

Prebiótico Inulina/Oligofruktosa en la Raíz del Yacón (Smallanthus sonchifolius), Fitoquímica y Estandarización como Base de Estudios Preclínicos y Clínicos

Pedro P. Alvarez F^{1,2}, Bertha Jurado T³, María Calixto C³, Nelly Incio V³, Jesús Silva A⁴.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: Se ha demostrado experimentalmente que la asociación inulina más oligofruktosa puede prevenir la colitis al modificar la microflora intestinal, actuando como un prebiótico. También se ha encontrado que tal asociación de inulina más oligofruktosa se encuentra en las raíces de Yacón (*Smallanthus sonchifolius*). Ello, amerita su estudio fitoquímico como su estandarización, con el fin de contribuir a su consumo con seguridad y calidad, a los ahorros en recursos de salud y promover adicionales trabajos preclínicos y clínicos. El estudio se realizó sobre la especie cultivada orgánicamente en la costa, adaptada de la que crece en los Andes, para propiciar su consumo económico en sectores de la sociedad que lo requieran.

OBJETIVOS: Determinar la composición química general de las raíces tuberosas de Yacón cultivado en la costa, mediante tamizaje fitoquímico. Además, la estandarización de su contenido de inulina para contribuir al conocimiento de las condiciones en su empleo.

MÉTODOS: Con las raíces cosechadas en el Jardín Botánico del Instituto Nacional de Salud en Lima, se prepararon extractos acuosos por decocción y zumo para el tamizaje fitoquímico con reactivos convencionales. Se estandarizaron los extractos acuosos por su contenido de inulina, empleando un estándar de fructuosa y técnica analítica validada. Las muestras fueron leídas en un Espectrofotómetro UV-VIS, Modelo TU-1810S Split Beam.

RESULTADOS: Los ensayos confirmaron la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, esteroides, glicósidos y carbohidratos. La estandarización encontró valores de 7,8 % de inulina en el extracto hidrolizado y de 7,01 % en el sin hidrolizar.

CONCLUSIONES: Se tamizaron y estandarizaron extractos de las raíces de Yacón, bajo condiciones de cultivo conocidas. Se discuten las posibilidades de su empleo por su propiedad prebiótica considerada de utilidad en ciertos tipos de colitis al estimular el crecimiento de la microflora intestinal *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, posibilitando así los ahorros en recursos de salud, además de motivar estudios preclínicos y clínicos sobre el particular.

PALABRAS CLAVE: Prebiótico. Yacón. *S. sonchifolius*. Tamizaje. Estandarización. Inulina. Lima.

Rev Gastroenterol Perú; 2008; 28: 22-27

ABSTRACT

INTRODUCTION: Experiments have demonstrated that the association between inulin and oligofruktose can prevent colitis by modifying the intestinal microflora by acting as a prebiotic. It has also been found that this association is naturally present in the roots of the Yacón root (*Smallanthus sonchifolius*) making phytochemical and standardization studies well worth pursuing. These studies could contribute to the safe use of improved strains of Yacón, to significant savings in health resources, and to promoting additional

1 Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud (INS), Lima, Perú.

2 Laboratorio de Investigación en Plantas Medicinales, INS, Lima, Perú.

3 Laboratorio de Farmacognosia y Medicina Tradicional, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

4 Jardín Botánico, Centro Nacional de Salud Intercultural, INS, Lima, Perú.

clinical and pre-clinical research. So far, studies have been made on organically cultivated Yacón in the coast, on varieties adapted from those cultivated in the Andes. The aim is to promote consumption of Yacón in the sectors of society that need it most.

OBJECTIVE: To determine the general chemical composition of the Yacón tuberous root cultivated in the coast by means of a phytochemical screening, as well as standardizing its inulin content in order to contribute knowledge on its conditions of use.

METHODS: The roots harvested in the Lima Botanical Garden of the National Health Institute were used to prepare aqueous extracts through decoction and juice for the phytochemical screening with conventional reagents. The aqueous extracts were standardized for inulin content by using a fructose standard method and a validated analytical technique. The samples were read in a TU-1810S Split Beam UV-VIS spectrophotometer.

