Universidad de La Salle
Ciencia Unisalle

Ingeniería de Alimentos | Facultad de Ingeniería

1-1-2016

Evaluación del extracto de la uva Vitis Vinifera como antioxidante en papa pastusa suprema mínimamente procesada

Diana Milena Chaves Sánchez
Universidad de La Salle, Bogotá

Steven Arturo Terranova Quintana
Universidad de La Salle, Bogotá

Follow this and additional works at: https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_alimentos

Citación recomendada

Chaves Sánchez, D. M., & Terranova Quintana, S. A. (2016). Evaluación del extracto de la uva Vitis Vinifera como antioxidante en papa pastusa suprema mínimamente procesada. Retrieved from https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_alimentos/130

This Trabajo de grado - Pregrado is brought to you for free and open access by the Facultad de Ingeniería at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Ingeniería de Alimentos by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

Evaluación del extracto de la uva *Vitis Vinifera* como antioxidante en papa pastusa suprema mínimamente procesada

Diana Milena Chaves Sánchez

Steven Arturo Terranova Quintana

Universidad de La Salle

Facultad de Ingeniería

Programa de Ingeniería de Alimentos

Bogotá D.C., Colombia

2016

Evaluación del extracto de la uva *Vitis Vinifera* como antioxidante en papa pastusa suprema mínimamente procesada

Diana Milena Chaves Sánchez

Steven Arturo Terranova Quintana

Trabajo de grado para optar al título de:

Ingeniero de Alimentos

Director:

Ing. María Patricia Chaparro Gonzáles MSc.

Universidad de La Salle

Facultad de Ingeniería

Programa de Ingeniería de Alimentos

Bogotá D.C., Colombia

2016

Ni la Universidad, Ni el jurado son

responsables por las ideas expuestas

Por los estudiantes en el siguiente trabajo.

Reglamento estudiantil de la Universidad de La Salle

Nota de aceptación

_____

_____

Firma del Director

Ingeniera Patricia Chaparro

_____

Firma del Jurado 1

Ingeniera Maria Hernandez Carrion.

_____

Firma del Jurado 2

Ingeniero Jader Rodriguez.

*Agradezco a **Dios** por haberme permitido alcanzar este logro tan importante y deseado en mi vida, por darme la fortaleza en cada momento difícil que se me ha presentado, por iluminarme en cada paso que doy y llenar mi vida de personas que diariamente amo más. A mis padres **Carlos y Nohemy** por el esfuerzo que hicieron para que yo cumpliera mi gran sueño, por su apoyo, comprensión y permitir que siga caminando junto a ellos. A mis hermanos **Andrés y Paola**, por darme el mejor ejemplo, por sus enseñanzas, sus consejos y su compañía en este camino, a mi sobrino **Juan Andrés** por su cariño incondicional. A **Daniel,** mi compañero de vida, por su apoyo, por acompañarme en mis largas noches de estudio, por darme fortaleza y llenarme de todo su amor y alegría. Les dedico este gran logro, son las personas que más amo.*

***Diana M. Chaves Sánchez**.*

*Después de tantos esfuerzos, decisiones y oportunidades le doy gracias a **Dios**, y a las personas que quiero, así que les quiero mostrar todo mi agradecimiento al dedicarles este trabajo de grado. A **mi Mama,** por darme la vida y apoyarme en todas mis decisiones**,** nunca será suficiente agradecerte y dedicarte todas las cosas que yo he hecho y hare, porque simplemente todo lo que soy es gracias a ti, A **mi esposa** por ser el amor de mi vida, este triunfo es de los dos A **mi Padre**, gracias por siempre ser una mano más para trabajar a mi lado y por aconsejarme tan sabiamente cuando lo necesito espero seguir contando contigo. A **la Ingeniera Patricia Chaparro,** gracias por trabajar con nosotros, colaborarnos, apoyarnos y brindarnos los conocimientos necesarios a lo largo de la carrera y el proyecto. A **Diana,** por ser mi compañera de tesis y de carrera, realmente yo sin ti no hubiera podido lograr este objetivo.*

Steven Terranova

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a nuestra directora de Trabajo de grado Ingeniera **PATRICIA CHAPARRO,** por su apoyo y acompañamiento incondicional en el desarrollo de este trabajo, por sus consejos, confianza y su tiempo, persona fundamental en la realización de este trabajo.

También queremos agradecer a las siguientes personas:

- **JUAN CARLOS POVEDA,** Por brindarnos todo su conocimiento en el laboratorio de química de la Universidad de la Salle.
- **LUIS MIGUEL TRIVIÑO,** Por su apoyo incondicional y ayuda en las plantas piloto de la Universidad de la Salle, por su amistad y asesoría para la realización de este trabajo y durante toda la carrera.
- **VIÑEDO MARQUES DE VILLA DE LEIVA,** Por brindarnos las instalaciones para la obtención de la materia prima para la realización de este trabajo, en especial a la Ingeniera **DAYRA CONSUEGRA**, por todo su apoyo y conocimiento.
- **UNIVERSIDAD DE LA SALLE,** Por permitirnos el uso de los laboratorios y plantas piloto para la realización de cada una de las etapas de este trabajo, en especial al Programa de Ingeniería de Alimentos, por su apoyo a lo largo de toda la carrera.

RESUMEN

En la última década el consumidor tiene un interés en la producción orgánica principalmente por las condiciones de producción de aquellos bienes que adquiere. Esto se debe que el mercado exigente demanda satisfacción en materia de salud, nutrición y bienestar. Existen diversas fuentes naturales que son de uso en la industria de alimentos, tales como los aditivos alimenticios, los cuales mejoran color, textura, sabor, mantienen valor nutritivo o simplemente son usados para conservación de un producto para alargar su vida útil. Para aumentar la producción de aditivos naturales, se han encontrado compuestos fenólicos presentes en subproductos de la elaboración del vino como lo son la cáscara y semillas de la uva, los cuales tienen un alto contenido en antioxidantes, cumpliendo la función de aditivo natural disminuyendo los efectos negativos de la enzima polifenoloxidasa en un producto.

Basados en lo anterior, en esta investigación se usó bagazo de la uva (*Vitis Vinifera)* del proceso de prensado y proceso de descube en la elaboración del vino Cabernet Sauvignon, dándole un valor agregado a la utilización de un sub-producto generado por la industria. Las muestras se recolectaron en el viñedo Marques de Villa de Leiva, este viñedo cuenta con 3 vendimias o cosechas en dos años a diferencia de los países con estaciones donde solamente tienen una cosecha por año, lo cual obtienen un subproducto aproximado de 200 a 500 kg por vendimia. De estos dos tipos de sub-producto (prensado y descube) se cuantificaron los compuestos fenólicos totales por el método Folin Ciocalteu, así mismo se evaluó la capacidad antioxidante, donde la muestra del proceso de prensado (tratamiento 333) obtuvo una mayor cantidad de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante. Con el

tratamiento 333, se evaluó la inhibición sobre la enzima polifenoloxidasa a concentraciones de 0.5% con un porcentaje de inhibición del 19% y 1% con un porcentaje de inhibición del 37%. Por último se comparó este extracto (tratamiento 333) como aditivo natural, frente aditivo comercial (metabisulfito de sodio), midiendo su color a través de los parámetros L*, a*, b*, utilizando un colorímetro, durante 11 días. El bagazo del proceso de prensado en la elaboración del vino Cabernet Sauvignon tiene características antioxidantes, también actúa como inhibidor sobre la polifenoloxidasa en un producto mínimamente procesado refrigerado de papa pastusa suprema, razón por la cual este trabajo aporta a la investigación, el potencial de ser implementado como un aditivo natural en la industria alimentaria logrando así el aprovechamiento de un subproducto y generando un valor agregado.

TABLA DE CONTENIDO.

AGRADECIMIENTOS 6

RESUMEN 7

GLOSARIO 15

INTRODUCCIÓN 18

OBJETIVOS 20

1. MARCO DE REFERENCIA. 21

1.1. MARCO TEÓRICO 21

1.1.1 Uva (*Vitis Vinifera*) 21

1.1.2 Principales partes de la uva (*Vitis Vinifera*): 21

1.1.3 Composición de la uva *Vitis Vinífera:* 22

1.1.4 El mercado vinícola en Colombia 24

1.1.5 Tendencias del Consumidor 24

1.1.6 Proceso productivo del vino 25

1.1.7 Productos mínimamente procesados (PMP) 26

1.1.8 Situación de la siembra y comercio de las diferentes variedades de papa 26

1.1.9 Polifenoloxidasa (PPO) en tubérculos 29

1.1.10 Inhibidores 30

1.1.11 Aditivos 32

1.1.12 Antioxidantes en Alimentos 34

1.1.13 Actividad antirradicales libres 35

1.1.14 Compuestos fenólicos 36

1.1.15 Compuestos fenólicos contenidos en la papa Sabanera 38

1.1.16 Actividad biológica de los compuestos fenólicos 40

1.2. ESTADO DEL ARTE 40

1.3. MARCO LEGAL 43

2. METODOLOGÍA DE LA EXPERIMENTACIÓN 44

2.1. OBTENCIÓN DEL MATERIAL BIOLÓGICO. 44

2.2. LIOFILIZACIÓN DE LA MUESTRA. 44

2.3. EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES DE LA CÁSCARA DE LA UVA *Vitis Vinifera* EN EL PROCESO DE PRENSADO Y DESCUBE 45

2.3.1. Extracción de los compuestos fenólicos de la cáscara y semillas de la uva *Vitis Vinifera* en el proceso de prensado y descube 45

2.3.2 Cuantificación de los compuestos fenólicos totales en el proceso de descube y prensado por el método Folin – Ciocalteu 46

2.4. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE 47

2.5. EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS EN LA INHIBICIÓN DE LA POLIFENOLOXIDASA EN UN PRODUCTO MÍNIMAMENTE PROCESADO REFRIGERADO. 47

2.5.1 Proceso de elaboración de mínimamente procesado de papa pastusa suprema 48

2.5.2 Inhibición de la enzima polifenoloxidasa de extracto del tratamiento 333. 49

2.5.3. Porcentaje de inhibición del tratamiento 333 en la inactivación de la enzima PPO. 50

2.5.4. Cálculo de la actividad específica. 50

2.5.5. Cálculo del porcentaje de inactivación de la enzima polifenoloxidasa con bagazo muestra 333 como inhibidor 51

2.6. COMPARACION ENTRE EL ADITIVO COMERCIAL METABIFULFITO DE SODIO Y EXTRACTO DEL BAGAZO DEL VINO EN UN PRODUCTO MINIMAMENTE PROCESADO REFRIGERADO DE PAPA PASTUSA 52

2.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO. 53

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS 55

3.1. Cuantificación de los compuestos fenólicos totales en el proceso de descube y prensado. 55

3.2 Actividad antioxidante 57

3.3. Evaluación del extracto 333 en la actividad de la polifenoloxidasa en papa pastusa. 60

3.3.1. Porcentaje de inhibición del tratamiento 333 en la inactivación de la enzima PPO. 62

3.4. Comparación de aditivo natural frente aditivo comercial (metabisulfito) en un producto mínimamente procesado refrigerado de papa pastusa 65

4. CONCLUSIONES 69

5. RECOMENDACIONES 71

6. BIBLIOGRAFÍA 72

7. ANEXOS. 81

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición de la uva *(Vitis Vinífera)* cada 100 g 23

Tabla 2. Cuantificación de fenoles totales tratamiento 333 y 334 con agua como disolvente 55

Tabla 3. Cuantificación de fenoles totales tratamiento 333 y 334 con etanol como disolvente 55

Tabla 4. Actividad antioxidante tratamiento 333 y 334 con agua como disolvente 58

Tabla 5. Actividad antioxidante tratamiento 333 y 334 con etanol como disolvente 58

Tabla 6. Porcentaje de inhibición para tratamiento 333 al 0,5% y tratamiento 333 al 1%.. 63

Tabla 7. Diferencias globales de color en muestra patrón, muestra con metabisulfito y tratamiento 333 65

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Partes de la uva *Vitis Vinifera L* 22

Figura 2. Diagrama proceso productivo del vino 25

Figura 3. Estructura Fenol 37

Figura 4. Estructura de los flavonoides. 37

Figura 5. Proceso de elaboración del mínimamente procesado de papa pastusa. 48

Figura 6. Papa pastusa sin muestra (Muestra blanco). Día 11..... 68

Figura 7. Papa pastusa con aditivo comercial (Metabisulfito de Sodio). Día 11 68

Figura 8.Papa pastusa con muestra de bagazo de vino tratamiento 333 como aditivo. Día 11 68

Figura 9. Papa Pastusa blanco (sin aditivo), Papa Pastusa con Metabisulfito de Sodio y Papa pastusa con bagazo de vino tratamiento 333 como aditivo. Día 11..... 68

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Absorbancia de papa pastusa mínimamente procesada en muestra patrón, tratamiento 333 al 0,5% y tratamiento 333 al 1% 60

GLOSARIO

Aditivo: Según el *Codex Alimentarius*, el concepto de aditivo se refiere a cualquier sustancia que, independientemente de su valor nutricional, se añade intencionadamente a un alimento con fines tecnológicos, en cantidades controladas. (Ibáñez, Torres S.).

Antioxidante: Moléculas que, a bajas concentraciones, respecto a las de un sustrato oxidable, retardan o previenen su oxidación. El antioxidante al chocar con el radical libre cede un electrón, se oxida y se transforma en un radical libre débil no tóxico. (La Calle Gutiérrez, 2007).

