

## ANÁLISIS EXPLORATORIO DE LOS ÁCIDOS GRASOS DEL ISAÑO (*Tropaeolum tuberosum*)

**Rodrigo Ramallo Zamora**

*Unité de Biochimie de la Nutrition. Université Catholique de Louvain  
Croix du Sud 2, Bte 8, 1348 Louvain-La-Neuve, Belgique  
rramallo76@hotmail.com*

(Recibido el 20 de septiembre 2004, aceptado para publicación el 10 de diciembre 2004)

### RESUMEN

Los tubérculos transformados en harina a partir de seis variedades domésticas de isaño (*Tropaeolum tuberosum*) fueron analizados con el fin de explorar el perfil de ácidos grasos de sus lípidos y así conocer mejor sus cualidades nutricionales. Los resultados mostraron que las harinas de isaño contienen un balance muy interesante de ácidos grasos. Los perfiles fueron muy similares entre todas las variedades analizadas. Se observó un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados (70,8%), con una relación promedio insaturados/saturados de 3,0. La relación promedio linoleico/ $\alpha$ -linolénico fue de 2,2. Este valor se sitúa dentro del margen recomendado para una dieta saludable (<5). Sin embargo, cabe mencionar que el contenido de grasa de los tubérculos de isaño es bajo (<1% de la materia seca). Se debe analizar el contenido de grasa de las semillas del isaño, que podrían tener una concentración más importante de grasas. De todas maneras, los resultados son alentadores para la utilización de la planta de isaño como una fuente alimenticia.

**Palabras Clave:** Isaño, *Tropaeolum Tuberosum*, Tropaeolaceae, Cultivos Andinos, Ácidos Grasos.

### 1. INTRODUCCIÓN

El isaño (*Tropaeolum tuberosum*) es una planta andina de la familia de las Tropaeolaceae. Esta planta ha sido cultivada desde la época prehispánica por sus bellas flores ornamentales, pero principalmente por sus tubérculos comestibles.

El cultivo del isaño se extiende desde Colombia hasta Bolivia, el norte de Argentina y Chile. Es mayormente producido por comunidades indígenas de los andes, las cuales lo usan para alimentar cerdos y como una comida reservada para mujeres y niños.

El isaño no es consumido ni comercializado a gran escala, debido a su sabor amargo y a sus supuestos efectos adversos para la reproducción humana. Es comúnmente conocido como anafrodisiaco para las personas de sexo masculino. No obstante, el isaño tiene también cierta reputación por sus propiedades medicinales, fungicidas, insecticidas, bactericidas y nematocidas. Se han realizado algunos estudios para entender los compuestos causantes de estas propiedades [1], [2], [3], [4]. En un futuro próximo, probablemente se podrá controlar la concentración de estos compuestos en la planta y el cultivo se desarrollará más adecuadamente.

La planta del isaño tiene un alto rendimiento (20 a 70 TM/ha) [5], [6], es robusta y su tubérculo tiene un gran potencial como fuente alimenticia nutritiva y económica para humanos y animales.

De manera general, en términos de calidad nutricional, el isaño puede sobrepasar a ciertos cereales [5]. Su contenido de proteínas es relativamente elevado y puede llegar hasta un 15,7 % de la materia seca (MS) en ciertas variedades [7]. El balance de amino ácidos de sus proteínas es adecuado, teniendo un contenido elevado de lisina (amino ácido esencial limitante en muchos cereales) [8] y un solo amino ácido limitante, la leucina. Además, el isaño es rico en vitamina C (476 mg/100 g de MS) [9].

Por otro lado, experiencias en animales han demostrado que un alimento rico en isaño puede ofrecer ciertas ventajas en términos de ganancia de peso [10], [11], [12].

Los ácidos grasos son cadenas de carbonos con grupos carboxilos. Al estado natural, éstos pueden hallarse como compuestos libres, pero más comúnmente se los encuentra ligados a moléculas lipídicas complejas (triglicéridos, fosfolípidos, ésteres de colesterol, etc.). Los más comunes, los triglicéridos (triacilgliceroles), están constituidos de triésteres de glicerol y de ácidos grasos de cadena larga. Según el número de enlaces dobles en la cadena, los ácidos grasos pueden ser separados en ácidos grasos saturados (sin dobles enlaces), monoinsaturados (un doble enlace) y poliinsaturados (varios dobles enlaces).

