, F. 2006. Digestibilidad *in vitro* y aprovechamiento por el gorgojo de arroz de almidones nativos y modificados de apio y plátano. Trabajo Especial de Grado (Licenciado en Biología). Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
- Gallant, D.J., Bouchet, B., Buleón, A., Pérez, S. 1992. Physical characteristics of starch granules and susceptibility to enzymatic degradation. *European Journal of Clinical Nutrition*. **46**: 3-16.
- Galliard, T., Bowler, P. 1987. Morphology and composition of starch. Pág. 281 en: T. Galliard (ed.), *Starch: Properties and Potential*. John Wiley & Sons, New York.
- Gamero, M., Laurentin, A., Bernal, C., Galindo, I. y Diez, N. 2010. Toxicidad *in vivo* y proteómica comparativa para el estudio de la expresión de proteínas con actividad insecticida presentes en semillas de *Phaseolus vulgaris* L. *RET Revista de Estudios Transdisciplinarios*. **2** (1): 101-109.
- Ganong, W.F. 2002. Fisiología Médica. El Manual Moderno, Décima Octava Edición, México.
- García, O. 2003. Estudio comparativo de la digestibilidad *in vitro* y la biodisponibilidad de almidones nativos y modificados, utilizando el bioensayo con el gorgojo del arroz

- Sitophilus oryzae*. Trabajo Especial de Grado (Licenciado en Biología). Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
- Gómez, A., Lugo, D., Coronil, G., Casotto, M., Carmona, A., Laurentin, A. 2008. Determinación del contenido de glucosa, trehalosa y glucógeno en gorgojos de arroz. Efectos de la dieta. *Memorias del Instituto de Biología Experimental*. **5**: 53-56.
- Goñi, I., García-Diz, L., Mañas, E., Saura-Calixto, F. 1996. Analysis of resistant starch: a method for foods and food products. *Food Chemistry*. **56**(4): 445-449.
- González, L. 2013. Catálogo de variedades de papa nativa y de uso local en el estado Mérida, Venezuela. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Maracay, Venezuela.
- González, L; Osorio, M; Ordoñez, E. 2013. Recetario Gastronómico con papas nativas y de uso local en el Estado Mérida, Venezuela. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Maracay, Venezuela.
- González-Quilen, C. 2013. Digestibilidad *in vitro* y aprovechamiento por el gorgojo de arroz (*Sitophilus oryzae* L.) de almidones de banano. Trabajo Especial de Grado (Licenciado en Biología). Universidad Central de Venezuela. Caracas.
- González-Quilen, C., Laurentin, A. 2012. Método de extracción del ácido úrico excretado por el gorgojo de arroz (*Sitophilus oryzae* L.) alimentado con diferentes dietas. *Acta Científica Venezolana*. **63**(1): 192.
- Grun, P. 1990. The evolution of cultivated potatoes. *Economic Botany*. **44**: 39-55.
- Hans, A. 1998. Influencia de fitotoxicidad del cloro en el rendimiento y composición química de la papa (*Solanum tuberosum* L. sp *Tuberosum* Hawkes), destinada a uso industrial. Tesis de Licenciatura, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- Hasjim, J; Ai, Y; Jane, J. 2013. Novel applications of amylose-lipid complex as resistant starch type 5. Págs. 79-94 en: Shi, Y; Manigant, C. (eds.), *Resistant starch: applications and health benefits*. Wiley-Blackwell. Chichester, West Sussex, UK.
- Hawkes, J. 1990. The potato: evolution, biodiversity and genetic resources. Belhaven Press. **65**: 16-40.
- Hawkes, J. 1994. Origins of cultivated potatoes and species relationships. *Potato genetics*. Centre for Agricultural Bioscience International. Wallingford, Inglaterra.
- Hemlata, M., Bhide, A., Gupta, V., Giri, A. 2012. Amylase gene expression patterns in *Helicoverpa armigera* upon feeding on a range of host plants. *Gene*. **501**: 1-7.
- Hernández, M., Torruco, J., Chel, L., Bentancur, D. 2008. Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. **28**(3): 718-726.
- Hernández, O. 2006. Películas y coberturas comestibles a base de diferentes almidones: digestibilidad *in vitro* de películas y caracterización física de coberturas sobre fresas (*Fragaria ananassa*). Trabajo Especial de Grado (Licenciado en Biología). Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