Compuestos fenólicos: Los compuestos fenólicos o poli fenoles, son las sustancias que poseen un anillo aromático, unidos a uno o más grupos hidroxilo, incluyendo derivados funcionales como ésteres, glucósidos, etc. (González Jiménez, 2010).

Descube: Acción que consiste en separar el mosto o el vino de las partes sólidas de la uva después de la fermentación. (Puerta, A. 2000).

Despalillado: Acción de separar el escobajo, palillo o raspón, de los racimos. (Domingo.X.1995).

Destilación: Operación donde se aumenta la temperatura de un líquido hasta condensar los vapores reducidos, separando sus diferentes componentes. (Domingo.X.1995).

Dureza: Característica de un vino con exceso de acidez y, en ocasiones, de astringencia. (Vogt, E. 1984).

Disolvente: Sustancia en la cual se diluye un soluto ya sea un sólido, líquido o gas químicamente diferente, dando como resultado una solución que normalmente es el componente de una solución presente en mayor cantidad. (Vogt, E. 1984).

***Etanol**:* (C2H5OH, alcohol etílico), es el principal componente psicoactivo de las bebidas alcohólicas. El etanol se obtiene a partir de la fermentación del azúcar. (Word Heath Organization, 2008).

Maceración: Contacto prolongado del mosto con las materias sólidas de la uva. (Domingo.X.1995).

Extracción: Es la técnica empleada para separar un producto orgánico de una mezcla de reacción o para aislarlo de sus fuentes naturales. Puede definirse como la separación de un componente de una mezcla por medio de un disolvente. (Fernández, 2012).

Pardeamiento enzimático: Es una reacción de oxidación en la que interviene como substrato el oxígeno molecular, catalizada por un tipo de enzimas que se puede encontrar en prácticamente todos los seres vivos, desde las bacterias al hombre. (Calvo, s.f).

Polifenoloxidasa (PPO): Son enzimas que catalizan una reacción que transforma o-di fenoles en o-quinonas. Las o-quinonas son muy reactivas y atacan a una gran variedad de componentes celulares, favoreciendo la formación de polímeros negro-marrón. (Hernández Valdez, 2009).

Vino: Es el producto resultante de la fermentación alcohólica total o parcial del jugo de uvas sanas y maduras, con un contenido mínimo de etanol del 8,5 % (v/v). (Vogt, E. 1984).

Mosto: Líquido azucarado que se destina a la fermentación. En el caso del vino, se trata de jugo de la uva. (Domingo.X.1995).

Vino seco: Aquél que no contiene cantidades perceptibles de azúcar, a la degustación. (Vogt, E. 1984).

Variedad: Diferentes tipos de uva pertenecientes a la misma especie de vid. (Puerta, A. 2000).

Varietal: Se dice del vino elaborado con una sola variedad de uva, o con un porcentaje más alto de la misma, en caso de que haya mezcla. (Puerta, A. 2000).

Vinificación: Conjunto de operaciones que se practican para elaborar los vinos. (Vogt, E. 1984).

INTRODUCCIÓN

Hoy en día, existe una tendencia por alimentos más saludables, el consumidor cada vez más está en la búsqueda de nuevos ingredientes alimentarios naturales con características aún más específicas y exigirá continuamente información sobre los procesos e ingredientes y el impacto ambiental generado por sus alimentos. (Del Greco, 2010).

En la cadena productiva de vino, los subproductos como cáscaras y semillas se encuentran entre los residuales orgánicos de mayor efecto contaminante sobre la flora y la fauna del planeta. Las cáscaras y semillas de uva se constituyen de una gran cantidad de compuestos fenólicos, los cuales son de gran importancia a nivel nutricional e industrial, debido a su papel directamente relacionado sobre el proceso de oxidación. Por cada litro de vino producido se obtiene alrededor de 13 litros de residuos, en muchos lugares estos subproductos son vertidos en ríos, lagos, represas y canales sin ningún tratamiento los cuales contaminan en gran medida las fuentes de aguas superficiales y subterráneas con un fuerte impacto sobre el medio ambiente, también son utilizados en proceso de compostaje sin tener en cuenta el potencial y gran valor que tienen para la industria, el medio ambiente y la salud del consumidor. (Lezcano & Mora, s.f).

Viendo la necesidad de un consumidor interesado por alimentos cada vez más naturales así mismo consciente sobre el impacto ambiental que se está generando y la industria de alimentos por sustituir aditivos químicos por naturales, se formuló la siguiente pregunta de investigación: ¿Los compuestos fenólicos extraídos de la cáscara y semillas de la uva *Vitis Vinifera* actúan como aditivo natural de la misma manera que un aditivo comercial en un producto mínimamente procesado (PMP) de papa pastusa?.

Para la solución de esta problemática se trabajó con el subproducto (bagazo de uva) de la elaboración del vino del viñedo Marques de Villa de Leiva. Por lo anterior expuesto, se investigó otra posibilidad de obtener un extracto con características antioxidantes del subproducto en la producción de vino, se evaluó su empleo como antioxidante en un producto mínimamente procesado (PMP) y posiblemente su uso como un nuevo aditivo alimentario en la elaboración de alimentos.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de los compuestos fenólicos extraídos de la cáscara y semillas de la uva *Vitis Vinifera* como aditivo natural en un producto mínimamente procesado (PMP) de papa pastusa suprema.

OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- Cuantificar los compuestos fenólicos totales de la cáscara y semillas de la uva *Vitis Vinifera* en el proceso de prensado y descube, evaluando su capacidad antioxidante.
- Evaluar el efecto de los compuestos fenólicos en la inhibición de la polifenoloxidasa en un mínimamente procesado refrigerado de papa pastusa.
- Comparar un aditivo natural frente a un aditivo comercial en un producto mínimamente procesado refrigerado de papa pastusa.

1. MARCO DE REFERENCIA.

A continuación, se presentarán diversas investigaciones acerca de la uva *Vitis Vinifera*, composición, proceso productivo del vino, mercados vinícolas en Colombia, productos mínimamente procesados (PMP). Información relacionada para la elaboración de esta investigación.

1.1. MARCO TEÓRICO

1.1.1 Uva (*Vitis Vinifera*)

La *Vitis Vinifera*, más conocida como vid, pertenece a la familia *Vitaceae*. Entre sus características destaca que su tronco puede crecer hasta 35 m de longitud en estado nativo, pero para cultivo es reducido anualmente hasta 1 - 3 m. El fruto, la uva, mide entre 6-22 mm de largo, su forma es circular ovalada, la piel está adherida a su pulpa, su color puede ser amarillo o verde, rojo o morado, dependiendo de la variedad cultivada. Cada fruto posee entre 2 a 4 semillas, a excepción de especies que no generan pepitas. Presenta hojas circulares u ovales, delgadas, dentadas o ligeramente melladas en sus bordes, de 5-23 cm de diámetro, glabras, de color verde apagado en la cara superior y gris tormentoso en la cara inferior, caracterizadas por presentar entre 4 y 5 lóbulos. Las flores son numerosas, y se disponen en forma opuesta a las hojas, agrupándose en racimos. (Bombardelli, 1995).

1.1.2 Principales partes de la uva (*Vitis Vinifera*):

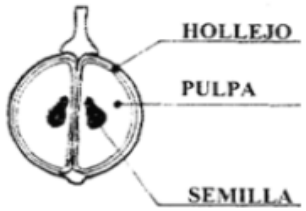
- **Pecíolo:** extremo de la uva insertada en el sarmiento o rama leñosa de la vid.
- **Hollejo:** piel o película fina que envuelve la uva.

- **Pulpa:** parte carnosa del fruto que contiene el mosto o zumo.
- **Semillas:** están en el interior de la pulpa, con una capa externa muy dura y son distintas en cada variedad.

Las semillas se encuentran en el interior del grano de uva, normalmente en número de 4 ya que se originan a partir de dos ovarios de la flor, y cada ovario tiene 2 óvulos. Pero como la fecundación no es perfecta, el número de semillas varía de 1 a 4. Originaria de la zona mediterránea y de Asia menor, la uva actualmente se cultiva en casi todo el mundo. (Zipmec, 2013).

En la figura 1 se mencionan las principales partes de la uva *Vitis Vinifera*

Figura 1. Partes de la uva *Vitis Vinifera L.*



Fuente: Provital Group, Nautal efficacy. 2013.

1.1.3 Composición de la uva *Vitis Vinífera:*

La composición del fruto de la vid o uva (Tabla 1) es muy compleja y variada según la procedencia, variedad y tipo de uva. Consta de cantidades variables de glucosa, levulosa, sacarosa y también contiene ácido tánico, ácido tartárico, ácido gálico en forma de sales cálcicas entre otros compuestos. Desde el siglo XIX en muchos estudios se ha investigado

la composición química de las diferentes partes de la uva. Ácidos frutales, taninos y pigmentos son las principales substancias responsables del gusto, olor y color del vino, aunque desde el punto de vista farmacológico los polifenoles, como los flavonoides, son el grupo más importante. (Bombardelli, 1995).

Tabla 1. Composición de la uva *(Vitis Vinifera)* cada 100 g.

COMPONENTES	CRUDA	UVA CON SEMILLA	MOSTO
Agua	80,5 g	16,57 g	85 g
Energía	71 Kcal	296 Kcal	40 Kcal
Proteína	0,66 g	2,52 g	2,5 g
Hidratos de carbono	177 g	78,47 g	8 g
Potasio	185 mg	825 mg	110 mg
Sodio	2 mg	28 mg	110 mg
Fosforo	13 mg	75 mg	10 mg
Calcio	11 mg	28 mg	10 mg
Magnesio	3 mg	30 mg	12 mg
Hierro	0,26 mg	2,59 mg	0,3 mg
Zinc	0,05 mg	0,18 mg	0,05 mg
Vitamina C	108 mg	5,4 mg	5,4 mg

Fuente: Provital Group, Nautal efficacy. 2013.

Algunos polifenoles presentes son: Quercetina, Kenferol, Catequinas, Leucoantocianidinas, Antocianinas y trans-resveratro.

Entre los mayores componentes del fruto de la vid se puede encontrar:

- Ácido tartárico, málico, ascórbico, aspártico, cafeico, cinámico, ferúlico, fumárico, gentísico, glutámico, láctico, oxálico, pantoténico y succínico.
- Flavonoides: proantocianidinas, quercetina, catequinas, epicatequinas y kenferol.
- El resveratrol: polifenol que se encuentra en el fruto y las hojas de la vid. (Bombardelli, 1995).

1.1.4 El mercado vinícola en Colombia

Colombia no es un país de gran tradición vinícola. Actualmente se calcula que sólo el 15% de la población consume vino, especialmente clases acomodadas. Sin embargo, el consumo de vino nacional y de importación ha crecido en los últimos años. El sector del vino en Colombia es un sector que ha sufrido una importante expansión en el último año, volviendo a los niveles que presentaba el mercado en los años 1.999 y 2.000. Hay una importante producción local de vino en Colombia, aproximadamente en un porcentaje de 1 a 3. (ICEX, 2005).

Actualmente, en el viñedo Marqués de Villa de Leyva genera aproximadamente de 200 a 500 kg de cáscara por vendimia, lo cual es usado para compostaje.

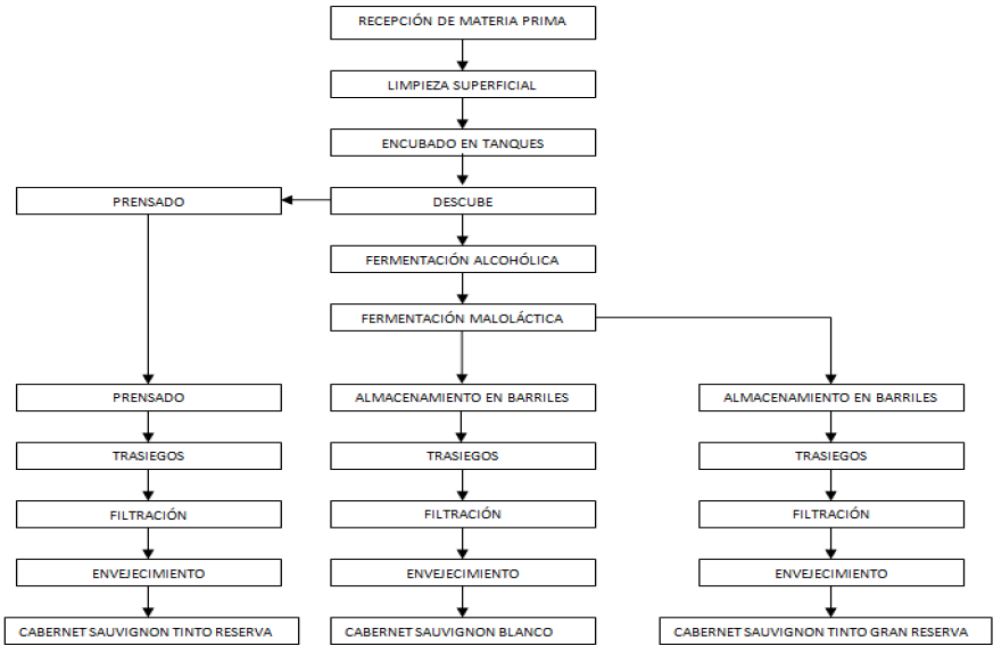
1.1.5 Tendencias del Consumidor

Existen muchos factores que marcan las tendencias de la industria de alimentos. La creciente clase media y aumento de poder adquisitivo son factores determinantes en cuanto al desarrollo de nuevos productos formatos y conceptos. Pero no es sólo este factor el que influye sino también una gran variedad de diversos factores ligados todos al desarrollo de la población a nivel socioeconómico y cultural-educativo. Las empresas se enfrentan a un consumidor potencial con cada vez más conocimiento y cada vez más crítico con los detalles de cada uno de los productos que consume. El consumidor ha optado por ser más específicos en sus reclamos, utilizando ejemplos como: “sin colorantes artificiales” o “sin saborizantes artificiales” (Clifton, 2013).