RESULTS: The trials confirmed the presence of phenolic compounds, flavonoids, alkaloids, steroids, glycosides and carbohydrates. The standardization found values of 7,8% inulin in the hydrolyzed extract and of 7, 01% in the non-hydrolyzed extract.

Conclusions: The extracts of the Yacón roots were screened and standardized under known cultivation conditions. The possibilities of its use are being considered due to its prebiotic properties. These properties are considered useful in treating certain types of colitis by stimulating the growth of the *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* microflora. Saving of health resources would be possible and further clinical and pre-clinical research would be encouraged.

KEYWORDS: Prebiotics, Yacón, *S. sonchifolius*, Screening, Standardization, Inulin, Lima

INTRODUCCIÓN

Se ha demostrado experimentalmente, que la combinación prebiótica inulina/oligofruktosa es capaz de prevenir la colitis por producir cambios en la microflora intestinal¹. Por otro lado, es conocido que el Yacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poeppig & Endlicher) H. Robinson), es una planta con raíces tuberosas de reserva, fusiformes, de sabor dulce principalmente por el contenido de inulina/fructooligosacáridos (oligofruktosa), aunque también contiene proteínas, potasio, calcio y otras sustancias en cantidades pequeñas². Tales raíces han sido empleadas tradicionalmente por la población como alimento y supuestas propiedades medicinales. Sin embargo, es relativamente nueva la posibilidad de su empleo como prebiótico, lo cual podría significar una alternativa con ahorros en recursos de salud para afecciones digestivas en las cuales los prebióticos estén indicados

El Yacón es una planta de varias regiones de América, donde crece en las alturas de los valles interandinos; aunque su cultivo se ha extendido a varios lugares del mundo en altitudes menores. Inicialmente fue clasificado por Poeppig & Endlicher como *Polymnia sonchifolia*. Sin embargo en 1978 H. Robinson reestablece y lo incorpora al género *Smallanthus*, consagrando su nombre botánico como *Smallanthus sonchifolius*³, especie de la familia Asteraceae.

Sus raíces tuberosas son consumidas directamente crudas previamente lavadas y peladas, o ralladas y coladas, o peladas y licuadas, aunque también sometiéndolas a decocción o cocinando el zumo para convertirlas en dulces y envasarlas, o sancochadas u horneadas, o aún deshidratadas

para presentarlas como harina. Pueden consumirse inmediatamente o después de varias semanas de la cosecha, en este último caso las raíces tuberosas son depositadas en la sombra, en caso contrario puestas al sol por algunos días. Asimismo, en refrigeración para licuarlas obteniendo refrescos.

La aceptación de la raíz tuberosa del Yacón se explica entre otras razones, porque contiene inulina y fructooligosacáridos, que no son digeribles pero que benefician al consumidor porque promueven una estimulación selectiva del crecimiento y actividad de bacterias presentes en el colon, como son los géneros *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*. La proliferación de esas bacterias intestinales es conocida como efecto prebiótico⁴, por lo que en este sentido el Yacón puede tener un valor comercial apreciado.

En el Jardín Botánico del Instituto Nacional de Salud (INS) en Chorrillos, se cultivó y cosechó el Yacón en un terreno de la costa casi a nivel del mar. El objetivo del presente trabajo fue realizar ensayos de tamizaje fitoquímico y explorar el contenido de inulina en extractos de las raíces tuberosas de tal especie, cosechadas en el Jardín Botánico del INS bajo condiciones conocidas, contribuyendo a su estandarización para su adecuado empleo con calidad y seguridad, por su señalada propiedad prebiótica de favorecer el incremento de la microflora intestinal útil para prevenir, superar o coadyuvar el tratamiento de algunos tipos de colitis.

MATERIAL Y MÉTODOS

Fueron ingresadas al Laboratorio de Investigación de Plantas Medicinales 10 kilogramos de raíces tuberosas de Yacón cultivadas y cosechadas en el pequeño jardín Botánico del

INS localizado en el distrito de Chorrillos, adyacente al océano pacífico y situado aproximadamente a 30 kilómetros de la ciudad de Lima. La altitud del terreno es de 34 msnm. El clima es el mismo de la ciudad de Lima, es decir templado, con máximas de 27°C en el verano y mínimas de 14°C en el invierno. Las precipitaciones son escasas e inferiores a 16 mm al año para un promedio de 41 años (1950-1991).