- Hernández, O., Emaldi, U. y Tovar, J. 2008. In vitro digestibility of edible films from various starch sources. *Carbohydrate Polymers*. **71**: 648–655.
- Holm, J., Björck, I., Ostrowska, S., Eliasson, A., Asp, N., Larsson, K., Lundquist, I. 1983. Digestibility of amylose-lipid complexes in-vitro and in-vivo. *Starch/Stärke*. **35**: 294-297.
- Holm, J., Björck, I., Sjöberg, L.-B., Lundquist, I. 1985. Starch availability in vitro and in vivo after flaking, steam-cooking and pooping of wheat. *Journal of Cereal Science*. **3**: 193-206.
- Holm, J., Björck, I., Drews, A., Asp, N.-G. 1986. A rapid method for analysis of starch. *Starch/Stärke*. **38**: 224-226.
- Hoover, R. 2001. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: A review. *Carbohydrate Polymers*. **45**: 253-267.
- Hosaka, K., Hanneman, R. 1988. Origin of chloroplast DNA diversity in Andean potatoes. *Theoretical and Applied Genetics*. **76**: 333-340.
- Hostettler, F., Borel, E., Deuel, H. 1951. Über die reduktion der 3,5 dinitrosalicylsäure durch Zucker. *Helvetica Chimica Acta*. **34**: 2132-2139.
- Jay, J. 1996. *Modern Food Microbiolgy*. Quinto Edición. Champan & Hall Pub. Nueva York, E.U.A.
- Jiménez, E., Romero, A., Yana, O. 2013. Cambio climático y adaptación en el Altiplano Boliviano: Papas nativas, acceso al mercado y resiliencia en el Altiplano boliviano. CIDES-UMSA, Bolivia.
- Kingman, S., Englyst, H. 1994. The influence of food preparation methods on the in-vitro digestibility of starch in potatoes. *Food Chemistry*. **49**: 181-186.
- Kleiber, M. 1975. Metabolic turnover rate: A physiological meaning of the metabolic rate per unit body weight. *Journal of Theoretical Biology*. **53**: 199–204.
- Kugimiya, M., Donovan, J. W. 1981. Calorimetric determination of the amylose content of starches based on formation and melting of the amylose-lysolecithin complex. *Journal of Food Science*. **46**: 765–770.
- Laurentin, A. 2004. Starch pyrodextrins: In vitro fermentation and physiological effects. Tesis doctoral, Universidad de Glasgow, Glasgow, Escocia.
- Laurentin, A., Lovera, M., Rojas, C., Gamero, M., Edwards, C. A., Tapia, M. S. y Carmona, A. 2008. Estudios nutricionales con el bioensayo del gorgojo de arroz, *Sitophilus oryzae*. *Memorias del Instituto de Biología Experimental*. **5**: 57-60.
- Laurentin, A., Edwards, C.A. 2013. Fiber: resistant starch and oligosaccharides. en: B. Caballero., L. Allen y A. Prentice (eds.), *Encyclopedia of Human Nutrition*. Academic Press, Tercera Edición, E.U.A..
- Laurentin, A., González-Quilen, C., Martín V., Marín, J. G., Guzmán, R., Pérez, E., Edwards, C. A. 2014a. ¿Qué puede decirnos el gorgojo de arroz sobre la digestibilidad

- de los alimentos farináceos? Memorias del Instituto de Biología Experimental. **7**: 93–96.
- Laurentin, A., Lovera, M., Lugo, D., Suárez-Villasmil, L., Casotto, M., Gómez, A. y Carmona, A. 2014b. Uso del análisis de componentes principales en estudios nutricionales usando el gorgojo de arroz como modelo. Memorias del Instituto de Biología Experimental, **7**: 101–104.
- Law, J.H. & Wells, M.A. 1989. Insects as biochemical models. Journal of Biological Chemistry. **264**:16335-16338.
- Leeman, M., Ostman, E., Björck, I. 2005. Vinegar dressing and cold storage of potatoes lowers postprandial glycaemic and insulinaemic responses in healthy subjects. European Journal of Clinical Nutrition. **59**: 1266-1271.
- León, I. 2015. Digestibilidad in vitro y aprovechamiento por el gorgojo de arroz (*Sitophilus oryzae* L.) de harinas de banano. Trabajo Especial de Grado (Licenciado en Biología). Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
- Lin, Y., Vonk, R.J., Slooff, M.J.H., Kuipers, F., Smit, M.J. 1995. Differences in propionate-induced inhibition of cholesterol and triacylglycerol synthesis between human and rat hepatocytes in primary culture. British Journal of Nutrition. **74**: 197-207.
- Liñan, C. 1998. Entomología Agroforestal. Insectos y ácaros que dañan montes, cultivos y jardines. Ediciones Agrotécnicas, S.L. Madrid.
- López, Y. 1999. Efecto de la concentración y calidad de la proteína dietaria sobre la composición corporal, la actividad de las enzimas digestivas y el potencial reproductivo de gorgojos de arroz *Sitophilus oryzae*. Trabajo Especial de Grado (Licenciado en Biología). Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
- Lovera, M. 2008. Efecto del etanol y de la dieta sobre la composición corporal del gorgojo de arroz, *Sitophilus oryzae* (L.). Trabajo Especial de Grado (Licenciado en Biología). Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
- Lovera, M. 2015. Evaluación físicoquímica y nutricional de almidones y películas comestibles a base de almidón. Tesis Doctoral, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- Lovera, M., Pérez, E., Laurentin, A. 2017. Digestibility of starches isolated from stem and root tubers of arracacha, cassava, cush–cush yam, potato and taro. Carbohydrate Polymers. **176**: 50-55.
- Loyola, N., Oyarce, E., Acuña, C. 2010. Evaluación del contenido de almidón de papas (*Solanum tuberosum*, sp. *Tuberosum* cv. Desirée), producidas en forma orgánica y convencional en la provincia de Curico, región del Maule. IDESIA. **28**: 41-52.
- Loyola, N., Thornton, R., Hiller, L., Powers, J. 2003. Influencia del almacenamiento en atmósfera controlada sobre el contenido de azúcares totales y reductores de papa cv. Ranger Russet. Agro Sur. **31**(2): 1-14.