1.1.6 Proceso productivo del vino

La Recepción de la uva: se realiza por acción mecánica por un transportador de canastillas las cuales no sobrepasan los 25 kg de capacidad. En la figura 2, se especifican las operaciones para la obtención del vino.

Figura 2. Diagrama proceso productivo del vino.



Fuente: Marques de Villa de Leiva, Viñedo. 2015

El transporte se realiza con la mayor rapidez posible debiendo llegar la uva a la bodega el mismo día que es vendimiada, evitando en lo posible el aplastamiento de la uva y un calentamiento excesivo de la misma, el tiempo de transporte es importante para evitar que la uva se empiece a fermentar. Sucesivamente se realiza el pesado y toma de muestra, la cual se corren análisis fisicoquímicos como pH, acidez, estado de madurez; para comprobar el estado sanitario y riqueza en azúcar de la uva.

Se deposita el mosto en los tanques de fermentación para procesarlo y ser convertido en vino. La duración de la fermentación depende de la cinética de la misma, se establece con un parámetro de 6 días para el vino joven y se manejan tiempos más largos para los vinos de reserva. (Marques de Villa de Leiva, Viñedo. 2015).

1.1.7 Productos mínimamente procesados (PMP)

Estos productos presentan características organolépticas y nutricionales similares a las frutas y hortalizas frescas y la ventaja de ser fáciles de utilizar por el consumidor. Su mínimo procesamiento consiste en operaciones de clasificación, lavado, pelado, reducción de tamaño, etc.; por lo cual se comercializan como productos para consumo directo. El principal objetivo que se persigue en la producción de PMP es garantizar durante el período de vida útil establecida, la distribución y comercialización de un producto inocuo y que conserve las características del vegetal fresco. Para la conservación de PMP puede utilizarse determinados compuestos químicos. El empleo de antioxidantes para minimizar o prevenir las reacciones enzimáticas de pardeamiento, los cambios en la textura y el desarrollo de aromas permite prolongar la vida útil y aumentar la calidad de los productos. (Parzanese, 2013).

1.1.8 Situación de la siembra y comercio de las diferentes variedades de papa

El cultivo de papa en Colombia es el de mayor importancia económica en la región alto andina (>2.400 msnm) y ocupa un área aproximada de 127.400 hectáreas. El altiplano

Cundi boyacense, es la principal región productora (concentra alrededor del 64%), un 26% adicional se encuentra entre los departamentos de Antioquia y Nariño y, el restante 10% se distribuye en varios departamentos andinos. En Bogotá se encuentra el principal centro de acopio y de comercialización del tubérculo, al igual que las principales industrias procesadoras, líderes en el contexto de la región andina. La producción promedio anual de papa en Colombia asciende a 3,35 millones de toneladas y se siembran solo variedades nacionales, tanto para industria como para consumo fresco (Corpoica, 2014).

Colombia presenta una amplia gama de variedades de papa debidamente registradas ante el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), con materiales nativos de *Solanum tuberosum* como las variedades Tuquerreña, Salentuna y Argentina. Adicionalmente, existen variedades mejoradas, producto del trabajo de investigación realizado por el Departamento de Investigaciones Agrícolas de Colombia (DIA), el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), la Universidad Nacional de Colombia con el apoyo de entidades públicas y privadas como Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Colciencias, Cevipapa, Fedepapa y, la entrega de nuevas variedades de papa por parte de Corpoica con el apoyo de empresas como Pepsico y Congelagro (Fedepapa, 2014).

Las variedades comerciales de mayor área sembrada en el país son: Pastusa Suprema, entregada a los agricultores por la Universidad Nacional de Colombia y Fedepapa a finales de 2002; es una variedad destinada al consumo fresco, de alto rendimiento agronómico y muy tolerante a la Gota de la Papa (*Phytophthora infestans*); le sigue la variedad Diacol Capiro (conocida comercialmente como R-12 Negra) utilizada como materia prima por la industria, para la exportación y para el consumo en fresco; la variedad tradicional Parda

Pastusa con destino al consumo fresco; la variedad ICA, única con destino a mercado de Boyacá, Santander y Norte de Santander. La variedad Tuquerreña (conocida comercialmente como "Sabanera") consumida principalmente en la ciudad de Bogotá y la variedad Criolla. (Sanabria & Hernández, 2015).

Pastusa Suprema

La planta es erecta de porte intermedio con follaje de color verde ligeramente claro; presenta buena floración con ausencia de frutos y tubérculos con forma redonda aplanada, la piel es de color pardo con ojos semi profundos y pulpa crema. Tiene una adaptación de 2.600 a 3.400 msnm, posee periodo vegetativo entre 5,5 a 6 meses, materia seca: 22 -25%, excelente para consumo fresco, se comporta estable en procesos industriales como en la fritura en hojuelas, posee alta tolerancia a Gota de la Papa (*P. infestans).* La papa es el cultivo más difundido y el producto más consumido a nivel mundial después del maíz, trigo y arroz. Se cultiva en 157 países. Según información relativamente actual, la producción mundial en 2010 alcanzó algo más de 334 millones de toneladas (Faostat, 2013).

Las regiones más productoras son Asia y Europa, y las de mayor consumo por persona son Europa y Norteamérica. En Latinoamérica la papa se cultiva en 25 países. En esta región el año 2007 Colombia ocupó el cuarto lugar en producción con 1.900.000 t después de Perú, Brasil y Argentina (FAO, 2009). En Colombia, el cultivo de papa se encuentra entre los 10 más importantes del subsector de producción vegetal, y entre el primero y segundo del grupo de los cultivos transitorios con 131.183 ha y 1.709.949 t de producción (Agronet, 2012; DANE 2011).

Según H. Villarreal (comunicación personal, Consejo Nacional de la Papa, Bogotá, 2011) sobre generalidades del cultivo de papa en Colombia, para el año 2011 había aproximadamente 90.000 familias dedicadas al cultivo de la papa, generando además una gran demanda de semilla, fertilizantes, pesticidas y otros. En el territorio colombiano este cultivo se encuentra mayormente en la zona Andina, donde el clima es frío, las alturas mayores a 2.000 msnm, terrenos planos y en pendiente, y los suelos moderados a fértiles. Los departamentos con mayor producción en orden de importancia son: Cundinamarca, Boyacá, Nariño y Antioquia, de los cuales los dos primeros aportan cerca del 70% de la producción nacional.

1.1.9 Polifenoloxidasa (PPO) en tubérculos

Las reacciones de oxidación que provocan el pardeamiento en frutas y vegetales son de origen enzimático y están catalizadas principalmente por la enzima polifenoloxidasa, siendo su actividad particularmente alta en aquellos frutos y hortalizas que contienen niveles altos de compuestos polifenólicos. En el procesamiento de alimentos la oxidación suele ser una actividad dañina en las frutas y vegetales, pues entran en contacto con el aire catalizando la oxidación de los compuestos fenólicos naturales o sus correspondientes quinonas, y estás evolucionan de forma espontánea hacia diferentes pigmentos que producen el pardeamiento de las frutas, provocando un aspecto desagradable frente al consumidor y considerables pérdidas económicas. Este pardeamiento produce cambios importantes tanto en la apariencia (colores oscuros) como en las propiedades organolépticas (sabor, textura) de frutas y hortalizas, además de ir asociado al desprendimiento de olores y efectos negativos sobre el valor nutricional. (Hernández -Valdez, 2009).

1.1.10 Inhibidores

El efecto del ácido ascórbico, bisulfito de sodio, y otros reactivos en la reducción de la polifenoloxidasa ha sido polémico en los últimos años. El efecto del bisulfito y ácido ascórbico han sido más estudiados debido a su amplio uso en la industria de alimentos. Los primeros informes indican que el ácido ascórbico no tuvo efecto directo sobre la actividad de la PPO. En 1979, Varoquaux y Sarris sugirieron que el ácido ascórbico no inhibe ni inactiva la enzima. Sin embargo, varios investigadores, reportan la inactivación de la enzima por el ácido ascórbico (Pizzocaro 1993). Últimos estudios demuestran que la acción del ácido ascórbico en la inhibición del pardeamiento es debido a que actúa sobre las quinonas reduciéndolas a o-difenoles no coloreados que son compuestos más estables (García et al. 2005; Marshall et al. 2007).

Otro tipo de inhibidores de pardeamiento comúnmente usados en frutas mínimamente procesadas son: ácido cítrico, ácido málico y como agentes quelantes el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), los cuales son usados en combinaciones para obtener un mayor efecto de inhibición. Los tratamientos para inhibir el pardeamiento enzimático utilizan el ácido ascórbico o sus isómeros como el ácido eritorbico, (d-ácido isoascórbico), ácido cítrico, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), cisteína, y sus derivados. Recientes trabajos presentan al 4-hexilresorcionol como un buen agente inhibidor de pardeamiento en frutas; sin embargo, sólo ha sido aprobado para prevenir la decoloración en camarones (Mc-Evily et al.1991; Guerrero et al.2004).

La inmersión en soluciones calientes de ácido ascórbico/ácido cítrico les permite aumentar el tiempo de vida útil a papas pre-peladas por un lapso de 2 semanas. Sin embargo, altas concentraciones de ácido ascórbico (0.75%) les confiere un sabor desagradable a las frutas (Laurila 2002). El 4-isopropilsalicilaldehido ha sido investigado como un potente inhibidor de la tirosinasa inhibiendo ambas actividades, catecolasa y cresolasa, en champiñones (Song 2005).

A continuación, se nombraran algunos inhibidores usados en la industria alimentaria:

- Agentes reductores: Previenen el pardeamiento enzimático por la reducción de o quinonas a o-difenoles no coloreados. Los compuestos derivados del azufre son los más ampliamente empleados en la industria de los alimentos. Ejemplo el bisulfito ($NaHSO_3$) y sulfitos (H_2SO_3) (Marshall et al. 2007). En esta clasificación también se encuentran el ácido ascórbico y la cisteína, la cual tiene efectos negativos sobre el sabor (Amiot 1997).

- Acidulantes: Los acidulantes son aplicados generalmente para mantener el pH por debajo del punto óptimo de actividad catalítica de la enzima. Acidulantes como el ácido cítrico, málico y fosfórico pueden inhibir el efecto de la PPO. Los acidulantes son usados frecuentemente con otros antioxidantes. (Amiot 1997).

- Quelantes: Las enzimas generalmente poseen iones de metales en su sitio activo. Los agentes quelantes remueven estos iones inactivando a la enzima. Tanto los complejos formados entre los agentes quelantes y los pro oxidantes tales como el cobre o el hierro, son inhibidores. (Amiot 1997).

- Agentes acomplejantes: La más importante propiedad funcional de la ciclodextrina como agente acomplejante es su habilidad para la inclusión de moléculas dentro del núcleo hidrofóbico o ligeramente apolar, convirtiéndose en un excelente inhibidor de pardeamiento en frutas frescas y vegetales crudos. Una gran variedad de compuestos naturales y sintéticos, como los mencionados anteriormente, tienen la capacidad de unirse reversible e irreversiblemente a enzimas específicas y alterar su actividad. Los inhibidores competitivos, no competitivos e incompetitivos son reversibles. (Hicks et al.1990; Otwell et al. 1992).

- Inhibidores de enzimas: El 4-hexilresorcinol, es un compuesto m-difenólico que está estructuralmente relacionado con los sustratos fenólicos, tienen un efecto inhibidor competitivo con la PPO (Mc-Evily et al. 1991; Otwell et al. 1992). La actividad de la monofenolasa y difenolasa de la tirosinasa son inhibidas por el 4-HR. Éste es efectivo a bajas concentraciones, tiene estabilidad química, y presenta alto sinergismo con el ácido ascórbico mientras reduce las quinonas (Guerrero, 2004).

1.1.11 Aditivos

Son sustancias o mezcla de sustancias añadidas a los alimentos, generalmente en pequeñas cantidades, en el momento de su producción, procesamiento, almacenamiento, empaquetado o preparación para el consumo, con objeto de modificar las propiedades de los mismos (apariencia, sabor, textura o conservación). El uso generalizado que la industria alimentaria actualmente hace de este tipo de sustancias obliga a establecer unos

mecanismos de control que regulen su correcta utilización y que verifiquen sus resultados. Para que una sustancia sea admitida como aditivo debe estar bien caracterizada químicamente y debe superar los controles toxicológicos establecidos por parte de los correspondientes organismos sanitarios (Ibáñez; Torre; & Irigoyen, 2006).

Clasificación aditivos

En relación a la clasificación de los aditivos, el criterio que prevalece generalmente tiene que ver con las categorías funcionales, es decir, considerando el objetivo tecnológico perseguido en su utilización.

Los aditivos alimentarios se clasifican según su acción específica en distintos grupos como los siguientes:

Modificadores de los caracteres organolépticos:

- Colorantes
- Agentes aromáticos
- Potenciadores del sabor
- Edulcorantes artificiales

Estabilizadores de las características físicas

- Estabilizantes
- Emulgentes
- Sustancias espesantes
- Sustancias gelificantes

- Antiaglutinantes
- Antiespumantes

Mejoradores y correctores de las propiedades de los alimentos

- Reguladores del pH (acidulantes, alcalinizantes y neutralizantes)
- Gasificantes

(Rebollar, 2000).