Se encuentra en zona de planicie e hidrográficamente pertenece a la cuenca del río Rímac. Respecto al análisis del suelo, el pH (en pasta saturada) es 7.56, contiene 61.15% de arena, 29.86% de limo, 8.99% de arcilla, siendo la textura franco arenosa. El agua contiene calcio 5.04 meq/L, magnesio 1.19 meq/L, sodio 1.38 meq/L, potasio 0.20 meq/L, cloruro 2.00 meq/L, sulfato 2.40 meq/L, bicarbonato 2.00 meq/L, nitratos 1.50 meq/L.

La especie se cultivó de manera orgánica y solamente se empleó agua potable para el riego, en una frecuencia tres veces a la semana durante el verano y dos veces a la semana en invierno, no aplicándose pesticidas durante las fases del cultivo. La siembra se realizó en el invierno, 3 de agosto del 2006, hasta su cosecha que se realizó a fines del verano, Marzo del 2007. El ciclo vegetativo se cumplió en alrededor de ocho meses. El tipo de cultivo fue en limpio, es decir sin flora acompañante. Los tamaños de las plantas enteras alcanzaron 1,80 metros. El peso de las raíces por planta entera recolectada fue alrededor de 1,5 kilogramos. La cosecha se cumplió manualmente, al concluir el ciclo vegetativo del cultivo.

El peso de las raíces tuberosas, de color marrón y libre de objetos extraños, fue variable, estando alrededor de los 300 gramos. Se encontraban libres de hongos, picaduras e insectos. Al corte, su color interior fue blanco, o blanco con tono ligeramente amarillo. Fueron puestos enteros en la sombra, sobre papel blanco en una mesa con tablero de granito durante tres semanas en que comenzaron los estudios fitoquímicos.

Para el estudio, el lote recolectado fue separado en dos sublotos. Parte de ambos sublotos fueron posteriormente colocados en refrigeración a 4° C para emplearlos en caso necesario.

Tamizaje fitoquímico de los extractos acuosos

Una vez subdividido en dos sublotos al azar, se practicó el tamizaje (screening) fitoquímico correspondiente a dos tipos de extractos. Para ello, se peló rápidamente un tubérculo representativo de cada sublote y de cada uno de ellos se pesaron dos porciones de 20 gramos.

Una de las porciones fue sometida a decocción en 100 mL de agua destilada por 60 minutos en baño maría a 70°C. Con la otra porción se preparó el extracto crudo (zumo), que fue obtenido por trituración en un mortero de porcelana.

Ambos extractos fueron filtrados por separado y distribuidos en tubos de prueba de 10 mL a fin de realizar el tamizaje fitoquímico, cuyos resultados se encuentran en la Tabla 2 y en la Tabla 3.

Estandarización de extractos

Fue considerado parámetro el valor de la inulina cuantificada como azúcares reductores. Se trabajó con extractos acuosos por decocción preparados con 160 gramos de raíz tuberosa de Yacón, conservado en medio ambiente, en 300 mL de agua destilada por 90 minutos en baño maría a 70°C. Luego de enfriar se precipitó con etanol de 96°.

Para la cuantificación de inulina, los extractos acuosos fueron ensayados como extracto hidrolizado con HCl y extracto no hidrolizado. Los azúcares reductores presentes en tales extractos fueron cuantificados usando el método de Park-Johnson modificado por Hizukuri y col⁵, validado en un estudio previo por M. Calixto⁶. Los resultados se encuentran en la Tabla 4.

Reactivos y procedimientos

Los reactivos y estándar empleados fueron:

Reactivo a: Solución de cianuro de potasio (45 mM de carbonato de sodio, 109 mM de bicarbonato de sodio y 9,2 mM de cianuro de potasio).

Reactivo b: Solución de ferricianuro de potasio 1,5 mM

Reactivo c: Solución de sulfato férrico amoniacal (10,6 mM en ácido sulfúrico 50 mM).