- Macgown, M., Sikorowski, P. 1981. Digestive anatomy of the adult boll weevil, *Anthonomus grandis grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae). *Annals of the Entomological Society of America*. **74** (1): 117-126.
- Magoulas, C., Bally-Cuif, L., Loverre-Chyurlia, A., Benkel, B., Hickey, D.A. 1993. A short 5'-flanking region mediates glucose repression of amylase gene expression in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*. **134**:507-515.
- Martín, V. 2010. Digestibilidad *in vitro* y aprovechamiento por el gorgojo de arroz de almidones de plátano, variedades hartón común, cambur negro, topocho cenizo, HH-12 y cambur 012. Trabajo Especial de Grado (Licenciado en Biología). Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
- Meneses, J., Corrales, M., Valencia, M. 2007. Síntesis y caracterización de un polímero biodegradable a partir del almidón de yuca. *Revista EIA*. **8**: 23-27.
- Monteros, C., Jiménez, J., Cuesta, X. 2007. La magia de la papa nativa: Recetario gastronómico. INIAP, Papa Andina, Fontagro, Ecuador.
- Munro, H.N. 1951. Carbohydrate and fat as factors in protein utilization and metabolism. *Physiological Reviews*. **31**(4):449-488.
- Noda, T., Takigawa, S., Matsuura-Endo, C., Suzuki, T., Hashimoto, N., Kottarachchi, N., Yamauchi, H., Zaidul, I. 2008. Factors affecting the digestibility of raw and gelatinized potato starches. *Food Chemistry*. **110**: 465-470.
- Nugent, A.P. 2005. Health properties of resistant starch. *British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin*. **30**: 27-54.
- Oates, C.G. 1997. Towards an understanding of starch granule structure and hydrolysis. *Trends in Food Science & Technology*. **8**: 375-382.
- O'Keefe, S.J.D., Ou, J., Aufreiter, S., O'Connor, D., Sharma, S., Sepulveda, J., Fukuwatari, T., Shibata, K., Mawhinney, T. 2009. Products of the colonic microbiota mediate the effects of diet on colon cancer risk. *The Journal of Nutrition*. **139**(11): 2044- 2048.
- O'Keefe, S., Lil, J., Ou, J., Carbonero, F., Mohammed, K., Posma, J., Kinross, J., Wahl, E., Ruder, E., Vipplerla, K., Naidoo, V., Mtshali, L., Tims, S., Puylaert, P., DeLany, J., Krasinskas, A., Benefiel, A., Kaseb, H., Newton, K., Nicholson, J., de Vos, W., Gaskins, H., Zoetendal, E. 2015. Fat, fibre and cancer risk in African Americans and rural Africans. *Nature*. **6342** (2015).
- Okuma, K., Wakabayashi, S. 2001. 44 Fibersol-2: A soluble, non-digestible, starch derived dietary fibre. Pág. 509 en: McCleary, B. y Prosky, L. (eds), *Advanced Dietary Fibre Technology*, Blackwell Science, Oxford, U.K.
- OECD (Organisation for economic co-operation and development). 1997. Consensus document on the biology of *Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum* (Potato). Environment Directorate Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris.