1.1.12 Antioxidantes en Alimentos

Todos los seres vivos que utilizan el oxígeno para obtener energía, liberan radicales libres, lo cual es incompatible con la vida a menos que existan mecanismos celulares de defensa que los neutralice, a estas defensas se las denomina antioxidantes. Los niveles bajos de los mismos, o la inhibición de las enzimas antioxidantes causan estrés oxidativo y pueden dañar o matar las células. Los antioxidantes no sólo se encuentran en nuestro cuerpo. También provienen de los alimentos. Es más, la mayoría de los seres vivos dispone de sus propias defensas antioxidantes, y en particular los vegetales. Por ejemplo: la vitamina E de los frutos secos retrasa la pérdida de sus cualidades. Los antioxidantes más estudiados son ciertas vitaminas C, E, A, minerales como selenio, zinc, cobre, y compuestos propios de plantas conocidos como fotoquímicos, entre los que destaca la familia de los polifenoles, que dan color, aroma, etc. a frutas y verduras (Consumer, 2006).

Clasificación de los antioxidantes

- **Endógenos:** (Son normalmente bio-sintetizados por el organismo). En este grupo se encuentran las enzimas: catalasa, superóxido dismutasa y la glutatión peroxidasa, glutatión S transferasas, tioredoxina-reductasas y sulfoci-metionina-reductasas. (Alomar, s.f).

- **Exógenos:** (se obtienen a través de la dieta)

  No enzimáticos, las vitaminas: vitamina. E y vitamina C, los betacarotenos, los flavonoides y los licopenos, fitoestrógenos polifenoles, glutatión, ácido úrico, ubiquinol (Co-enzima Q), melatonina. (Alomar, s.f).

Además de las vitaminas, los oligoelementos como el cobre, el zinc, el manganeso, el selenio y el hierro son necesarios incorporarlos al organismo a través de la dieta, porque conforman la parte activa del núcleo de las enzimas antioxidantes (Alomar, s.f).

1.1.13 Actividad antirradicales libres

El peróxido de hidrogeno no es propiamente un radical libre, pero debido a su capacidad de generar radicales hidroxilos en presencia de metales como el hierro, se incluyen en este grupo (Davies, 1987). La mitocondria es el productor de radicales libres más importante en la célula, generándose constantemente todas estas especies reactivas como intermediarios de la cadena respiratoria mitocondrial (Reilly P; Bukley G. 1990). Los peroxisomas, orgánulos subcelulares que contienen oxidasa, generan gran cantidad de H_2O_2 como

consecuencia de su actividad enzimática. Debido a sus propiedades oxidantes, los radicales libres reaccionan rápidamente con casi cada tipo de molécula biológica hallada en forma libre o formando parte de las diferentes estructuras celulares de los seres vivientes: glúcidos, fosfolípidos, aminoácidos, nucleótidos, ácidos grasos, lipoproteínas y membranas celulares (Saito, Hosoyama. 1998).

1.1.14 Compuestos fenólicos

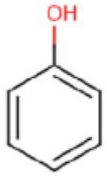
Las plantas sintetizan una gran cantidad de moléculas orgánicas, como consecuencia de su metabolismo secundario. Los fenoles son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Se localizan en todas las partes de las plantas y su concentración es variable a lo largo del ciclo vegetativo. Estos compuestos participan de diversas funciones, tales como la asimilación de nutrientes, la síntesis proteica, la actividad enzimática, la foto-síntesis, la formación de componentes estructurales, la alelopatía y la defensa ante los factores adversos del ambiente. Los fenoles están asociados al color, las características sensoriales (sabor, astringencia, dureza), las características nutritivas y las propiedades antioxidantes de los alimentos de origen vegetal. La característica antioxidante de los fenoles se debe a la reactividad del grupo fenol (Kähkönen et al, 2001; Robbins, 2003).

Estructuras de los compuestos fenólicos

El término fenoles comprende aproximadamente 8000 compuestos que aparecen en la naturaleza. Todos ellos poseen una estructura común: un anillo fenol -un anillo aromático que lleva al menos un sustituyente hidroxilo. En la figura 3, se ilustra la estructura que tiene

un fenol.

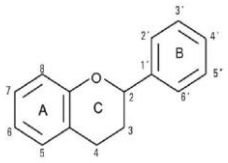
Figura 3. Estructura fenol.



Fuente: Hernández Valdez, 2009.

Los flavonoides son los polifenoles que poseen al menos 2 subunidades fenólicas; los compuestos que tienen 3 o más subunidades fenólicas se denominan taninos (Robbins, 2003). En la figura 4 se ilustra la estructura básica que tienen los flavonoides.

Figura 4. Estructura de los flavonoides.



Fuente: Hernández Valdez, 2009.

Los flavonoides son derivados fenólicos sintetizados en cantidades substanciales por las plantas. Comprenden alrededor de 4000 compuestos identificados, son deriva-dos hidroxilados, metoxilados y glicosilados de la 2 fenilbenzo γ pirano, que consiste en dos anillos benceno combinados por mediación del oxígeno contenido en el anillo 12 pirano. Estos compuestos poseen actividad antioxidante y capacidad para capturar radicales libres (Vinson et al, 1995). Los taninos o polifenoles poliméricos tienen mayor actividad

antioxidante que los fenoles monoméricos simples (Hagerman et al, 1998).

1.1.15 Compuestos fenólicos contenidos en la papa Sabanera

Los compuestos fenólicos presentes en tubérculos de papa incluyen: fenoles monohídricos, cumarinas, flavonas, taninos y lignina (Lisinska, G y Leszcznski, 1989). También se encuentran los ácidos fenólicos tales como clorogénico, cafeico, protocatéquico y p-cumárico, entre varios otros, identificados en papas de pulpa roja y púrpura, así como pequeñas cantidades de rutina, quercetina, miricetina, kaempferol, naringenina y algunos otros flavonoides. (Reyes, L; Miller, J y Cisneros -Zevallos, 2005).

En un estudio realizado en 1000 genotipos de papas andinas por el Centro Internacional de la Papa (CIP) en Perú, se determinó que los ácidos fenólicos, en especial la concentración del ácido clorogénico, representaron una gran proporción en todos los genotipos, entre el 45% y 90% del total del contenido de polifenoles (Andre et al., 2007)

En la investigación realizada por Ahhen, et. al (2012), con doce papas nativas chilenas procedentes de la islas de Chiloe y Valdivia se evaluó el contenido de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu en papas con cáscara y sin cáscara, observándose que existe una variación en las muestras de papas peladas y sin pelar. En papas sin cáscara, el rango de polifenoles totales fue de 191 a 1864 mg /100 g en base seca (BS) mientras tanto estos parámetros variaron desde 345 a 2852 mg /100 g en BS en muestras sin pelar lo que indica una elevada concentración de polifenoles en la cáscara de los tubérculos. Asimismo, en la evaluación de cáscaras provenientes de dos variedades: Penta y Marcy, se detectaron

seis compuestos polifenólicos: ácido gálico, hidroxibenzoico, ácido clorogénico, cafeico, p-cumárico y ácidos ferúlico. En el caso de los ácidos clorogénico y cafeico, se observaron los dos compuestos polifenólicos principales. (Friedman, 2004; Ezekiel, Singh, et al. 2011)

Otro factor que se puede correlacionar con el contenido de polifenoles son las coloraciones rojas y púrpuras de la piel del tubérculo, las cuales pueden llegar a contener el doble de la concentración de ácidos fenólicos en comparación con variedades de piel blanca (Ezekiel et al., 2011), las cuales son las de mayor consumo. Esta característica del color de piel de los tubérculos sobresale en las papas nativas andinas silvestres donde se encuentran diferentes tonalidades entre papas de color amarillo, rojas y púrpuras.

En cuanto a las antiocianinas para los cultivares de papa, se ha encontrado presencia de los p-cumaril -5- glucósido-3-ramnoglucosido de pelargonidina, cianidina, peonidina, delfinidina, petunidina y malvidina (Lachman et al., 2009).

Las principales antocianinas en papas rojas contienen predominantemente glucósidos acilados de pelargonidina, mientras que las papas púrpuras contienen predominantemente glucósidos acilados de petunidina y pelargonidina. Además, en estos últimos tubérculos se agregan en cantidades bajas delfidina y malvidina. Los pigmentos acilados constituyen más del 98% de las antocianinas totales, tanto en tubérculos como en brotes (Fossen et al, 2003).

1.1.16 Actividad biológica de los compuestos fenólicos

El vino tiene una alta capacidad antioxidante, que es función de su contenido en polifenoles. La contribución de cada componente depende de su calidad como antioxidante, concentración e interacción con su microambiente. Leighton (1998), realizó estudios *in vivo* con voluntarios que demostraron que la ingestión de vino tinto está asociada con un aumento de la capacidad antioxidante del plasma, además de un aumento de algunos compuestos polifenólicos en el plasma. Entre los polifenoles del vino se encuentra la catequina. Este compuesto se ha probado *in vivo*, en ratas, como parte de la dieta, verificándose un retardo en el desarrollo de tumores en ratones transgénicos, que normalmente generan tumores (Ebeler et al, 2002)

1.2. ESTADO DEL ARTE

Es sabido que las proantocianidinas, también llamadas procianidinas, son potentes agentes antirradicales libres e inhibidores de la peroxidación lipídica que se encuentran tanto en la piel como en la semilla de la uva. La actividad antirradicales libres del flavan-3,4-diol, una de las estructuras básicas de las proantocianidinas, ha sido demostrada *in vitro* en diferentes modelos bioquímicos que reproducían las condiciones que se dan en estados patológicos tales como la isquemia, la inflamación o la diabetes (Bombardelli, E. & Morazzoni, P., 1995).

En el artículo Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de cáscara de uva (*Vitis Vinífera*) de mesa cultivada en el noroeste de México, se evaluó el contenido de

compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante total (CAT) de la cáscara de 4 cultivares de uva (*Vitis Vinífera*) de mesa, dos verdes (Perlette y Sugra One) y dos rojas (Flame y Red Globe) y la cáscara de una variedad industrial roja (Carignane), el contenido de fenoles totales se determinó por el método de Folin-Ciocalteau. Los contenidos más altos de ácido gálico, resveratrol y rutina se encontró en los extractos que presentaron la mayor CAT, los cuales correspondieron a los cultivares de Carignane, Red Globe y Perlette. Las muestras demostraron tener un gran potencial como uso antioxidante debido a su poder reductor (Molina Quijada, D.A. 2010).

Según un estudio realizado por Spigno G; Tramelli L; De Faveri; DM. 2007, tuvieron como objetivo optimizar la extracción de los compuestos fenólicos de uva e investigar la cinética de extracción (de 1 a 24 h) a 45 y 60 ° C, el efecto del disolvente (etanol con diferente contenido de agua) en rendimiento de fenoles y la calidad de los extractos (concentración de fenoles y el poder antioxidante). La extracción fue un proceso lento, con rendimientos superiores a 60 ° C que, a 45 ° C, y con la degradación térmica aparente de los componentes más allá de 20 h. El rendimiento de los fenoles aumentó con el contenido de etanol del 10% al 30% y se mantuvo constante para el contenido de agua de 30% a 60%, mientras que la concentración de fenoles de los extractos disminuyó con el contenido de agua por encima de 50%. El poder antioxidante (ensayo ABTS) estuvo altamente correlacionado con la concentración de fenoles totales, y no se vio influenciado por el contenido de agua de etanol. Por otra parte, la liofilización no alteró la composición y la propiedad antioxidante de los extractos

Según un estudio comparativo de cuatro métodos de extracción de compuestos fenólicos de bayas de *Vitis Vinífera*, realizado por Hernández & Israel, 2011, se llevó a cabo la extracción mediante el uso de disolventes, procedimiento más utilizado para la recuperación de compuestos fenólicos a partir del material vegetal. En dicho estudio se evaluaron cuatro métodos de extracción de compuestos fenólicos provenientes de semillas y hollejos de bayas del cultivar Carménère (*Vitis Vinífera L.*), analizando las siguientes variables: taninos, antocianos y fenoles totales; propiedades cromáticas, fraccionamiento de taninos, perfil de antocianos (HPLC-DAD) y fenoles de bajo peso molecular (HPLC-DAD).Las extracciones se llevaron a cabo mediante agitación a temperatura ambiente, utilizando mezclas de disolventes con distintas polaridades (metanol/agua 80:20% v/v, acetona/agua 80:20% v/v y etanol/agua 2:98% v/v). El método que utiliza etanol/agua 2:98% v/v (medio vínico diluido) presentó las menores concentraciones en la mayor parte de los compuestos fenólicos analizados, mientras que una extracción con metanol/agua 80:20% v/v y acetona/agua 80:20% v/v en forma consecutiva, permitió alcanzar los niveles más altos de la mayoría de estos compuestos, tanto en semillas como en hollejos. No obstante lo anterior, cuando metanol/agua 80:20% v/v y acetona/agua 80:20% v/v se utilizaron en forma separada, también mostraron altas concentraciones de diversos compuestos fenólicos, diferenciándose con el tratamiento que utiliza estos disolventes en forma consecutiva, sólo en algunos casos. En este estudio, fue posible concluir que el método de extracciones consecutivas, es más extractivo que el medio vínico diluido, para la mayoría de los compuestos fenólicos de las partes sólidas de la uva.

Diversos estudios han demostrado la capacidad antioxidante de las proantocianidinas procedentes de *Vitis Vinifera*. En un estudio realizado por Morazzoni, P., Bombardelli, E.