Estándar de fructosa: 5 ug / mL, para la determinación de inulina.

Las muestras empleadas fueron:

Muestra 1: Muestra de extracto acuoso hidrolizado.

Muestra 2: Muestra de extracto acuoso no hidrolizado.

Las micropipetas empleadas tenían Certificados de calibración actualizados.

El procedimiento seguido se indica en la Tabla 1.

Las absorbancias a 715 nm fueron leídas en el Espectrofotómetro UV-VIS, Modelo TU-1810S Split Beam, del Laboratorio de Investigación de Plantas Medicinales

Tabla 1. Procedimiento seguido en cada uno de los tubos señalados para la determinación de Inulina como azúcares reductores, en las raíces tuberosas de Yacón colectadas del INS.

MUESTRA 1 (Tubo N° 1)	MUESTRA 2 (Tubo N° 2)	ESTÁNDAR (Tubo N° 3)	BLANCO (Tubo N° 4)
Extracto acuoso hidrolizado 1 mL	Extracto acuoso no Estándar 1 mL	hidrolizado 1 mL	-----
Reactivo a 0,5 mL	Reactivo a 0,5 mL	Reactivo a 0,5 mL	Reactivo a 0,5 mL
Reactivo b 0,5 mL	Reactivo b 0,5 mL	Reactivo b 0,5 mL	Reactivo b 0,5 mL
Todos los tubos fueron puestos en agua hirviendo por 15 minutos. Luego se enfriaron en agua por 10 minutos.			
Reactivo c 2,5 mL	Reactivo c 2,5 mL	Reactivo c 2,5 mL	Reactivo c 2,5 mL
Al final, todos los tubos se dejaron reposar a temperatura ambiente por 20 minutos.			

del INS. El equipo contaba con Certificado de calibración actualizado. Los resultados se encuentran en la Tabla 4.

RESULTADOS

Tamizaje fitoquímico

Ambas clases de extractos mostraron un perfil similar, aunque se encontraron pequeñas diferencias no consideradas significativas, como se muestran en la Tabla 2 y en la Tabla 3.

Tabla 2. Resultados del tamizaje fitoquímico de los extractos acuosos, por decocción (ED) y crudo (EC) de raíces tuberosas de Yacón colectadas del INS, para detección de carbohidratos y alcaloides, por los reactivos que se señalan.

EXTRACTO ACUOSO	MOLISH (carbohidratos)	MAYER (alcaloides)	DRAGENDORFF (alcaloides)	SONNENSCHNEIN (alcaloides)
ED	++++	+	+++	++
EC	++++	++	+++	+

(++++): Presente en abundancia. (+++): Presente en mucha cantidad. (++) : Presente en mediana cantidad. (+): Presente en pequeña cantidad.

Tabla 3. Resultados del tamizaje fitoquímico de los extractos acuosos, por decocción (ED) y crudo (EC) de raíces tuberosas de Yacón colectadas del INS, para detección de flavonoides, glicósidos, esteroides y fenólicos, por los reactivos que se señalan.

EXTRACTO ACUOSO	SHINODA (flavonoides)	VAINILLÍN SULFÚRICO (glicósidos)	LIEBERMANN-BURCHARD (esteroides)	SOLUCIÓN TRICLORURO FÉRRICO (fenólicos)
ED	--	--	++	++
EC	--	++	+	++

(++): Presente en mediana cantidad. (+): Presente en pequeña cantidad. (--): Ausente.

Estandarización inicial de extractos

El pH de los extractos acuosos por decocción fue 4,5. El contenido de inulina como azúcares reductores (fructosa) se expresa en la Tabla 4.

Tabla 4. Resultados de la determinación de inulina como azúcares reductores en los extractos acuosos por decocción de raíces tuberosas de Yacón colectadas del INS. Los porcentajes corresponden a la cantidad de Inulina expresada como fructosa.