- Parada, J., Rozowski, J. 2008. Relación entre la respuesta glicémica del almidón y su estado microestructural. *Revista Chilena de Nutrición*. **35**(2): 84-92.
- Pardo, C., Castañeda, J., Ortiz, C. 2013. Caracterización estructural y térmica de almidones provenientes de diferentes variedades de papa. *Agroindustria*. **62**: 289-295.
- Paredes, C., Bustos, A., Debiec, M., Calisaya, J., Alvarado, J., Peñarrieta, J. 2013. Determinación de diferentes tipos de almidón en *Solanum tuberosum*, papa proveniente del altiplano de La Paz. *Revista Boliviana de Química*. **30** (1): 1-4.
- Pérez, E., Bahnassey, Y.A., Breene, W.M. 1993. A simple laboratory scale method for isolation of amaranth starch. *Starch/Stärke*. **45**(6): 211-214.
- Phillips, J., Muir, J.G., Birkett, A., Lu, Z.X., Jones, G.P., O'Dea, K. 1995. Effect of resistant starch on fecal bulk and fermentation-dependent events in humans. *American Society for Clinical Nutrition*. **62**: 121-130.
- Raker, C., Spooner, D. 2002. Chilean tetraploid cultivated potato, *Solanum tuberosum*, is distinct from the andean populations: Microsatellite data. *Crop Science*. **42**: 1451-1458.
- Rial, L., Flórez, I., Ablan-Bortone, E. 2011. Avance sobre el estudio de la composición físico-química de las papas nativas (*Solanum tuberosum* L.) de tierras altas de Los Andes de Venezuela. *Revista de la Facultad de Farmacia*. **53**: 13-19.
- Romero, L., Monasterio, M. 2005. Papas negras, papas de páramo. Un pasivo socioambiental de la modernización agrícola en Los Andes de Venezuela. ¿Es posible recuperarlas? *Boletín Antropológico*. **23**: 107-138.
- Sajilata, M., Singhal, R., Kulkarni, P. 2006. Resistant Starch—a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. **5**: 1-17.
- Salazar, M., Zambrano, J., Valicillos, H. 2008. Evaluación del rendimiento y características de calidad de trece clones avanzados de papa (*Solanum tuberosum* L.). *Agricultura Andina*. **14**: 101-117.
- Sangeetha, M. 2006. Morphology and functional properties of corn, potato and tapioca starches. *Food Hydrocolloids*. **20**: 557–566.
- Snodgrass, R. E. 1993. Principles of insect morphology. Mc. Graw-Hill, Tercera Edición, Nueva York, E.U.A.
- Spooner, D., McLean, K., Ramsay, G., Waugh, R., Bryan, G. 2005. A single domestication for potato based on multilocus amplified fragment length polymorphism genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **102**: 14694-14699.
- Storey, R., Davies, H. 1992. Tuber Quality. Pág. 553 en: Harris, Paul. The potato crops, Segunda Edición, Editorial London: Chapman and Hall.
- Swinkels, J. 1985. Sources of starch its chemistry and physics. Págs. 15–46 en: Starch conversion Technology (Ed). GMA, Marcel Dekker, Inc, Nueva York, E.U.A.

- Szwarcbort, J. 1980. Efectos de algunos factores antinutricionales presentes en granos de leguminosas sobre el gorgojo de arroz (*Sitophilus oryzae* L.). Trabajo Especial de Grado (Licenciado en Biología). Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
- Tester, R.F., Karkalas, J., Qi, X. 2004. Starch—composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*. **39**: 151-165.
- Tester, R.F., Qi, X., Karkalas, J. 2006. Hydrolysis of native starches with amylases. *Animal Feed Science and Technology*. **130**: 39-54.
- Thorne, M.J., Thompson, L.U., Jenkins, D.J.A. 1983. Factors affecting starch digestibility and the glycemic response with special reference to legumes. *The American Journal of Clinical Nutrition*. **38**: 481-488.
- Tovar, J., Björck, I., Asp, N.-G. 1990. Analytical and nutritional implications of limited enzymatic availability of starch in cooked red kidney beans. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. **38**: 488-493.
- Tovar, J., Björck, I., Asp, N.-G. 1992. Digestibility of starch in legumes using the rat. *European Journal of Clinical Nutrition*. **46**(2): 141-142.
- Tovar, J. 2001. Origen botánico y procesamiento como determinantes de la digestibilidad del almidón. *Memorias del instituto de Biología Experimental*. **3**: 57-60.
- Tovar, J., Sáyo-Ayerdi, G., Peñalver, C., Paredes-López, O., Bello-Pérez, L.A. 2003. *In vitro* starch hydrolysis index and predicted glycemic index of corn tortilla, black beans (*Phaseolus vulgaris* L.), and mexican “taco”. *Cereal Chemistry*. **80**: 5
- Zhao, J., Wistler, R. L. 1994. Spherical aggregates of starch granules as flavor carriers. *Food Technology*. **48**: 104-105.
- Zobel, H. 1988. Starch crystal transformations and their industrial importance. *Starch*. **40**: 1-7.
- Willis, H.J., Eldridge, A.L., Beiseigel, J., Thomas, W., Slavin, J.L. 2009. Greater satiety response with resistant starch and corn bran in human subjects. *Nutritional Research*. **29**: 100-105.