1995, midieron la capacidad antirradical frente al radical superóxido y la capacidad inhibidora de la peroxidación lipídica de estas proantocianidinas en microsomas de hígado de rata. Los efectos fueron comparados con los resultados obtenidos con las proantocianidinas de *Cupressus Sempervirens*, con las antocianinas de *Vitis Vinifera*, *Vaccinium myrtillus* y *Ribes nigrum*. Las proantocianidinas de *V. vinífera L* demostraron ser el compuesto más activo frente al radical superóxido, IC50= 10 μg/ml, y frente a la peroxidación lipídica, IC50= 16 μg/ml

1.3. MARCO LEGAL

- NTC 1453. Norma técnica Colombiana, aditivos para alimentos, conservantes
- CODEX STAN 192-2007. Norma general del Codex para los aditivos alimentarios
- DECRETO 2606 DE 2009. Aditivos alimentarios, se aplica para los aditivos alimentarios que se produzcan, importen, procesen, envasen
- BPM. Buenas prácticas de manufactura. Decreto 3075 de 1997. Modificado por la resolución 2674 de 2013

2. METODOLOGÍA DE LA EXPERIMENTACIÓN

Para el cumplimiento de los objetivos propuestos en este proyecto de investigación, se trabajó la siguiente metodología, la cual se realizó en el laboratorio de química y planta de frutas y hortalizas ubicados en la Universidad de la Salle, sede Norte.

2.1. OBTENCIÓN DEL MATERIAL BIOLÓGICO.

Se obtuvieron 1200 g de bagazo (cáscara de uva *Vitis Vinifera*, semilla y pulpa) provenientes del viñedo Marques de Villa de Leiva, Boyacá, de la elaboración de vino Cabernet Sauvignon (vino tinto y vino blanco). Del total de la muestra, 600g en proceso de descube y 600 g en proceso de prensado, se empacaron 6 muestras 200 gramos cada una, 3 muestras del bagazo en el proceso de descube y 3 muestras del bagazo en el proceso de prensado. Se trasladaron las muestras del Viñedo hasta la Universidad de La Salle, sede del norte, en una nevera a -4°C, donde fueron liofilizadas.

Las muestras fueron codificadas numéricamente para el proceso de descube (tratamiento 334) y para el proceso de prensado (tratamiento 333).

2.2. LIOFILIZACIÓN DE LA MUESTRA.

Para el proceso de liofilización se usó el liofilizador Thermo, Super modulyo, de la Universidad de la Salle, sede Norte. Se liofilizaron 6 muestras de a 200gr cada uno 1200 gr

en total. 3 muestras del proceso de prensado y 3 muestras de proceso de descube. Se manejaron variables de presión: en condiciones de vacío, temperatura: -80 °C, tiempo de 140 horas. Luego, se envasaron al vacío.

2.3. EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES DE LA CÁSCARA DE LA UVA *Vitis Vinifera* EN EL PROCESO DE PRENSADO Y DESCUBE

Esta metodología es citada según Gracia A. (2007), Paladino & Zuritz. (2011), y Escobar. (2010). Para la extracción y cuantificación de compuestos fenólicos en extractos naturales.

2.3.1. Extracción de los compuestos fenólicos de la cáscara y semillas de la uva *Vitis Vinifera* en el proceso de prensado y descube

Para realizar la extracción, se utilizó la cáscara y semillas de la uva del proceso de prensado y descube, previamente liofilizadas.

Con el primer disolvente trabajado (agua) a 90°C, se usó una dilución (1:10), 10 gr de material biológico y se añadieron 90 ml de disolvente (agua) durante 3 horas.

Con el segundo disolvente trabajado (etanol al 96%) a 76°C, se usó una dilución (1:5), 20 gr de material biológico y se añadieron 80 ml de disolvente (etanol) durante 3 horas.

2.3.2 Cuantificación de los compuestos fenólicos totales en el proceso de descube y prensado por el método Folin – Ciocalteu

Para realizar la cuantificación de los compuestos fenólicos totales, se preparó una solución patrón de ácido gálico de 0,1 g/L, para lo cual se pesaron 25 mg de ácido gálico, se colocaron en un matraz aforado de 25 ml y se llevaron a volumen con agua destilada, luego se preparó una dilución (1:10) con agua destilada. Seguido, se preparó una solución de carbonato de sodio al 20 % pesando 5 g de carbonato de sodio en un matraz aforado de 25 ml, inicialmente se disolvió en 15 ml de agua y se colocó en la placa magnética hasta su completa disolución, finalmente se llevó a su volumen de aforo con agua. A partir de la solución patrón de ácido gálico, en frascos protegidos de la luz, se hicieron las diluciones necesarias con agua destilada para obtener concentraciones de 0 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml, 3 mg/ml, 4 mg/ml y 5 mg/ml, para la preparación de la curva de calibración. Esto se realizó tomando respectivamente 20 µL, 40 µL, 60 µL, 80 µL y 100µL de la disolución patrón de ácido gálico de 0,1 g/L en frascos ámbar de 3 ml, luego se adicionó a cada frasco, 250µL de reactivo de Folin Ciocalteu 1N, se agitó durante 5 min posteriormente se adicionaron 250 µL de la disolución de carbonato de sodio al 20 % a cada celda, se llevó a un volumen final de 2 ml con agua destilada y se dejó reposar durante 2 h. Finalmente se leyó la absorbancia a 760 nm en el espectrofotómetro. Los resultados fueron expresados en mg GAE /gr. (GAE-equivalentes de ácido gálico). Para la cuantificación del contenido fenólico del bagazo de uva se siguió el mismo procedimiento descrito anteriormente. Para ello se trabajó con 20 gr de bagazo de uva del proceso de descube y 20 gr de bagazo de uva del proceso de prensado y cada una por separado se diluyo en 1 ml del disolvente a evaluar (agua o etanol).

2.4. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

A los dos tratamientos, se les llevó a cabo un proceso de filtración para determinar la actividad antioxidante. Se realizó dilución al 10%.

Este procedimiento se llevó a cabo utilizando 10 μL de bagazo de uva del proceso de prensado o descube, y 990 μL de la solución metanólica de DPPH (20 mg/L). Como referencia se usó la misma cantidad de DPPH y 10 μL del disolvente de la muestra. Luego de 30 minutos de reacción a temperatura ambiente y en la oscuridad, se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 517 nm. (Tovar, 2013)

Para cada muestra estudiada los resultados se expresaron como valores TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) mediante la construcción de una curva patrón usando varias concentraciones de antioxidante TROLOX.

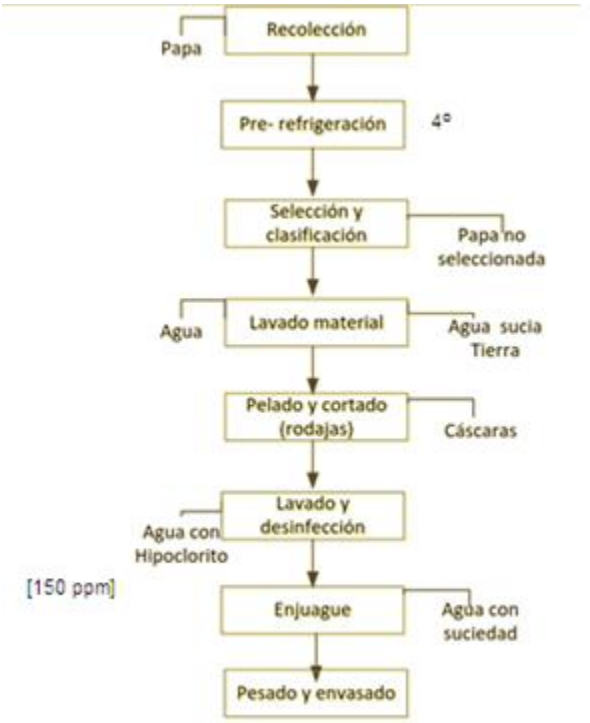
2.5. EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS EN LA INHIBICIÓN DE LA POLIFENOLOXIDASA EN UN PRODUCTO MÍNIMAMENTE PROCESADO REFRIGERADO.

Se realizó el proceso de elaboración del producto mínimamente procesado refrigerado de papa pastusa, seguido se realizó la evaluación del efecto inhibitorio del extracto del bagazo de uva *Vitis Vinifera* del proceso de prensado tratamiento 333 (ya que éste obtuvo mayor contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante), sobre la enzima polifenoloxidasa contenida en la papa pastusa suprema.

2.5.1 Proceso de elaboración de mínimamente procesado de papa pastusa suprema

En la figura 5, se muestra el diagrama de elaboración de un mínimamente procesado refrigerado.

Figura 5. Diagrama de elaboración del mínimamente procesado refrigerado de papa pastusa.



De acuerdo a la figura 5, el proceso comenzó con una recolección de la papa pastusa, donde pasó a un control de calidad inicial donde se evaluaron diversos factores tales como: tamaño, color, condiciones fitosanitarias; su selección y clasificación dependió principalmente de las condiciones en que se encontraba la papa sabanera. Se realizó un lavado de la papa con agua, la cual eliminaba material extraño, tierra, etc. Se realizó un

pelado y un cortado en rodajas, seguido de un lavado y desinfección con hipoclorito y agua 150 ppm para 1 L. Por último, se enjuagó para eliminar el hipoclorito de la papa y se envasaron en un contenedor plástico, para continuar con la metodología.

2.5.2 Inhibición de la enzima polifenoloxidasa de extracto del tratamiento 333.

Se trituraron 40 gr de papa pastusa suprema con 160 ml de agua destilada (a –4°C) durante 3 minutos, luego se centrifugó por 15 minutos a 1500 rpm, el líquido sobrenadante se pasó a un erlenmeyer, y finalmente se colocó en un baño de hielo para ser utilizado como fuente enzimática.

En un erlenmeyer de 250 ml se adicionaron 3 ml de catecol 0,1M y 96 ml de tampón fosfato 0,2 M, pH6 (sustrato). Al sustrato se le adicionó 1 ml del extracto enzimático, luego se homogeneizó y se realizaron lecturas cada 15 segundos por un tiempo de 10 minutos en el espectrofotómetro a 420 nm, usando agua destilada como blanco. El equipo usado fue un Espectrofotómetro UV-Visible – Genesys 10 Vis Thermo spectronic. (Avallone et al, s.f)

Para evaluar el efecto inhibitorio que tiene el bagazo de uva *Vitis Vinifera* sobre la actividad de la PPO frente al catecol como sustrato, se tomaron concentraciones de 0.5% y 1% y se colocó al extracto de enzima y sustrato (como se preparó anteriormente), se realizaron lecturas cada 15 segundos por 10 minutos en el espectrofotómetro a 420 nm, usando agua destilada como blanco.

2.5.3. Porcentaje de inhibición del tratamiento 333 en la inactivación de la enzima PPO.

Cálculo de la actividad enzimática

Para realizar este cálculo se utilizó la ecuación 1:

(Ec. 1) $$\text{UA} = \frac{\Delta A}{t}$$

Donde:

UA = Unidad de Actividad Enzimática.

Δ**A** = Variación de Absorbancia por minuto

t = tiempo (60 segundos)

2.5.4. Cálculo de la actividad específica.

Para realizar este cálculo se utilizó la ecuación 2:

(Ec. 2) $$\mathbf{AE} = \frac{\mathbf{UA}}{\mathbf{mg\ proteína}}$$

Dónde:

AE = Actividad Específica

UA = Unidad de Actividad Enzimática.

Determinación de los mg de proteína:

Para saber el valor total de proteína presente en 1ml de agua se realizó la siguiente relación teniendo en cuenta que el extracto enzimático se obtuvo a partir de 40 g de papa pastusa en 160 ml de agua destilada.

De acuerdo con la base de datos del ICBF en cuanto a valores de aporte nutricional de los alimentos se encontró que la papa contiene un total de 1.9g de proteína por cada 100g de producto, teniendo en cuenta esto se determinó la cantidad de proteína presente en el extracto se la siguiente forma:

$$\frac{1\cancel{ml} * 40\text{g}}{160\cancel{ml}} = 0.25\text{g de pulpa fresca}$$

Por tanto:

$$\frac{1.9\cancel{\text{g}} * 0.25\ \text{g}}{100\cancel{\text{g}}} = 4.75 * 10^{-3}\text{g de proteina} = \mathbf{4.75\ mg\ de\ proteina}$$

2.5.5. Cálculo del porcentaje de inactivación de la enzima polifenoloxidasa con bagazo muestra 333 como inhibidor

Para el cálculo del porcentaje de inhibición se utilizó la ecuación 3:

(Ec. 3) $$\%\ \text{de inhibicion} = \left(\frac{\text{AE Tratamiento.} - \text{AE Control.}}{\text{AE Tratamiento.}}\right) * 100$$

Todo el ensayo se realizó por duplicado: para patrón, concentración al 0.5% y concentración al 1%.

2.6. COMPARACION ENTRE EL ADITIVO COMERCIAL METABIFULFITO DE SODIO Y EXTRACTO DEL BAGAZO DEL VINO EN UN PRODUCTO MINIMAMENTE PROCESADO REFRIGERADO DE PAPA PASTUSA

El color se midió a través de los parámetros L* (luminosidad de negro a blanco), a*(color de rojo a verde), b* (gradiente del azul), utilizando un colorímetro Minolta con iluminante C, observador 2°, y se calibró con placa blanca en el espacio de color CIELAB.

Se evaluó el aditivo comercial metabisulfito de sodio y el extracto del tratamiento 333 en una concentración de 0,75%, en un producto terminado para ambas. (Según el CODEX lo permitido para metabisulfito de sodio en un alimento es máximo del 1%). Se aplicaron con una brocha sobre la papa pastusa mínimamente procesada y un blanco sin ningún antioxidante, se almacenaron en un contenedor plástico (aprox. 6 trozos de papa), en un refrigerador a 3,7°C y una humedad relativa de 44%. Se midieron los parámetros del color por triplicado desde el día 1 al 11, con una toma al día.