En la naturaleza, se puede encontrar alrededor de cuarenta ácidos grasos diferentes. Entre los más representativos, se puede citar los ácidos palmíticos (C16:0), esteárico (C18:0), oleico (C18:1n-9), linoleico (C18:2n-6) y  $\alpha$ -linolénico (C18:3n-3) [13]. Los dos últimos, son esenciales para el hombre y deben ser aportados a través de la alimentación (granos, cereales, aceites vírgenes, etc.). Estos ácidos grasos no pueden ser sintetizados por el ser humano, ya que las enzimas del hombre no permiten insertar un doble enlace en las posiciones n-6 y n-3.

Los ácidos linoleico y  $\alpha$ -linolénico, junto con sus precursores biológicos (otros ácidos grasos) son reagrupados en las familias de ácidos grasos conocidas como, omega 6 y omega 3 respectivamente.

Debido que estos dos ácidos grasos compiten por las mismas enzimas durante el proceso metabólico y que sus efectos biológicos son diferentes y a veces opuestos, se ha establecido que su aporte en la dieta debe tener una relación (linoleico/ $\alpha$ -linolénico) de entre 1,5 y 5 [14].

La calidad de la materia grasa ingerida es muy importante para la reducción del riesgo de las enfermedades cardiovasculares y quizá del cáncer. Reportes han establecido, que hay una relación directa entre el consumo excesivo de ácidos grasos saturados y el aumento del nivel de colesterol sérico y el desarrollo de aterosclerosis [14]. Así mismo, en poblaciones donde la incidencia de enfermedades cardíacas es elevada, los hombres tienen en el tejido adiposo y en el suero sanguíneo un nivel bajo de ácido  $\alpha$ -linolénico y un alto contenido de ácidos grasos saturados [14]. Efectivamente, los ácidos grasos insaturados y principalmente los poliinsaturados, como el  $\alpha$ -linolénico, son indispensables para la reducción del riesgo de enfermedades cardiovasculares [15].

Hoy en día, muchas de las materias grasa consumidas, ya sean las “visibles” (mantequilla, aceite, ...) o las “ocultas” (chips, carnes, ...), todas poseen un contenido elevado de ácidos grasos saturados [16]. Para tener una alimentación sana, los nutricionistas recomiendan limitar el consumo de ácidos grasos saturados y consumir aceites vegetales ricos en poliinsaturados, como los aceites de lino, colza y nuez. Cabe señalar que la relación linoleico/ $\alpha$ -linolénico en estos aceites es de 0,3 [17], 2,5 y 4,6 respectivamente [16].

En la literatura científica no existe actualmente ningún reporte sobre el contenido de ácidos grasos del isaño. Con el fin de conocer mejor las calidades nutricionales del isaño, se llevó a cabo un estudio exploratorio para determinar el perfil de ácidos grasos de su materia grasa.