Parámetro	Extracto acuoso hidrolizado	Extracto acuoso no hidrolizado
Inulina (como azúcares reductores: fructosa) g%	7,80	7,01

DISCUSIÓN

Superando el tiempo en el que estaba en camino a ser relegado al olvido, los estudios acerca del Yacón respecto a su cultivo y empleo de la raíz tuberosa, en forma tradicional y no tradicional, están siendo cada vez más frecuentes por sus posibilidades como prebiótico a nivel del colon. Su capacidad de adaptación a diversas ecologías, ha permitido su crecimiento en muchos lugares del mundo, incrementando su importancia económica y sus posibilidades en ahorros de recursos de salud. En el presente trabajo, con el fin de aportar a su empleo adecuado, se procedió a avanzar en su estandarización, que implica su cuidado desde el inicio del cultivo de esta especie de origen andino, que en este caso se adaptó a las condiciones de la costa. Ello, que aún es original, tendría algunas ventajas en el futuro respecto al ámbito económico, como la cercanía a carreteras y puertos por donde saldría fácilmente al mercado nacional e internacional, pero especialmente en nuestro medio por la presencia de poblaciones numerosas de la costa para promover su consumo en aquellas que tuvieran afecciones que requirieran del empleo de los prebióticos. Así mismo, su adaptación en la costa no enfrentaría las heladas en los valles interandinos, que de algún modo podría afectar su cultivo aunque la especie suele ser resistente, debiendo estudiarse si en la costa también existe la gran variabilidad ecológica señalada para la región andina⁷.

Su consumo no otorga un significativo aporte calórico, por lo que la masa ingerida, podría ser admitida como una opción para coadyuvar la terapia del sobrepeso, lo cual debería ser convenientemente demostrado con ensayos clínicos básicos.

Por estudios experimentales realizados¹, el consumo de las raíces de Yacón debería considerarse como una alternativa particular en colitis en razón que la inulina y los fructooligosacáridos, que constituyen sus principales componentes, básicamente no son absorbidos por el tracto digestivo humano, por lo cual no tendrían efecto sistémico por lo menos en lo que corresponde a la inulina, por lo que su posible efecto benéfico estaría confinado localmente en la flora del colon en el humano, donde promoverían el incremento de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. La capacidad de fermentar los fructooligosacáridos de la raíces de Yacón ha sido demostrada⁴ para el *Lactobacillus acidophilus* NRRL-1910, el *Lactobacillus plantarum* NRRL B-4496 y el *Bifidobacterium bifidum* ATCC 15696, que son tres cepas probióticas conocidas. La proliferación de esas bacterias intestinales es habitualmente buscada por los consumidores y profesionales de la salud. Por otro lado, ha sido demostrado en niños entre 1 a 2 años, en un ensayo clínico randomizado controlado⁸, la efectividad de *Lactobacillus acidophilus* más *Bifidobacterium infantis*, administrados vivos, en acortar significativamente la duración de la diarrea aguda, lo que refuerza la idea de la utilidad de tales bacterias del colon.

Además, su empleo frecuente podría llevar a ciertos cambios favorables en la mucosa del colon humano, si es que puede ser extrapolado el hallazgo experimental en ratas, en las cuales al ser administradas con harina de Yacón con 5

a 7,5% de fructooligosacáridos como suplemento dietético por 27 días, se produjo un aumento en la profundidad y número de criptas del colon⁹. Dicho hallazgo podría estar relacionado, de ocurrir en el humano, con una mayor absorción de minerales por el incremento de la superficie de absorción.

En otro sentido, su ingesta en ratas normales como suplemento dietario en forma de harina de raíz durante cuatro meses, fue bien tolerado y no produjo toxicidad, no demostrando actividad hipoglicémica¹⁰. No se ha encontrado algún ensayo clínico controlado con placebo que demuestre actividad hipoglicémica por la ingesta de la raíz del Yacón.