Con los datos obtenidos se aplicó la siguiente ecuación para identificar las diferencias globales de color en la muestra:

(Ec. 4) $$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

Los valores para determinar si la diferencia global de color fue apreciable para el ojo humano fue la siguiente:

ΔE < 1: la diferencia global de color no es obvia para el ojo humano.

1 < ΔE < 3: la diferencia global de color no es apreciable para el ojo humano.

ΔE > 3: la diferencia global de color es obvia para el ojo humano.

2.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Para realizar el análisis estadístico, se utilizó el software Minitab 16. Para identificar cuál de las dos muestras estudiadas (tratamiento 333 y tratamiento 334) tuvo un mejor comportamiento en cuanto a cuantificación total de fenoles y actividad antioxidante, con dos tipos de solventes (agua o etanol), porcentaje de inhibición del tratamiento 333 en la enzima polifenoloxidasa y para comparación de color en papa pastusa mínimamente procesada con un aditivo comercial frente a un aditivo natural (tratamiento 333) y un patrón.

Cuantificación fenoles totales y actividad antioxidante.

- Contenido de fenoles totales vs solvente (agua y etanol) y muestra (tratamiento 333 y tratamiento 334).
- DPPH vs solvente (agua y etanol) y muestra (tratamiento 333 y tratamiento 334).

Efecto de los compuestos fenólicos en la inhibición de la polifenoloxidasa.

- Actividad enzimática (UA) vs muestra (patrón, tratamiento 333 al 0.5% y tratamiento 333 al 1%).
- Actividad específica (AE) vs muestra (patrón, tratamiento 333 al 0.5% y tratamiento 333 al 1%).
- Porcentaje de inhibición vs muestra (patrón, tratamiento 333 al 0.5% y tratamiento 333 al 1%).

Para determinar diferencias o el efecto significativo entre los tratamientos se realizó un análisis ANOVA con un intervalo de confianza del 95%. Si existieron diferencias en las medidas se corrió por la prueba de Tukey

- **Hipótesis nula:** La variable no tiene efecto significativo sobre la cuantificación de la respuesta.
- **Hipótesis alterna:** La variable sí tiene efecto significativo sobre la cuantificación de la respuesta

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

A continuación, se presentan los resultados obtenidos de la evaluación del extracto del bagazo de la uva *Vitis Vinifera* como antioxidante en papa pastusa suprema mínimamente procesada.

3.1. Cuantificación de los compuestos fenólicos totales en el proceso de descube y prensado.

Se realizó la cuantificación de fenoles totales contenidos en el tratamiento 333 y en el tratamiento 334 (Tablas 2 y 3) utilizando como disolventes agua y etanol. Los resultados fueron reportados en mg GAE /gr. (GAE-equivalentes de ácido gálico).

Tabla 2. Cuantificación de fenoles totales utilizando agua como disolvente.

EXTRACCION DISOLVENTE (Agua)	TRATAMIENTO	FENOLES TOTALES (mg GAE/gr)	PROMEDIO (mg GAE/gr)	DESVIACION (mg GAE/gr)
1	333	8530,2	8594,8	± 16,03
2	333	8631,7		
3	333	8622,51		
1	334	5056,1	5041,2	± 118,09
2	334	5109,4		
3	334	4958,1		

Tabla 3. Cuantificación de fenoles totales utilizando etanol como disolvente.

EXTRACCION DISOLVENTE (Etanol)	TRATAMIENTO	FENOLES TOTALES (mg GAE/gr)	PROMEDIO (mg GAE/gr)	DESVIACION (mg GAE/gr)
1	333	19010,79	19010,85	± 101,68
2	333	19077,41		
3	333	18944,29		
1	334	6085,23	6012,5	± 182,38
2	334	6090,99		
3	334	5860,98		

Debido a resultados obtenidos en la cuantificación de fenoles totales tabla 3, se evidencia que los valores más altos corresponden al tratamiento 333 usando como disolvente etanol; siendo el valor de la muestra (prensado) significativamente más alto, con un promedio de 19010 mg GAE/g y desviación de ±101,68 mg GAE/g; el bagazo está constituido por, piel, semillas, pulpa de uva en los cuales se encuentra la mayor cantidad de compuestos polifenólicos especialmente en las células epidérmicas, en las pepas y en la pulpa. La cantidad y calidad de polifenoles en la uva depende, principalmente, de la variedad de la vid, del clima, del terreno y de las prácticas de cultivo, factores tales como la temperatura y la acción mecánica producida en el proceso de prensado pudo influir en la concentración de polifenoles totales según lo reportado por (Leighton & Urquiaga, 1999).

Al comparar la concentración del contenido fenólicos en los tratamientos 333 y tratamiento 334 se observó que empleando agua caliente como disolvente, es posible preparar extractos activos, pero se tiene una mayor concentración en la extracción utilizando etanol como disolvente. Esto coincide con lo observado por otros autores en diferentes materiales vegetales. (Kähkönen et al. 2001).

El aumento en la concentración del contenido de polifenoles totales utilizando etanol como disolvente posiblemente se debe a que la capacidad de capturar anión super-óxido es mayor, a medida que el grado de polimerización de los flavanoles aumenta, también la actividad antiúlcera de una serie de procianidinas aumenta a medida que crece el grado de polimerización de la unidad catequina, lo anterior se ratifica por estudios trabajados por Yamaguchi et al, (1999), en uva. Por otra parte, los resultados sobre los diferentes

tratamientos para realizar la concentración de los compuestos fenólicos, es posible que la temperatura de 90°C a la que fue sometido el extracto durante el proceso de concentración, haya actuado favoreciendo la polimerización, explicando de este modo el aumento relativo del poder reductor del extracto concentrado, según lo trabajado por Yamaguchi et al, (1999).

Teniendo en cuenta los resultados del análisis estadístico ANOVA de dos factores, entre el contenido de fenoles totales vs solvente (agua o etanol) y muestra (tratamiento 333 y tratamiento 334), se evidencia que existen diferencias significativas con ($P<0.05$) por lo cual se rechaza la hipótesis nula. De acuerdo a la gráfica de interacción para fenoles totales, se evidencia que el contenido fenólico fue mayor al emplear el tratamiento 333 en comparación con el tratamiento 334. Asimismo, al emplear el tratamiento 333, se obtuvo un mayor contenido fenólico al emplear etanol como disolvente para la extracción. En el caso del tratamiento 334, no se observan diferencias significativas en el contenido fenólico al emplear etanol y agua. Ver anexo B.

3.2 Actividad antioxidante

A continuación, se presentan los resultados obtenidos de la actividad antioxidante con agua y etanol como disolvente (Tablas 4 y 5).

Tabla 4. Actividad antioxidante tratamiento 333 y tratamiento 334.

EXTRACCION DISOLVENTE (Agua)	TRATAMIENTO	DPPH (µm Trolox/gr)	PROMEDIO (µm Trolox/gr)	DESVIACION (µm Trolox/gr)
1	333	918,7	854,39	± 59,41
2	333	859,29		
3	333	785,2		
1	334	665,01	664,59	± 13,42
2	334	661,01		
3	334	667,77		

Tabla 5. Actividad antioxidante tratamiento 333 y tratamiento 334.

EXTRACCION DISOLVENTE (Etanol)	TRATAMIENTO	DPPH (µm Trolox/gr)	PROMEDIO (µm Trolox/gr)	DESVIACION (µm Trolox/gr)
1	333	1592,36	1592,36	± 40,70
2	333	1633,06		
3	333	1551,66		
1	334	657,46	643,3	± 15,83
2	334	649,53		
3	334	622,91		

Como se observa en la tabla 4 y tabla 5, el tratamiento 333 con etanol como disolvente, presentó mayor capacidad antioxidante, con un promedio de 1592,36 µm Trolox/gr y desviación de ± 40,70 µm Trolox/gr.

La variación del poder antioxidante presentada en los tratamientos 333 y 334, es directamente proporcional a la variación de la concentración de fenoles totales que existe, esto se debe a; distintos contenidos de concentraciones de ácidos cinámicos y benzoicos, antocianos, catequinas, taninos y flavanoides. Cada uno de estos grupos fenólicos se comporta de forma diferente respecto de su poder reductor. Según, Frankel et al. (1993).

Por otra parte Fuhrman et al. (2001) sostienen que los distintos polifenoles poseen diferentes capacidades antioxidantes, las cuales están relacionadas con sus estructuras químicas, por lo tanto, para una misma concentración de fenoles totales pueden obtenerse diferentes valores de poder reductor en un extracto, dependiendo de cuáles grupos fenólicos se han extraído. Esta situación puede observarse cuando se comparan los extractos obtenidos empleando como disolventes agua y acetona. El agua extrae mayor cantidad de polifenoles totales que la acetona, pero el poder reductor del extracto logrado con acetona es levemente mayor que el poder reductor del extracto acuoso.

Teniendo en cuenta los resultados del análisis estadístico ANOVA de dos factores, entre DPPH (µm Trolox/gr) vs solvente (agua o etanol) y muestra (tratamiento 333 y tratamiento 334), se evidencia que existen diferencias significativas con ($P<0.05$) por lo cual se rechaza hipótesis nula. De acuerdo a la interacción para DPPH, se evidencia que la actividad antioxidante fue mayor al emplear el tratamiento 333 en comparación con el tratamiento 334. Asimismo, al emplear el tratamiento 333, se obtuvo una mayor capacidad antioxidante al emplear etanol como disolvente para la extracción. En el caso del tratamiento 334, no se observan diferencias significativas en el contenido fenólico al emplear agua y etanol. Ver anexo C.

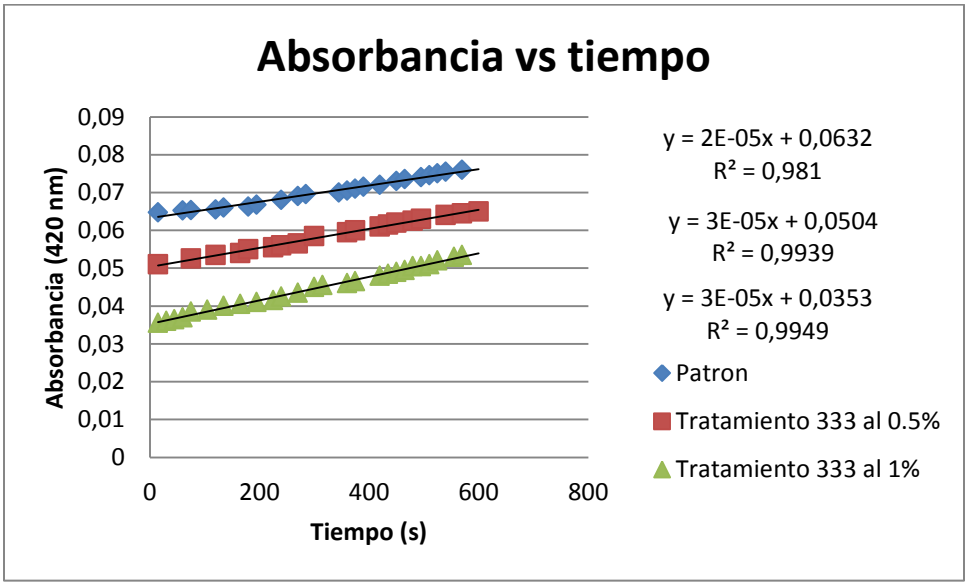
Por otra parte, lo trabajado por Landrault et al. (2001), establecieron una relación directa entre la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales en vinos, donde se expresa la influencia de los disolventes en la concentración fenólica, como el poder antioxidante o reductor del extracto. Debido a los resultados obtenidos y basados en las referencias bibliográficas citadas y al análisis estadístico ANOVA, se seleccionó el tratamiento 333

(prensado) utilizando etanol como disolvente para la extracción, como el tratamiento que arrojó mayores concentraciones en compuestos fenólicos y capacidad antioxidante expresada en porcentaje de captura del radical libre DPPH, para continuar con la metodología propuesta.

3.3. Evaluación del extracto 333 en la actividad de la polifenoloxidasa en papa pastusa.

Se evaluó la absorbancia en papa pastusa mínimamente procesada en muestra: sin ningún tipo de inhibidor, tratamiento 333 al 0,5% y tratamiento 333 al 0,1% (Gráfica 1).

Gráfica 1. Absorbancia de papa pastusa mínimamente procesada en muestra patrón, tratamiento 333 al 0,5% y tratamiento 333 al 1%.



Como se observa en la gráfica 1, a medida que transcurre el tiempo hay un aumento de la absorbancia, ya que la presencia de la PPO en la papa usando como sustrato (catecol) trae

como consecuencia el inevitable cambio de coloración del tejido dañado, en este momento la enzima está completamente saturada con el sustrato, causando la desaparición de éste sustrato (catecol). Es importante tener en cuenta que el efecto del pH en el sustrato controla la actividad enzimática de la polifenoloxidasa (PPO), como lo indica Fennema (2010), lo cual se pretendió hacer en la experimentación, ya que a cualquier reacción de la PPO frente al medio la activaría, lo cual tuvo en cuenta el tampón fosfato a 0.2 M como solución amortiguadora, el cual controlo los cambios que tuvo el pH, frente adiciones de ácido o base. Esto es de vital importancia ya que solamente un leve cambio en la concentración de hidrogeniones en la célula puede producir un paro en la actividad de las enzimas, lo cual llevaría a una completa desnaturalización de la enzima, haciendo que no se pudiese determinar la actividad de la PPO. La polifenoloxidasa se encuentra en la vacuola y ésta al ocupar gran parte del volumen de la célula, al destruirse liberan proteasas al medio, lo cual, hace que el pH del medio disminuya y la enzima se inactive. (Arnes, 2007).