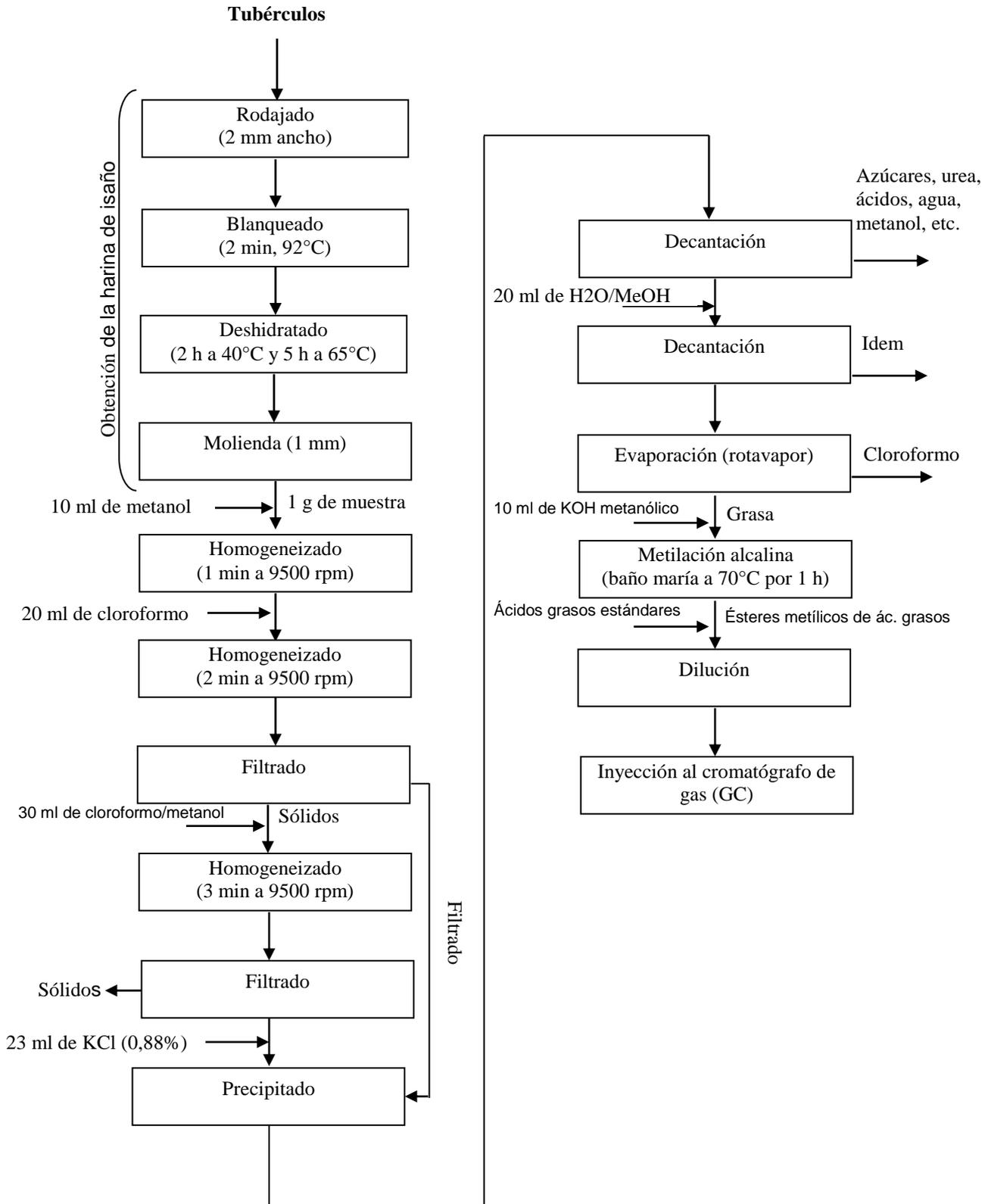
## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron seis variedades domésticas de isaño, las cuales, fueron cosechadas de un campo experimental cultivado por PROINPA (Promoción e Investigación de Productos Andinos) en la zona de Colomi, Cochabamba, Bolivia. Este ensayo de crecimiento estaba situado a 3260 msnm.

En la Figura 1 se presenta un diagrama de flujo del método de análisis. Este se realizó en harina de isaño, deshidratada de la siguiente manera: para cada variedad, varios tubérculos de diferentes plantas fueron reunidos y cortados en rodajas de 2 mm de ancho; en un recipiente metálico de 10 litros, se blanquearon las rodajas con agua hirviendo (92°C) durante 2 min; las rodajas blanqueadas fueron deshidratadas (2 h a 40°C y 5 h a 65°C) en un secador de bandejas a escala de planta piloto (0,035 m<sup>3</sup>); finalmente el material fue molido con un tamiz de 1 mm. La harina obtenida, fue analizada por cromatografía en fase gaseosa para determinar el perfil de ácidos grasos.