Los resultados del tamizaje fitoquímico permitieron confirmar alcaloides, carbohidratos, flavonoides, glicósidos, fenólicos y esteroides. Se prefirió trabajar en dos extractos, uno muy común que corresponde al zumo de las raíces y que puede ser considerado como el de empleo tradicional, en tanto que el otro extracto corresponde a la decocción y estaría más en relación con el empleo moderno de utilizar extractos acuosos. Nos llamó la atención la posible presencia de esteroides, que podría ameritar un estudio adicional. En efecto, en algunas plantas se han encontrado hormonas esteroides, denominadas esteroides vegetales brassinoesteroides que actúan sobre receptores esteroides de membrana conocidos como BRI1, que regulan el crecimiento y desarrollo de las plantas^{11,12} por mecanismos aún en investigación. Hasta donde se ha buscado, no hay descripción de esteroides encontrados en extractos de Yacón, aunque de haberlos podría corresponder al mecanismo natural descrito.

Respecto a la estandarización de extractos, se prefirieron los obtenidos por decocción, en razón de los resultados alcanzados en el tamizaje fitoquímico. La diferencia entre el hidrolizado y el extracto sin hidrolizar permitieron apreciar un contenido similar de inulina, algo mayor en el hidrolizado. En los resultados del contenido de inulina, similar a lo encontrado en otro estudio¹³, debe considerarse que podría haber declinado alguna cantidad durante el tiempo de depósito de las raíces, debido a la actividad metabólica intrínseca por su dependencia enzimática, para convertirse en azúcares simples (sacarosa, fructosa, glucosa). Además, las cantidades de inulina en las raíces podría en alguna forma relacionarse con la calidad del suelo y las condiciones ambientales, habiéndose descrito la variabilidad química y biológica de la especie cultivada bajo condiciones de campo, expresadas en el peso y contenido de oligofructanos¹⁴.

Una depolimerización inicial¹⁵ que ha sido descrita para los días subsecuentes de la cosecha, podría haber intervenido también en los niveles de inulina encontrados. Las diferencias en el contenido de enzimas de fructanos de diversas especies de Asteraceae¹⁶ han permitido entender el metabolismo de tales fructanos y sus diferentes grados de polimerización, que no son similares entre esas especies. No parecen existir evidencias que las cantidades diferentes de inulina y fructooligosacáridos en las raíces pudieran alterar sus propiedades prebióticas a nivel del colon, ni en su posible empleo en dietas para el sobrepeso, considerando su

escasa o nula absorción y consecuente ausencia de efectos sistémicos.

Los ensayos preclínicos y clínicos, para cualquier posibilidad terapéutica en plantas medicinales, incluso el monitoreo en su empleo común incluso para descartar la presencia de biotoxinas¹⁷, requieren un apoyo económico que no siempre es asumido por un patrocinador relacionado a productos naturales. En países en vías de desarrollo, entre el 70 a 80% de la población utiliza como recurso para su cuidado primario de salud, las plantas medicinales¹⁸. Por ello, la participación del Estado es fundamental a través de políticas de investigación en instituciones con presupuesto para ello, a fin de promover y apoyar los laboratorios y acciones de investigación en plantas medicinales.

En conclusión, se ha contribuido a reafirmar la composición química general de las raíces tuberosas del Yacón (*Smallanthus sonchifolius*), la estandarización inicial de tales raíces, con la ventaja de estar cultivada bajo condiciones agronómicas conocidas en una zona de costa, determinando la cantidad de inulina mediante una técnica sencilla. Ello contribuiría a promover su utilidad prebiótica con ahorros en recursos de salud, para diversos sectores de población con diversos tipos de colitis, a fin de prevenirla, superarla o coadyuvar en su tratamiento al incrementar los *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* considerados microflora útiles a nivel intestinal. De otro lado, como la inulina no se absorbe por vía oral, motivará estudios preclínicos y clínicos para confirmar la posibilidad terapéutica de las raíces en las dietas para el sobrepeso.