El sustrato forma un sitio activo con la enzima PPO, lo cual hace que se pueda controlar la actividad enzimática. En el momento que se rompe por un daño mecánico, como el triturado, corte o congelación y descongelación, la reacción de pardeamiento se puede producir. También se produce la inhibición de la enzima por los productos de la reacción. Por lo tanto, se debe tener cuidado con la concentración de sustrato, pH, contacto con el oxígeno, y control de la temperatura. Cualquiera de estas variables que no se controle bien, provocará la activación de la PPO, lo cual llevará a la aparición del pardeamiento enzimático.

Como se observa en la gráfica 1, la actividad de la enzima polifenoloxidasa de papa pastusa mínimamente procesada donde el catecol se comporta como sustrato y el tratamiento 333

como inhibidor al 0.5% y .01%, actuó directamente sobre la enzima, éste tuvo la capacidad de mantener el pH debajo de su punto óptimo el cual es de 7,5 (Mayorga, Blanca. 2007), permitiendo así la captura de iones Cu++ que se forman en el sitio activo de la enzima y son una especie de cofactores que promueven reacciones oxido- reducción y produce daños en el flavor del tubérculo.

En relación con lo descrito por Torres y Carminah (1983) se hace contexto a una inhibición acompetitiva de carácter irreversible, porque hay una tentativa de formación enzima-sustrato- inhibidor, que evita la generación de otro producto y es claro porque a medida que paso el tiempo hubo un aumento de la absorbancia.

Existen varios factores por los que este tipo de alimento es más susceptible a la oxidación; en este caso se trabajó con una papa en estado óptimo (en cuanto a su maduración) la cual como era un tubérculo más joven el cual es más susceptible a la oxidación ya que posee una mayor cantidad de grupos fenólicos.

3.3.1. Porcentaje de inhibición del tratamiento 333 en la inactivación de la enzima PPO.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 6:

Tabla 6. % de Inhibición para tratamiento 333 al 0,5 % y tratamiento 333 al 1 %.

MUESTRA	UA	AE	% INHIBICION
PATRON	0,00075 (0,000070)	0,000158 (0,000014)	-
TRATAMIENTO 33 AL 0,5%	0,000933 (0,000094)	0,000196 (0,000019)	**19,62%** (0,544)
TRATAMIENTO 33 AL 1%	0,0012 (0,000094)	0,000253 (0,000019)	**37,54**% (0,985)

Como se observa en la tabla 6, se obtuvo un porcentaje de inhibición mayor (37%) en la concentración de 1% de extracto, mientras que en la concentración de 0.5% se obtuvo un porcentaje de inhibición menor (19%), esto se debe a la cantidad de flavonoides presentes, en los cuales comprenden un grupo de compuestos polifenólicos ampliamente distribuídos (Van Acquire. 1996). Es esta muestra de 0.5% de concentración deben estar presentes moléculas fenólicas de compuestos altamente polimerizados con pesos moleculares mayores de 30000 Da, los cuales son los encargados de la inhibición. (Würsch, Bravo. 1998). Otras investigaciones han evaluado la actividad antioxidante de los flavonoides polifenólicos por vía enzimática o no enzimática, según estudios basados en la medición de la producción de malonildialdehido (MDA) a través del ensayo de sustancias reactivas con el ácido tiobarbitúrico (SRATB). La mayoría de los resultados ponen de manifiesto que aquellos compuestos con sustituyentes dihidroxílicos en posiciones 3' y 4' en el anillo B se muestran los más activos y que este efecto es potenciado por la presencia de un doble enlace entre los carbonos 2 y 3, un grupo OH libre en la posición 3 y un grupo carbonilo en la posición 4; como sucede con la quercetina. (Trueba, Márques. 1997) Por otra parte se

evidencia que las agliconas de los flavonoides resultaron tener mayor potencia antilipoperoxidativa que sus correspondientes glicósidos (Ratty, A.K. 1998).

Teniendo en cuenta los resultados del análisis estadístico ANOVA unidireccional, entre actividad enzimática (UA) vs muestra (patrón, tratamiento 333 al 0.5% y tratamiento 333 al 1%), se evidencia que no existen diferencia significativas entre actividad enzimática y muestra con ($P>0.05$).Por lo cual se acepta la hipótesis nula. Ver anexo D.

Para el análisis estadístico ANOVA unidireccional, entre la actividad específica (AE) vs muestra (patrón, tratamiento 333 al 0.5% y tratamiento 333 al 1%), se evidencia que existen diferencias significativas entre actividad enzimática y muestra con ($P<0.05$), lo cual se rechaza la hipótesis nula. De acuerdo a la información usando el método Tukey, el tratamiento 333 al 1% y patrón son significativamente diferentes, ya que no compartieron ninguna letra. Ver anexo E.

Por último, para el análisis estadístico ANOVA unidireccional, entre el porcentaje de inhibición vs muestra (patrón, tratamiento 333 al 0.5% y tratamiento 333 al 1%), se evidencia que existen diferencias significativas entre el porcentaje de inhibición y la muestra con ($P<0.05$), usando el método Tukey todas las muestra son significativamente diferentes ya que no compartieron ninguna letra. Ver anexo F.

3.4. Comparación de aditivo natural frente aditivo comercial (metabisulfito) en un producto mínimamente procesado refrigerado de papa pastusa

A continuación, se presentan los resultados obtenidos de colorimetría para identificar las diferencias globales (Tabla 7) que existieron en el producto mínimamente procesado de papa pastusa, con patrón (muestra que no contenía ningún tipo de antioxidante), muestra con metabisulfito de sodio y tratamiento 333 (bagazo).

Tabla 7. Diferencias globales de color en muestra patrón, muestra con Metabisulfito y tratamiento 333

MUESTRA	DIAS	L*	a*	b*	ΔE
PATRON	1	64,04	-2,14	14,47	4,76
	11	66,39	1,25	16,85	
METABISULFITO	1	67,99	-2,67	17,13	2,64
	11	69,00	-0,46	18,15	
BAGAZO MUESTRA 333	1	68,80	-3,04	14,39	2,81
	11	68,07	-0,88	12,76	

Los alimentos en fresco poseen diferentes atributos sensoriales (color, textura, olor y sabor), atributos que son los primeros en ser evaluados por el consumidor, permitiéndole indicar el nivel de calidad de éstos al momento de adquirirlos. La principal propiedad organoléptica que se ve afectada en las frutas y hortalizas es el color, debido a la reacción enzimática provocada principalmente por la polifenoloxidasa (PPO), lo que nos permitió evaluar el cambio de color que sufre un alimento con el transcurso del tiempo, luego de ser sometido algún tipo de corte y expuesto al oxígeno. El espacio de color tridimensional L*a*b*, define las magnitudes colorimétricas que se derivan matemáticamente de los

valores tri-estímulo y pueden considerarse como la respuesta de los observadores patrones a un estímulo luminoso. El color que exhiben las frutas se atribuye a la presencia de pigmentos como carotenoides, antocianinas, entre otros, los cuales les confieren las tonalidades amarillas, anaranjadas, rojizas, violetas o verdes características. Los carotenoides son los pigmentos naturales responsables de los colores amarillos, anaranjados y rojos en muchas frutas y vegetales, tales como mango, naranja, tomate y zanahoria, entre otros; aunque también han sido encontrados en hongos, algas, bacterias, insectos, pájaros y crustáceos (Guerrero,2009).

De acuerdo a los datos obtenidos durante 11 días, se evidenció los cambios de color ocurridos en el mínimamente procesado de papa pastusa; Para dicho tratamiento se registraron los datos, utilizando las coordenadas de color CIELAB (L*, a*, b*) para observar los cambios significativos con respecto a la luminosidad (L*), intensidad de color de verde a rojo (a*) y finalmente la intensidad de color de azul a amarillo (b*). En cuanto a *L (luminosidad) , se presentó un aumento para todas las muestras (blanco, muestra con metabisulfito y tratamiento 333), pero los valores no cambiaron de una manera drástica, ya que los valores se encuentran muy cercanos para los tres; esto se debe a que la muestra va perdiendo una intensidad en cuanto a su color y esto produjo una oxidación de los pigmentos presentes en el alimento, pero hubo mejor comportamiento para el tratamiento 333 ya que este tuvo valores más altos (más cercano a 100) lo cual indica que la papa tenía un color más claro. En cuanto a las coordenadas para a*, el blanco tiende a acercarse hacia las coordenadas positivas, lo cual indica notablemente que se comenzó a formar los pigmentos rojizos en la papa a causa de la oxidación, esto no se presentó con el tratamiento 333 ya que este siempre tuvo valores negativos. Por último, las coordenadas para b*, para el tratamiento 333, éste presentó colores menos amarillos a comparación de la muestra con

metabisulfito, ya que se evidenció que al trascurrir los días éste tomó colores más amarillos lo cual demostraba que era más notable la oxidación.

De acuerdo a las diferencias globales de color, el patrón presento un ΔE de 4,76 lo cual indica una diferencia global de color obvia para el ojo humano ya que esta muestra presentó cambios de color notables (pigmentos oscuros) en el trascurso de los 11 días. Para las muestras con metabisulfito de sodio y tratamiento 333 (bagazo), se obtuvieron valores entre 1 y 3, lo cual se relaciona con diferencias globales de color no apreciables para el ojo humano (contenía pocos pigmentos oscuros). Dichos resultados corroboran el poder inhibitorio frente al pardeamiento enzimático de ambos compuestos (metabisulfito de sodio y tratamiento 333) ya que las diferencias globales de color tras 11 días de almacenamiento no serían apreciables para el consumidor.

Para la toma de color, se realizó previamente un corte lo que implica que el mínimamente procesado de papa pastusa, pierda una parte significativa de su fuerza, ya que hubo un des compartimiento en la estructura de la célula por la lesión que tuvo el alimento, lo que generó una señal al ADN, de este al $ARN_{m,}$ lo que provoca la síntesis de proteínas y posteriormente la reacción enzimática.

A continuacion se muestran imágenes del producto minimamente procesado de papa pastusa. (Blanco, muestra con metabisulfito y tratamiento 333).

Figura 6. Papa pastusa sin muestra (Muestra blanco). Día 11.

Figura 7. Papa pastusa con aditivo comercial (Metabisulfito de Sodio). Día 11.

*Figura 8.*Papa pastusa con muestra de bagazo de vino tratamiento
333 como aditivo. Día 11.

Figura 9. Papa Pastusa blanco (sin aditivo), Papa Pastusa con Metabisulfito de Sodio y Papa pastusa con bagazo de vino tratamiento 333 como aditivo. Día 11.

De acuerdo a las figuras 6, figura 7 y figura 8, se evidencia cambio de color entre las tres imágenes, de tonos oscuros a tonos claros, el mejor comportamiento lo tuvo el producto mínimamente procesado de papa pastusa que contenía el bagazo de vino (tratamiento 333), figura 8, en 11 dias en refrigeración, seguido del producto mínimamente procesado de papa pastusa que contenía metabisulfito de sodio, figura 7, en 11 de refrigeración. Lo cual suponemos que los dos aditivos pueden ser de uso en la industria, contando con un químico que es usado actualmente y nuestro extracto de uva que puede ser usado como un aditivo natural.

4. CONCLUSIONES

Referente al uso de disolventes en la extracción y cuantificación de compuestos fenólicos, la investigación arrojó que en el proceso de prensado (tratamiento 333) el contenido fenólico fue mayor al proceso de descube (tratamiento 334) con el uso de etanol como disolvente, aportando valores en los compuestos fenólicos de 19010,85 mg GAE/gr y 6012 mg GAE/gr respectivamente. Así mismo se correlacionó la actividad antioxidante con los compuestos fenólicos dando como resultado que el tratamiento 333 usando etanol como disolvente presentó mayor actividad antioxidante, mostrando valores de 1592,36 µm Trolox/gr.

La concentración de 1% del bagazo del proceso de prensado utilizado como inhibidor sobre la actividad enzimática de la polifenoloxidasa, tuvo un porcentaje de inhibición del 37%, y un mejor comportamiento en cuanto a lo estadístico, comparado con la concentración de 0,5%, el cual arrojó un porcentaje de inhibición del 19%, lo anterior permite el planteamiento del uso del bagazo del proceso de prensado como un inhibidor sobre la polifenoloxidasa en un producto mínimamente procesado refrigerado de papa pastusa suprema.

El bagazo producido en la elaboración del vino Cabernet Sauvignon tiene características antioxidantes, al prolongar la vida útil del mínimamente procesado por 11 días de almacenamiento en condiciones de refrigeración, en cuanto al color (diferencias globales de color no apreciables para el ojo humano). Esta es la razón por la cual este trabajo aporta a la investigación el potencial de ser implementado como un aditivo natural en la industria

alimentaria logrando así el aprovechamiento de un subproducto y generando un valor agregado.

5. RECOMENDACIONES

Se recomienda procesar el bagazo obtenido del proceso de elaboración de vino en el menor tiempo posible para garantizar la calidad de la muestra y la conservación de los componentes bio-activos presentes en la misma.

Con el fin de mejorar las investigaciones acerca de los metabolitos presentes en el bagazo del proceso de elaboración de vino, se recomienda cuantificar e identificar la cantidad de polifenoles, y sus clases por medio de la prueba cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC).