Para la extracción de la materia grasa de la harina, se utilizó una adaptación del método descrito por Folch [18]. Una muestra con masa de 1 g fue añadida a un tubo (70 ml) de centrifugación (centrífuga Jouan) junto con 10 ml de metanol. La mezcla fue homogeneizada (homogeneizador C.A.T. tipo 620) durante 1 min a 9500 rpm. Luego, 20 ml de cloroformo se añadieron al mismo tubo y éste se pasó nuevamente por el homogeneizador durante 2 min en las mismas condiciones. Se filtró la muestra (papel filtro de tipo S&S 595) y el filtrado se recuperó en un erlenmeyer. Se lavó el tubo de centrifugación tres veces con la ayuda de una pipeta pasteur que contenía una mezcla cloroformo/metanol (v/v:2/1). Se removió el contenido del filtro con una espátula para introducirlo nuevamente en el tubo y realizar una segunda extracción. El filtro fue repuesto en el embudo. Seguidamente, 30 ml de una mezcla de cloroformo/metanol (2:1) fueron agregados en el tubo y todo fue homogeneizado durante 3 min. Se filtró de nuevo el contenido y el filtro se enjuagó, primero con 20 ml de cloroformo y luego con 10 ml de metanol (la proporción 2/1 entre el cloroformo y el metanol fue siempre respetada). Se vertió el filtrado en una probeta graduada y se agregaron 23 ml de una solución (0,88%) de KCl con el fin de eliminar los azúcares, ácidos, urea, sales, etc. Todo el líquido fue luego vertido en un embudo de separación y agitado vigorosamente. Después de dejar escapar los gases, se dejó decantar la mezcla hasta la separación completa de las dos fases (se adicionaron algunas gotas de etanol para acelerar la separación). La fase superior fue retirada por aspiración con la ayuda de una pipeta pasteur conectada al vacío. Seguidamente, se añadieron

en el embudo de separación 20 ml de una mezcla H<sub>2</sub>O/MeOH (v/v :1/1) y se dejó decantar la solución nuevamente. La fase superior fue aspirada de la manera indicada precedentemente. El contenido del embudo se vació en un matraz de bola para seguidamente evaporarlo en un rotavapor a 30°C. La grasa extraída fue removida del matraz con éter dietílico (aprox. 3 x 5 ml) y la solución se depositó en una pequeña botella con tapa.



**Figura 1** - Diagrama de flujo del método de análisis de los ácidos grasos de la harina de isaño.

Para romper los enlaces éster de los triglicéridos y liberar los ácidos grasos, se aplicó un tratamiento de metilación alcalina. El contenido de la botella con tapa (de la etapa precedente) fue transferido con una pipeta pasteur a un tubo de metilación y el éter fue evaporado con un flujo de nitrógeno. Se añadieron al tubo, 10 ml de KOH metanólico (0,1 M) y luego éste se cerró herméticamente para calentarlo en baño maría durante 1 h a 70°C (el tubo se agitó cada 20 min). Se dejó enfriar el tubo por unos momentos y se adicionaron 4 ml de HCl metanólico (1,2 N) para neutralizar la mezcla. El tubo fue nuevamente calentado a 70°C en el baño maría pero sólo durante 20 min. Se adicionaron al tubo, 20 ml de hexano (95% para HPLC) y 10 ml de agua redestilada. Se agitó el tubo y se lo dejó decantar por una noche a 4°C. Finalmente se lo puso en el congelador hasta la realización de los análisis en cromatografía en fase gaseosa (CG).

Antes de la inyección al cromatógrafo de gas (GC), los ésteres metílicos de los ácidos grasos de la muestra, contenidos en el tubo de metilación fueron diluidos con hexano. Se introdujeron en un matraz aforado de 20 ml, 1 ml de un estándar interno (C11:0) y 4 ml de la muestra (fase superior del tubo) para luego aforarlo con hexano. Se realizó la misma dilución para una mezcla de ésteres metílicos de ácidos grasos estándares (Alltech Associates), pero en este caso no se agregó el estándar interno, porque la mezcla ya lo contenía.

Seguidamente, 400 µl de la solución diluida de los ésteres metílicos, fueron puestos en pequeños frascos (*vials*) para GC, junto con 400 µl de hexano. Por último 1 µl de esta mezcla fue inyectada directamente a la columna (*on-column injection*) del cromatógrafo.