VIII. ANEXOS

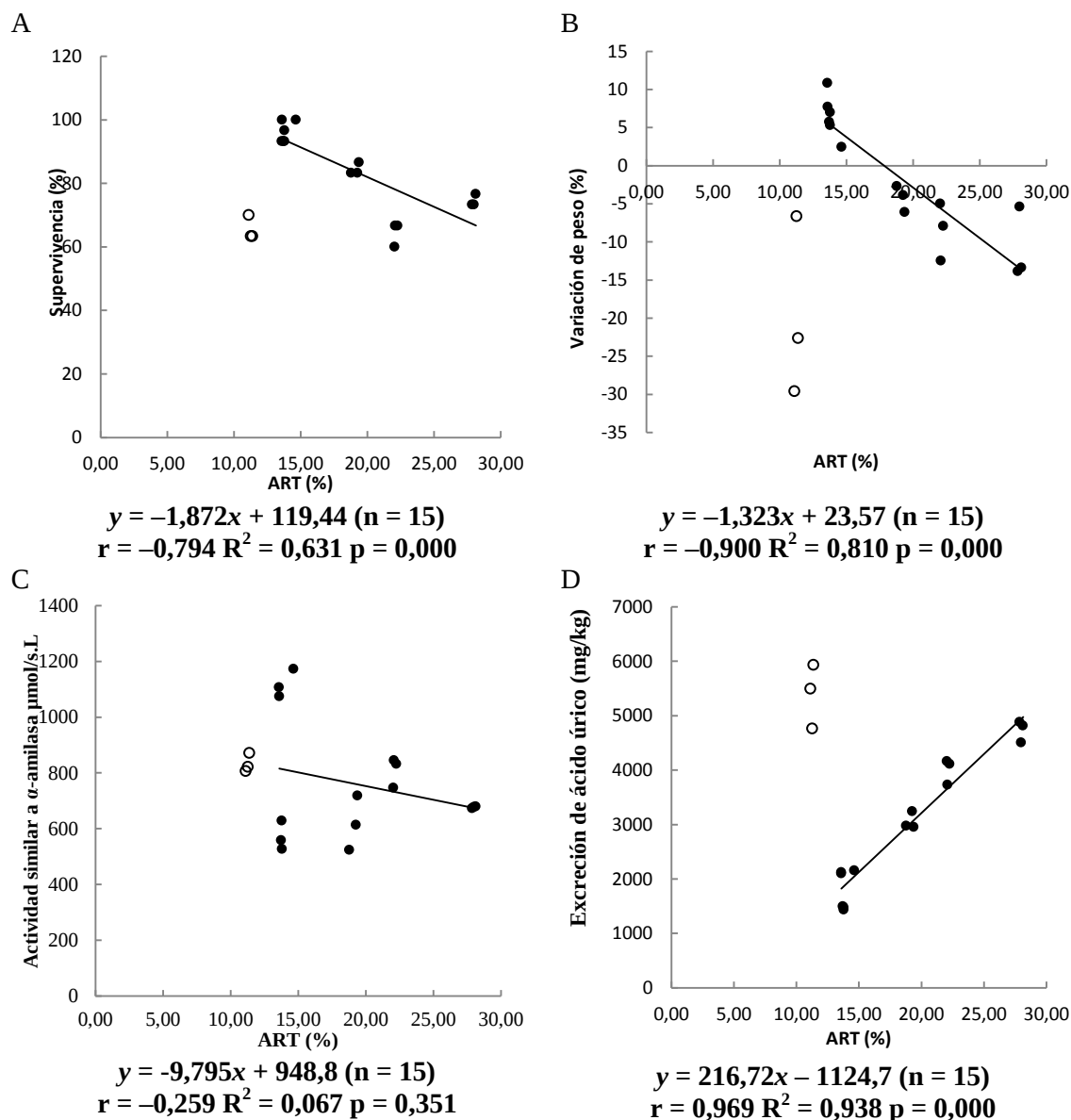


Figura A1. Gráficos de ajuste lineal entre los cuatro biomarcadores y el parámetro de digestibilidad in vitro almidón resistente total

Los biomarcadores son A: supervivencia, B: variación de peso, C: actividad similar a α -amilasa y D: excreción de ácido úrico. Los círculos cerrados representan los datos de las papas nativas (variedades andinita, angostureña, ojos catires y tiniruca) y de la papa comercial (incluida con fines comparativos) con los que se realizó el ajuste lineal entre las variables. Los círculos abiertos representan los datos de la variedad amarilis (excluidos del análisis).