Correspondencia:

Dr. Pedro P. Alvarez Falconí
Dirección: Instituto Nacional de Salud. Jr.
Cápac Yupanqui 1400, Jesús María.
Lima. Perú.
Teléfono: (511) 435-4465
e-mail: catecol@hotmail.com

BIBLIOGRAFÍA

1. HOENTJEN F, WELLING GW, HARMSSEN HJM, et al. The prebiotic combination inulin/ oligofructose prevents colitis in HLA-B27 transgenic rats associated with immunomodulation and changes in intestinal microflora. *Can J Gastroenterol* 2005 ; 19 Suppl B: 9B.
2. TAKENAKA M, YAN X, ONO H, et al. Caffeic acid derivatives in the roots of yacón (*Smallanthus sonchifolius*). *J Agric Food Chem* 2003; 51(3):793-6.
3. VALENTOVÁ K, ULRICHOVÁ J. *Smallanthus sonchifolius* and *Lepidium meyenii* – prospective andean crops for the prevention of chronic diseases. *Biomed Papers* 2003; 147(2): 119–130.
4. PEDRESCHI R, CAMPOS D, NORATTO G, et al. Andean Yacón root (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. Endl) fructooligosaccharides as a potential novel

- source of prebiotics. *J Agric Food Chem* 2003; 51(18): 5278-84.
5. HIZUKURI S, TAKEDA Y, YASUDA M. Multi-branched nature of Amylose and the action of debranching enzymes. *Carbohydrate Research* 1981; 94: 205-13.
 6. CALIXTO COTOS, MARIA R. Extracción y modificación enzimática del almidón de *Amaranthus caudatus*. [Tesis para optar el Grado de Magister en Bioquímica]. Lima, Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2002.
 7. MANSILLA RC, LÓPEZ C, BLAS R, et al. Análisis de la variabilidad molecular de una colección peruana de *Smallanthus sonchifolius* (Poepp & Endel) H. Robinson "Yacón". *Ecología Aplicada* 2006; 5(1,2): 75-80.
 8. VIVATVAKIN B, KOVITDAMRONG A. Randomized controlled trial of live *Lactobacillus acidophilus* plus *Bifidobacterium infantis* in treatment of infantile acute watery diarrhea. *Can J Gastroenterol* 2005 ; 19 Suppl B: 9B.
 9. LOBO AR, COLLI C, ALVARES EP, et al. Effects of fructans-containing yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp and Endl.) flour on caecum mucosal morphometry, calcium and magnesium balance, and bone calcium retention in growing rats. *Br J Nutr* 2007; 97(4): 776-85.
 10. GENTA SB, CABRERA WM, GRAU A, et al. Subchronic 4-month oral toxicity study of dried *Smallanthus sonchifolius* (yacón) roots as a diet supplement in rats. *Food Chem Toxicol* 2005; 43(11): 1657-65.
 11. YIN Y, VAFEDOS D, TAO Y, et al. A New Class of Transcription Factors Mediates Brassinosteroid-Regulated Gene Expression in *Arabidopsis*. *Cell* 2005; 120 (2): 249-259.
 12. VERT G & CHORY J. Downstream nuclear events in brassinosteroid signalling. *Nature* 2006; 441: 96-100.
 13. NARAI-KANAYAMA A, TOKITAN, ASOK. Dependence of Fructooligosaccharide Content on Activity of Fructooligosaccharide-Metabolizing Enzymes in Yacón (*Smallanthus sonchifolius*) Tuberous Roots during Storage. *Journal of Food Science* 2007; 72 (6): S381-S387.
 14. VALENTOVA K, LEBEDA A, DOLEZALOVA I, et al. The biological and chemical variability of yacón. *J Agric Food Chem* 2006; 54(4): 1347-52.
 15. GRAEFE S, HERMANN M, MANRIQUE I, et al. Effects of post-harvest treatments on the carbohydrate composition of yacón roots in the Peruvian Andes. *Field Crops Research* 2004; 86: 157-65.
 16. ITAYA NM, ASEGA AF, CARVALHO MAM, et al. Hydrolase and fructosyltransferase activities implicated in the accumulation of different chain size fructans in three Asteraceae species. *Plant Physiology and Biochemistry* 2007; 45(9): 647-56.
 17. ALVAREZ PP, SANTIAGO CA. Ausencia de biotóxina ácido domoico en los Pantanos de Villa Chorrillos, Perú. *Ecología Aplicada* 2006; 5(1,2): 167-70.
 18. WANDA GJ, NJAMEN D, YANKEP E, et al. Estrogenic properties of isoflavones derived from *Millettia griffoniana*. *Phytomedicine* 2006; 13(3): 139-45.