Para el análisis se utilizó un cromatógrafo ThermoFinnigan (Trace-2000) con una columna capilar polar (Chrompack-Varian, type CP-Sil 88) de 100 m de largo, 0,25 mm de diámetro interno y 0,2 µm de espesor de película. Como fase móvil se utilizó hidrógeno (160 kPa). El programa de temperaturas del horno fue el siguiente: 80°C al momento de la inyección, con un incremento de la temperatura de 25°C/min hasta 175°C. Esta temperatura se conservó durante 25 min. Luego se aumentó nuevamente la temperatura (10°C/min) hasta 205°C. Se mantuvo a esta temperatura durante 15 min y finalmente se disminuyó (20°C/min) hasta 80°C. Se utilizó un detector de ionización por flama, fijado a una temperatura de 255°C. Como gas de combustión se tuvo hidrógeno y aire, que alimentaban el aparato con un flujo de 35 ml/min y 350 ml/min respectivamente.

La cuantificación de los ácidos grasos fue realizada por comparación de las áreas de los picos obtenidos, con las áreas de los ácidos grasos estándares. La variación del volumen de inyección se corrigió con el estándar interno. Los datos se obtuvieron con una computadora personal (PC) y utilizando el *software* ChromQuest (Ver. 3.0).

### 3. RESULTADOS

Los resultados de las determinaciones por cromatografía en fase gaseosa de los ésteres metílicos de ácidos grasos de la harina de isaño se muestran en la Tabla 1. El contenido de ácidos grasos entre las diferentes variedades de isaño fue prácticamente idéntico. Las muestras presentaron como ácidos grasos predominantes, el linoleico (48,7%),  $\alpha$ -linolénico (22,1%) y palmítico (21,1%). En cantidades menos importantes se encontró ácido oleico (4,0%) y esteárico (1,5%).

**TABLA 1 - PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE LA HARINA DE SEIS VARIEDADES DE ISAÑO (% DEL TOTAL DE LOS ÁCIDOS GRASOS CUANTIFICADOS)**

Ácido graso	Designación corta	K. kis <sup>a</sup>	K. ana <sup>b</sup>	K. che <sup>b</sup>	K. A <sup>a</sup>	Zap <sup>a</sup>	K. B <sup>b</sup>	Isaño Media
Caprílico	C8:0	ND	0,19	0,22	ND	0,16	0,17	0,12
Cáprico	C10:0	0,11	0,09	0,10	0,13	0,13	0,06	0,10
Láurico	C12:0	0,14	0,13	0,13	0,13	0,14	0,11	0,13
Mirístico	C14:0	0,32	0,37	0,33	0,34	0,39	0,40	0,36
Palmítico	C16:0	21,08	20,74	20,37	21,08	21,42	22,04	21,12
Palmitoleico	C16:1 <i>cis</i> 9	0,44	0,36	0,24	0,44	0,41	0,39	0,38
Magárico	C17:0	0,21	0,16	0,14	0,19	0,13	0,16	0,17
Esteárico	C18:0	1,52	1,44	1,55	1,33	1,52	1,48	1,47
Oleico	C18:1 <i>cis</i> 9	4,52	3,38	3,11	4,03	4,93	3,82	3,96
<i>Cis</i> -vacénico	C18:1 <i>cis</i> 11	1,37	1,23	1,14	1,29	1,38	1,38	1,30
Linoleico	C18:2 <i>cis</i>	48,50	52,18	47,79	47,31	47,56	48,88	48,70
$\alpha$ -linolénico	C18:3 <i>cis</i>	21,70	19,91	24,89	23,62	21,68	21,00	22,13
Eicosaico	C20:0	0,07	ND	ND	0,09	0,14	0,12	0,07

<b>TOTALES</b>							
Saturados	23,47	23,12	22,83	23,30	24,03	24,54	23,55
Monoinsaturados	6,33	4,97	4,492	5,77	6,72	5,587	5,65
Poliinsaturados	70,20	72,09	72,68	70,93	69,24	69,88	70,83
<b>INDICES</b>							
C18:2 <i>cis</i> / C18:3 <i>cis</i>	2,23	2,62	1,92	2,00	2,19	2,33	2,22
Poliinsaturados / Saturados	2,99	3,12	3,18	3,04	2,88	2,85	3,01

K. kis = Kulli kisaño, K. ana = Kellu anaranjado, K. che = Kellu cheschi, K. A = Kellu A, Zap = Zapallo, K. B = Kellu B.

<sup>a</sup> Media de dos determinaciones.