ART: almidón resistente total.

Análisis de la variable AT-ART (almidón disponible calculado)

En la **Tabla A1** se muestra el contenido de almidón disponible calculado como la diferencia entre la cantidad de almidón total y la cantidad de almidón resistente total de los almidones de papa, además se incluyeron los valores de almidón disponible determinados de forma directa para fines comparativos. Los almidones de papa nativa presentaron un porcentaje entre el 66% – 83% de almidón potencialmente disponible calculado. La papa comercial presentó la menor cantidad de almidón disponible calculado a partir de la diferencia ya mencionada, y el almidón de la variedad andinita fue el de mayor valor.

Tabla 11. Contenido de almidón disponible y almidón disponible calculado en los almidones de papa nativa.

Variedad	Almidón disponible (%)	Almidón disponible calculado (%)
Papa comercial	94,9 ± 1,3 ^b	66,4 ± 0,9 ^d
Amarilis	89,9 ± 1,6 ^c	77,3 ± 0,6 ^b
Andinita	97,1 ± 0,4 ^a	82,7 ± 1,0 ^a
Angostureña	97,2 ± 0,3 ^a	81,5 ± 5,1 ^{ab}
Ojos catires	91,1 ± 0,3 ^c	69,5 ± 1,7 ^{cd}
Tiniruca	91,3 ± 0,7 ^c	72,2 ± 1,8 ^c

Los valores son el promedio ± la desviación estándar sobre la base seca (g/100 g; n = 3). El análisis de varianza de una vía mostró que las medias con letras distintas como superíndice, son significativamente diferentes ($p < 0,05$; ANOVA, prueba de Fisher). Como control de calidad para el ensayo de almidón disponible se utilizó el almidón de papa comercial Potatis mjöl (Lyckeby Stärkelsen, Suecia) ($94,8 \pm 1,22\%$; n=12). El almidón de papa comercial se incluyó con fines comparativos. La variable almidón disponible calculado fue determinado mediante la diferencia entre la cantidad de almidón total menos la cantidad de almidón resistente total.

Al comparar los resultados obtenidos entre el almidón disponible y el almidón disponible calculado se observan diferencias. La variedades de papa nativa amarilis, ojos catires y tiniruca fueron las que obtuvieron el menor valor de almidón potencialmente disponible según el método convencional y no mostraron diferencias significativas entre sí ($p > 0,05$). La papa comercial y la variedad ojos catires arrojaron la menor cantidad de almidón potencialmente disponible calculado según la diferencia entre almidón disponible y almidón resistente total y no fueron estadísticamente diferentes entre sí ($p > 0,05$). Las variedades andinita y angostureña presentaron el mayor valor de almidón potencialmente disponible por ambos métodos, siendo esto una semejanza observada.

La variable almidón total menos almidón resistente total (almidón disponible calculado) correlacionó con las variables *in vivo* solamente al eliminar los datos de la variedad amarilis. Correlacionó de forma moderada y positiva con la supervivencia al día 8 ($r = 0,822$; $p < 0,05$; $n = 15$), de forma fuerte y positiva con la variación de peso al día 8 ($r = 0,927$; $p < 0,05$; $n = 15$) y de forma negativa y fuerte con la excreción de ácido úrico ($r = -0,930$; $p < 0,05$; $n = 15$); estas correlaciones entre el almidón disponible calculado con

estos tres parámetros *in vivo* también se observaron con la cantidad de almidón disponible determinado según el método convencional.

Las correlaciones entre supervivencia y variación de peso con este parámetro *in vitro* pueden explicar la alta supervivencia al día 8 que presentaron los insectos alimentados con las variedades andinita y angostureña, las cuales presentaron la mayor cantidad de almidón potencialmente disponible calculado; esto también deriva en una baja excreción de ácido úrico debido a que dichos almidones contienen los nutrientes necesarios para evitar una degradación de las proteínas corporales de los gorgojos alimentados con estas dietas.

La digestibilidad relativa del parámetro almidón disponible calculado como la diferencia entre la cantidad de almidón total y la cantidad de almidón resistente total arrojó según los valores de *Z-score* que el almidón de papa nativa de la variedad angostureña tuvo una muy alta digestibilidad, las variedades andinita y tiniruca presentaron una alta digestibilidad, papa comercial arrojó una digestibilidad intermedia y los almidones de amarilis y ojos catires tuvieron una baja digestibilidad. Estos resultados presentan diferencias comparados con los obtenidos según el parámetro cantidad de almidón disponible calculado de forma directa en donde papa comercial presenta una alta digestibilidad y tiniruca una baja digestibilidad.