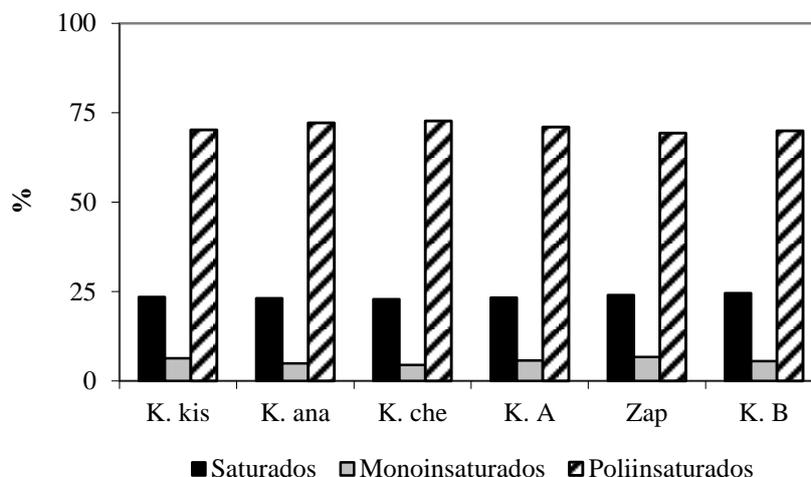
<sup>b</sup> Una sola determinación.

ND = No detectado.

La harina de isaño mostró un gran contenido de ácidos grasos poliinsaturados (70,8%) (Figura 2). Se obtuvo una relación poliinsaturados/saturados de 3,0. De la misma manera, se determinó una relación linoleico/ $\alpha$ -linolénico de 2,2. Este valor es muy adecuado, ya que según las recomendaciones de los nutricionistas, los ácidos grasos linoleico y  $\alpha$ -linolénico deben suministrarse en la dieta en una relación inferior a 5. A manera de comparación, en otros vegetales como por ejemplo, el colza, esta relación es de 2,49, en la nuez es de 4,64, en los gérmenes de trigo es de 6,83 y en la soya es de 7,33 [16]. El aceite de girasol contiene únicamente trazas de ácido  $\alpha$ -linolénico.

#### 4. CONCLUSIONES

Este primer análisis exploratorio, muestra que el isaño tiene un interesante contenido de ácidos grasos. Se observó que el isaño presenta un buen balance de los ácidos grasos esenciales linoleico y  $\alpha$ -linolénico. En futuras determinaciones sería aconsejable realizar los análisis con muestras frescas o liofilizadas, para evitar la posible oxidación de las grasas. En el presente estudio, no se determinó el grado de oxidación de los ácidos grasos.



**FIGURA 2** - Contenido (%) de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados de las harinas de 6 variedades de isaño. K. kis = Kulli kisaño, K. ana = Kellu anaranjado, K. che = Kellu cheschi, K. A = Kellu A, Zap = Zapallo, K. B = Kellu B.

En conclusión, al buen perfil de amino ácidos del isaño [8], parece adicionarse un perfil interesante de ácidos grasos, lo que soporta aún más el interés de utilizar el isaño como fuente alimenticia para hombres y animales. Sin embargo, el contenido de grasa de los tubérculos de isaño es reducido (<1% MS). Sería recomendable determinar el contenido de grasas de las semillas de isaño, las cuales, pueden contener una porción lipídica más importante que los tubérculos.

También sería interesante estudiar el efecto de una alimentación a base de isaño (tubérculos o semillas) sobre la grasa del cerdo, esto con el fin de evaluar en qué medida la mencionada alimentación puede mejorar el perfil de ácidos grasos del animal y repercutir en el de los humanos.

## 5. AGRADECIMIENTOS

El autor agradece al Profesor Yvan Larondelle por su acogida en el laboratorio bajo su dirección y el apoyo brindado en la realización del trabajo, al Sr. Rhimer Gonzáles por su contribución en el cultivo y cosecha de las plantas y al Sr. José Torrico por su colaboración en el deshidratado de los tubérculos. Esta investigación fue financiada por un proyecto PIP de la oficina gubernamental belga CUD (*Coopération Universitaire au Développement*).

## 6. REFERENCIAS

- [1] T. Johns et al. *Anti-reproductive and other medicinal effects of Tropaeolum Tuberosum*, J Ethnopharmacology, vol. 5, 1982, pp. 149-161.
- [2] A. Kjær et al. "Seed Volatiles within the family Tropaeolaceae," *Phytochemistry*, vol. 17, 1978, pp. 1285-1287.
- [3] R. Ramallo et al. *Glucosinolates in isaño (Tropaeolum tuberosum) tubers : qualitative and quantitative content and changes after maturity*, J Sci Food Agric, aceptado 2003.
- [4] E. Cosío (responsable), *IDEA - Proyecto de investigación*. [On-line]. Instituto de estudios ambientales, Pontificia Universidad Católica del Perú. Disponible en: <http://www.pucp.edu.pe/invest/idea/investigacion.htm>. [16 de octubre 2003].
- [5] CIP (Centro Internacional de la Papa). *Mashua* en Pocket guide to nine exotic Andean roots and tubers [On-line]. Disponible en: <http://www.cipotato.org/market/artguide/artguide3.htm> [17 de abril 2003].
- [6] G. Meza et al. *Cultivo de la mashua*, IX Congreso internacional de cultivos andinos: Curso pre-congreso, Cusco, Perú, 1997, pp 42-51.
- [7] S. R. King and S. N. Gershoff. *Nutritional Evaluation of Three Underexploited Andean Tubers: Oxalis tuberosa (Oxalidaceae), Ullucus tuberosus (Basellaceae), and Tropaeolum tuberosum (Tropaeolaceae)*, Econo Bot, vol. 41, 1987, pp. 503-511.
- [8] E. S. Espinoza y G. M. Monteghirfo. *Determinación de la composición de aminoácidos de mashua (Tropaeolum tuberosum) mediante cromatografía líquida de alta performance (HPLC)*, Boletín de la Sociedad Química del Perú, LXV, 1999, pp. 216-225.
- [9] National Research Council, *Lost Crops of the Incas: Little-Known Plants of the Andes with Promise for Worldwide Cultivation*. National Academy Press, Washington D.C., 1989.
- [10] J. V. Bateman. *Una prueba exploratoria de la alimentación usando "Tropaeolum tuberosum"*, Turrialba, vol.11, no. 3, 1961, pp. 98-100.
- [11] G. V. Ramos et al. *Ensayo preliminar del estudio de la Mashua (Tropaeolum tuberosum) como suplemento comparado a un concentrado en la alimentación de becerros*, V Reunion de especialistas e investigadores forrajeros del Perú, Ayacucho, Perú, 1976, pp. 121-132.
- [12] A. Guidi. *Informe final del proyecto: Uso del isaño en la alimentación de cerdos en el departamento de Cochabamba*. Fundación PROINPA, Cochabamba, Bolivia, 2001.
- [13] J. McMurry. *Organic Chemistry*. 3ra ed, Brooks/Cole Publishing Company, Belmont, USA, pp. 1079-1106, 1992.
- [14] T. Seppänen-Laakso et al. *Analysis of fatty acids by gas chromatography, and its relevance to research on health and nutrition*, Anal Chim Acta, 465, 2002, pp. 39-62.
- [15] H. Henderickx. *L'apport en acides gras : Nouvelles recommandations théoriques*, 5ème Congrès de Nutrition et Santé, Bruxelles, Bélgica, 2002.
- [16] D. Gérin. *L'apport en acides gras : Recommandations pratiques dans l'alimentation de tous les jours*, 5ème Congrès de Nutrition et Santé, Bruxelles, Bélgica, 2002.
- [17] K. Prasad. *Dietary flax seed in prevention of hypercholesterolemic atherosclerosis*, Atherosclerosis, 132, 1997, pp. 69-76.
- [18] J. Folch et al. *A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues*, J Biol Chem, 226, 1957, pp. 497-509.