Tabla 12. Matriz 1 donde se incluyen todas las muestras de almidón de papa nativa y papa comercial

	Hum	Prot	AT	AD	ART	Vi,cr	Mf,cr	Vi,gel	Vf,gel	AT-ART	Sd8	VP8	ASA	EAU	PPd0	PPd8	difPP	ASAE	protE
Prot	0,637 0,004																		
AT	-0,482 0,043	-0,050 0,843																	
AD	-0,568 0,014	-0,220 0,381	0,797 0,000																
ART	-0,590 0,010	-0,613 0,007	0,088 0,730	-0,043 0,864															
Vi,cr	0,071 0,778	0,052 0,838	0,479 0,044	0,471 0,048	-0,156 0,324														
Mf,cr	0,567 0,014	0,351 0,153	-0,051 0,842	-0,106 0,676	0,324 0,190	0,417 0,085													
Vi,gel	0,952 0,000	0,572 0,052	-0,352 0,262	-0,368 0,239	-0,474 0,120	0,259 0,417	0,563 0,056												
Vf,gel	0,594 0,042	0,261 0,413	-0,504 0,094	-0,692 0,013	0,216 0,501	0,030 0,927	0,479 0,115	0,619 0,032											
AT-ART	0,289 0,245	0,530 0,024	0,431 0,074	0,446 0,064	-0,861 0,000	0,386 0,114	0,267 0,283	0,242 0,449	-0,461 0,131										
Sd8	-0,218 0,384	0,040 0,874	0,637 0,004	0,759 0,000	-0,326 0,187	0,769 0,000	0,355 0,148	-0,158 0,624	-0,500 0,098	0,620 0,006									
VP8	-0,128 0,613	0,015 0,953	0,654 0,003	0,708 0,001	-0,195 0,439	0,774 0,000	0,243 0,331	-0,010 0,974	-0,239 0,455	0,510 0,031	0,755 0,000								
ASA	-0,138 0,584	-0,174 0,489	-0,029 0,910	0,149 0,556	-0,295 0,235	0,152 0,548	-0,575 0,012	-0,174 0,589	-0,490 0,106	0,252 0,312	0,130 0,606	0,092 0,717							
EAU	-0,040 0,874	-0,142 0,574	-0,624 0,006	-0,678 0,002	0,316 0,201	-0,869 0,000	-0,455 0,058	-0,180 0,575	0,239 0,455	-0,605 0,008	-0,870 0,000	-0,900 0,000	0,011 0,966						
PPd0	0,579 0,012	0,439 0,069	-0,577 0,012	-0,524 0,026	-0,504 0,033	-0,509 0,031	-0,043 0,866	0,383 0,219	-0,003 0,994	0,163 0,519	-0,474 0,047	-0,552 0,018	0,102 0,687	0,436 0,070					
PPd8	-0,052 0,837	0,030 0,907	0,547 0,019	0,612 0,007	-0,266 0,285	0,736 0,000	0,192 0,444	0,013 0,969	-0,225 0,481	0,520 0,027	0,693 0,001	0,966 0,000	0,208 0,408	-0,845 0,000	-0,493 0,038				
difPP	-0,142 0,574	-0,005 0,986	0,654 0,003	0,708 0,001	-0,169 0,504	0,773 0,000	0,240 0,338	-0,019 0,954	-0,229 0,474	0,486 0,041	0,750 0,000	1,000 0,000	0,082 0,745	-0,896 0,000	-0,568 0,014	0,964 0,000			
ASAE	-0,470 0,049	-0,279 0,262	-0,044 0,862	0,240 0,337	-0,075 0,767	-0,220 0,380	-0,677 0,002	-0,632 0,028	-0,737 0,006	0,045 0,858	0,040 0,874	-0,059 0,817	0,718 0,001	0,213 0,397	0,073 0,775	0,019 0,942	-0,062 0,807		
protE	0,336 0,172	0,120 0,634	0,087 0,733	0,181 0,471	-0,438 0,069	0,816 0,000	0,356 0,146	0,509 0,091	0,203 0,526	0,441 0,067	0,568 0,014	0,552 0,018	0,407 0,094	-0,645 0,004	-0,252 0,313	0,599 0,009	0,544 0,020	-0,131 0,605	

Tabla 13. Matriz 2 donde no se incluye la muestra de almidón de papa nativa de la variedad amarilis.

	Hum	Prot	AT	AD	ART	Vi,cr	Mf,cr	Vi,gel	Vf,gel	AT-ART	Sd8	VP8	ASA	EAU	PPd0	PPd8	difPP	ASAE	protE
Prot	0,599 0,018																		
AT	-0,322 0,242	0,205 0,463																	
AD	-0,467 0,079	-0,029 0,919	0,716 0,003																
ART	-0,483 0,068	-0,552 0,033	-0,343 0,211	-0,473 0,075															
Vi,cr	0,563 0,029	0,451 0,091	0,087 0,757	0,149 0,596	-0,883 0,000														
Mf,cr	0,671 0,006	0,422 0,117	-0,142 0,615	-0,193 0,490	-0,446 0,096	0,492 0,062													
Vi,gel	0,988 0,000	0,620 0,056	-0,337 0,340	-0,380 0,279	-0,483 0,157	0,530 0,115	0,586 0,075												
Vf,gel	0,665 0,036	0,376 0,284	-0,625 0,053	-0,920 0,000	0,241 0,503	0,015 0,968	0,495 0,146	0,632 0,050											
AT-ART	0,245 0,378	0,516 0,049	0,679 0,005	0,664 0,007	-0,922 0,000	0,725 0,002	0,290 0,294	0,223 0,536	-0,475 0,166										
Sd8	-0,018 0,950	0,244 0,381	0,490 0,063	0,711 0,003	-0,794 0,000	0,687 0,005	0,353 0,197	-0,107 0,769	-0,567 0,088	0,822 0,000									
VP8	0,193 0,490	0,485 0,067	0,543 0,036	0,647 0,009	-0,900 0,000	0,708 0,003	0,266 0,337	0,142 0,696	-0,485 0,155	0,927 0,000	0,800 0,000								
ASA	-0,222 0,426	-0,246 0,377	0,076 0,787	0,269 0,333	-0,259 0,351	0,367 0,179	-0,570 0,027	-0,203 0,574	-0,520 0,123	0,234 0,402	0,242 0,384	0,271 0,328							
EAU	-0,412 0,127	-0,522 0,046	-0,422 0,117	-0,564 0,029	0,969 0,000	-0,799 0,000	-0,507 0,054	-0,375 0,286	0,341 0,335	-0,930 0,000	-0,849 0,000	-0,895 0,000	-0,111 0,693						
PPd0	0,466 0,080	0,275 0,321	-0,193 0,491	-0,166 0,553	-0,157 0,577	0,149 0,596	0,066 0,816	0,462 0,179	0,049 0,894	0,043 0,879	-0,161 0,566	-0,070 0,804	-0,027 0,924	-0,138 0,624					
PPd8	0,231 0,407	0,445 0,096	0,437 0,103	0,540 0,038	-0,877 0,000	0,732 0,002	0,195 0,486	0,161 0,657	-0,441 0,202	0,865 0,000	0,739 0,002	0,949 0,000	0,396 0,144	-0,839 0,000	-0,111 0,694				
difPP	0,186 0,507	0,481 0,069	0,542 0,037	0,650 0,009	-0,897 0,000	0,704 0,003	0,267 0,335	0,134 0,711	-0,486 0,154	0,924 0,000	0,803 0,000	1,000 0,000	0,269 0,333	-0,892 0,000	-0,079 0,781	0,947 0,000			
ASAE	-0,635 0,011	-0,395 0,145	0,121 0,667	0,449 0,093	0,053 0,850	-0,086 0,759	-0,675 0,006	-0,679 0,031	-0,772 0,009	0,008 0,977	0,183 0,513	0,111 0,693	0,711 0,003	0,098 0,727	-0,190 0,497	0,179 0,522	0,115 0,683		
protE	0,535 0,040	0,257 0,354	-0,134 0,633	0,019 0,947	-0,744 0,001	0,888 0,000	0,344 0,210	0,585 0,075	0,213 0,556	0,526 0,044	0,504 0,055	0,559 0,030	0,483 0,068	-0,617 0,014	-0,005 0,985	0,639 0,010	0,556 0,031	-0,065 0,818	

Leyenda: AD: almidón disponible; ART: almidón resistente total; ASA: actividad total similar a α -amilasa; ASAE: actividad específica similar a α -amilasa endógena; AT: almidón total; AT-ART: almidón total menos almidón resistente total; difPP: peso promedio; EAU: excreción de ácido úrico; Hum: humedad; Mf, cr: magnitud final de hidrólisis del almidón crudo; PPd0: peso promedio al día cero; PPd8: peso promedio al día ocho; Prot: proteína cruda; ProtE: proteína del extracto; Sd8: supervivencia al día ocho; Vf, gel: velocidad final de hidrólisis del almidón gelatinizado; Vi, cr: velocidad inicial de hidrólisis del almidón crudo; Vi, gel: velocidad inicial de hidrólisis del almidón gelatinizado; VP8: variación de peso al día ocho.