Se sugiere hacer uso de diferentes tipos de inhibidores en papa; por ejemplo: ácido cítrico, ácido ascórbico, etc, para realizar una comparación más amplia.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Agronet (2012). Estadísticas de producción nacional de papa. En: ttp://www.agronet.gov.co; consulta: Diciembre de 2015.
- Ah-hen, K., Fuenzalida, C., Hess, S., Contreras, A., & Vega-gálvez, A. (2012). Antioxidant capacity and total phenolic compounds of twelve selected potato landrace clones grown in southerchile. *Chilean Journal Of Agricultural Research*., 72, 3–9.
- Alomar, M. F. (s.f). Soarme. Recuperado el 27 de Junio de 2014, de http://www.soarme.com/archivos/1324143195.pdf
- Amiot, M.J., et al. Phytochemistry of fruits and vegetables. (1997) En: *Phenolic compounds and oxidative mechanisms in fruit and vegetables.*, Oxford: Clarendon Press. 51-85.
- Andre, C. M., Ghislain, M., Bertin, P., Oufir, M., Herrera, M. D. R., Hoffmann, L., Hausman, J.-F., et al. (2007). Andean potato cultivars (Solanum tuberosum L.) as a source of antioxidant and mineral micronutrients. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 55(2), 366–78.
- Arnes, M. (febrero de 2007). *universimayor*. Obtenido de http://profesoramaribelarnes.files.wordpress.com/2009/10/guia-nc2ba-3-enzimas-agronomia-2010.pdf
- Avallone, C., Cravzov, A., Montenegro, S., & Pellizzari, E. (s.f). *Estudio de la actividad de la peroxidasa, pectinesterasa y polifeniloxidasa en extracto enzimatico*

de Zandia (Citrullus vulgaris Schard). Argentina: Laboratorio de Tecnología Industrial III - Laboratorio de Química Analítica Instrumental.

- Bombardelli, E. & Morazzoni, P. (1995). Vitis vinifera L. *Fitoterapia,*; 66 (4): 291-317 (ref. 188).
- Bravo, L. (1998) Nutr. Rev. 56: 317-33.
- Calvo Rebollar, M. (2000). Aditivos Alimentarios. Propiedades, aplicaciones y efectos sobre la salud
- Calvo, M. (s.f). *Bioquimica de los Alimentos*. Recuperado el 28 de Junio de 2014, de http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/enzimas/tirosinasa.html
- Clifton, J. (2013). 10 Tendencias globales de la industria de alimentos.
- Consumer, E. (2006). Antioxidantes. Alimentacion contra el envejecimiento. *Revista Consumer*
- Corpoica, E. (2014). Recuperado el 10 de octubre de 2014, de http://www.corpoica.org.co/sitioweb/Noticias/vernoticia.asp?id_noticia=1498
- Davies KJA.(1987) Protein damage and degredation by oxigen radicals. *J Biol Chem*, 9895-896
- Dimitrios, B. (2006). Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends In Food Science & Technology*, 17(9), 505–512.
- Domingo, Xabier. *El Vino*. España: R & B Ediciones, 4ta edición, 1995.
- Ebeler, S.; Brenneman, C.; Gap-Soon Kim; Jewell, W.; Webb, M.; Chacón Rodríguez, L.; Mac Donald, E.; Cramer, A.;Levi, A.; Ebeler, J.; Islas-Trejo, A.; Kraus,A.;

- Ehecatl R. C., *Disolventes y métodos de reacción no convencionales.* Master en Química Sostenible año 2008-2009 de la Universidad de Zaragoza

- Escobar, M. (2010). *Extracción de compuestos fenólicos de las cáscaras de cítricos producidos en México.* Mexico: Escuela Nacional de Ciencias Biologicas.

- Ezekiel, R., Singh, N., Sharma, S., & Kaur, A. (2011). *Beneficial Phytochemicals In Potato* — a review. Food Research International, 1–10.
- Faostat. (2013). Dirección de estadística. En:http://faostat.fao.org /DesktopDefault. aspx?PageID=567&lang=es#ancor; consulta: Diciembre de 2015.
- Fedepapa. (2014). Recuperado el 10 de 10 de 2014, de http://www.fedepapa.com/?page_id=1898
- Fennema , Owen et all (2010) . *Química de los alimentos*. Zaragoza: Acribia
- Fernández, G. (28 de Mayo de 2012). *Quimica organica*. Recuperado el 28 de Junio de 2014, de http://www.quimicaorganica.net/extraccion.html
- Frankel. E.; German, J.; Kinsella, J.; Parks, E.; Kanner, J. (1993). Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *The Lancet*. Vol. 341, N° 8843, 454-457
- Fuhrman, B.; Volkova, N.; Suraski, A.; Aviram, M. (2001). *White wine with red wine-like properties: increased extraction of grape skin polyphenols improves the antioxidant capacity of the derived white wine*. J. Agric. Food Chem.

- Del Greco, N. I. (2010). *Estudio sobre tendencias de consumos de alimentos. Generalidades y casos.*

- Gracia. A. (2007). Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. Obtenido de Universidad Autónoma de Queretano: http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias2007/56_1UAQGarciaNava.pdf
- Glosario de términos de alcohol y drogas Ministerio de sanidad y consumo, Gobierno de España. Word Heath Organization, (2008). http://www.who.int/substance_abuse/terminology/lexicon_alcohol_drugs_spanish.pdf
- González Jiménez, F. E. (2010). *Caracterizacion de compuestos fenolicos presentes en la semilla y aceite de Chia*. Mexico D.F.
- Guerrero Beltran, j. a.Swanson,b.g & Barbosa- Canovas. (2004). Inhibition of poliphenoloxidase in mango puree with 4-hexylresorcinol, cysteine and ascorbic acid. *LWT-Food Science And Technology*, 38: 625-630.
- Guerrero, C. A. (2009). *http://www.bdigital.unal.edu.co.* Recuperado el 15 de 12 de 2015, de Artículo científico Información Tecnológica-Vol. 17 N°6-2006, pág.: 69-74
- Hagerman, A.; Riedl, K.; Alexander Jones, G.; Sovik, K.; Ritchard, N.; Hartzfeld, P. and T. Riechel.(1998). High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *J. Agric. Food Chem*. Vol. 46, 1887-1892.
- Hernández Valdez, C. E. (2009). *Acción y efectos de la polifenoloxidasa en alimentos*. México.
- Hernandez, I., & Israel, A. (2011). *Estudio comparativo de cuatro métodos de extracción de compuestos fenólicos de bayas de vitis vinifera*. Chile.

- Hicks, K.B.; Sapers, G. M.; and Seib, p. a.(1990). Process for Preserving Raw Fruit and Vegetables Juice Using ciclodextrins and Compositions thereof, U.S. Patent. 4: p. 293.
- Hinrichs,S. anf A. Clifford. (2002). Dietary catechin delays tumor onset in a trans genic mouse model. *Journal Of Clinical Nutrition.*
- Ibáñez , F. C., & Torres, S. (s.f). *Aditivos Alimentarios*. España.
- Ibáñez, D. F., Torre, D. P., & Irigoyen, D. A. (2006). Universidad Pública de Navarra. Recuperado el 19 de junio de 2014, de Aditivos Alimentarios. http://www.nutricion.org/publicaciones/revista_agosto_03/funcionales/aditivos.pdf
- ICEX. (2005). El mercado de vinícola en Colombia. Bogotá
- ICBF (2003). *Tabla de composición de alimentos Colombianos: Papa pastusa*. http://alimentoscolombianos.icbf.gov.co/alimentos_colombianos/principal_alimento.asp?id_alimento=242&enviado3=1
- Kähkönen, Marja; Anu I. Copia and Marina Heinonen. (2001). Berry fenolics and their Antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.*
- Kostiuk, V.A., A.I. Potapovich, S.M. Tereshchenko & I.B. Afanas'ev (1988) Biokhimiia. 53: 1365-70.
- Lacalle Gutierrez, A. (20 de Junio de 2007). Saveva. Recuperado el 10 de Julio de 2014, de http://www.saveva.com/domamAcsa/pub/acsa/html/ca/dir1311/dd16054/antioxidants.pdf
- Lachman, J., Hamouz, K., Šulc, M., Orsák, M., Pivec, V., Hejtmánková, A., Dvořák, P., et al. (2009). Cultivar differences of total anthocyanins and anthocyanidins in red and purplefleshed potatoes and their

relation to antioxidant activity. *Food Chemistry*, 114(3), 836–843. doi:10.1016/j.foodchem. 2008.10.029

- Leighton, F., & Urquiaga, I. (1999). Fac. Retrieved Septiembre 12, 2015, from http://fac.org.ar/revista/00v29n2/leighton/leighton.htm
- Leighton, F.; Urquiaga, I. y M. Diez.1998. *Propiedades antioxidantes del vino y sus componentes*. Bulletin de L'OIV. Vol 807-808 (463-490).
- Lezcano, P., & Mora, L. M. (s.f). Las vinazas de destileria de alcohol. Contaminacion ambiental o tratamiento para evitarlo. *VIII Encuentro de Nutrición y Producción de Animales Monogástricos*, (págs. 48-52). La Habana, Cuba.
- Lisinska, G y Leszcznski, W. (1989). No Title Potato sciencie and technology. Elservier Sciencie pu (p. 391). Irlanda.: Elsevier Ltd.
- Magorca D, Blanca L. (2007). Isolation and Characterization of a Polyphenoloxidase Related with Carnation (Dianthus caryophyllus) Resistence to Fusarium oxysporum f. sp. Dianthi raza 2.
- Molina Quijada, D.A. (2010). Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de cáscara de uva (Vitis vinifera L.) de mesa cultivada en el noroeste
- Oszmianski, J.; Romeyer, F.; Sapis, J.; Macheix, J. 1986. Grape seed fenolics: extraction as affected by some conditions occurring during wine processing. Am. J. Enol. Vitic.

- Paladino, S., & Zuritz, C. (2011). Extracto de semillas de vid (Vitis vinifera L.) con actividad antioxidante: eficiencia de diferentes solventes en el proceso de extracción. *FCA Uncuyo* , 187-199.

- Parzanese, M. (2013). *Vegetales mínimamente procesados* . Secretaría de Agricultura, Ganaderia y pesca: Alimentos Argentinos., 30-39.
- Pizzocaro F, Torreggiani D, Gilardi G. (1993). Inhibition of apple polyphenoloxidase (PPO) by ascorbic acid, citric acid and Sodium Chloride. *Journal Of Food Processing And Preservation*, 17: 21-30.
- Provital Group, Nautal efficacy.(20013). Ficha tecnica uva la vid.
- Puerta, A. (2000). *Elaboración del Vino*. Perú: ITDG,
- Ratty, A.K. & N.P. Das (1998) Biochem. Med. Metab. Biol. 39: 69-79
- Reilly PM, Bukley GB.(1990) Tissue injury by free radicals and other toxic oxigen metabolites. Br J Sur; 77: 1324-1325
- Reyes, L. F., & Cisneros-Zevallos, L. (2007). Degradation kinetics and colour of anthocyanins in aqueous extracts of purple- and red-flesh potatoes (Solanum tuberosum L.). *Food Chemistry*, 100(3), 885–894. doi:10.1016/j.foodchem. 2005.11.00
- Robbins, R. 2003. *Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology*.
- Saito M. hosoyama H, Ariga T, Kataoka S, Yamaji N.(1998). Antiulcer activity of grape seed extrct and procyanidins. *J Agr Food Chem*, 46: 1460

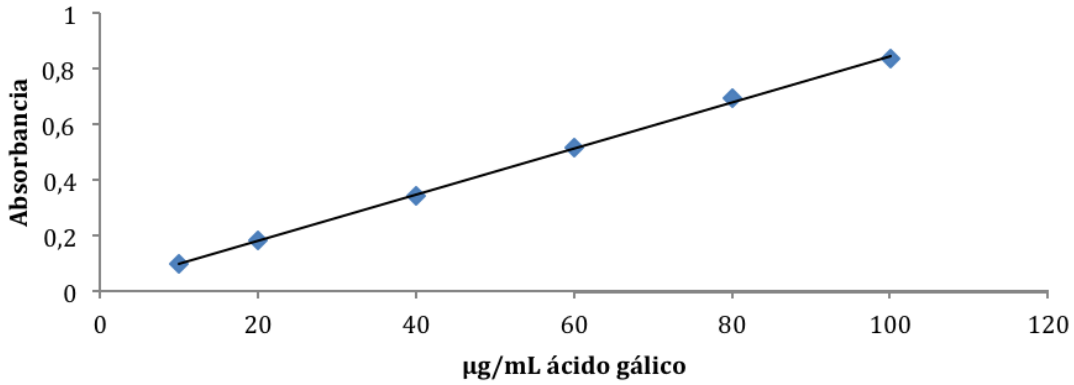
- Sanabria , L. A., & Hernández, F. E. (Mayo de 2015). *Diseño de un sistema integrado de gestion QHSE para el proceso de lavado de papa en centrales de abastecimiento agropecuario* . Bogota .
- Song, K.K., Lin, J.F., Chen, Q.X.(2005). Inhibitory effects of 4-isopropylsalicylaldehydeonmushroomtyrosinase.oi:10.1016/j.foodchem.2005.08.02.
- Spigno, G; Tramelli, L; De Faveri. D. (2007).Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grapemarc phenolics. *Journal Of Food Engineering*
- Torres, H.N, Carminah, H (1983). *Bioquímica General*. Buenos Aires: El Ateneo. 314- 351
- Trueba, P.G., H.I. Márquez & S.B. Martínez (1997) Tesis de Diploma. Universidad de La Habana. págs. 10-14.
- Tovar, J. (2013). *Determinación de la actividad antioxidante en 30 plantas recolectadas en la region cafetera.* Pereira: Universidad Tecnologica de Pereira.
- Van Acquire, S.A., D.J. Van den Berg, M.N. Tromp, D.H. Griffioen, W.P. van Bennekom, W.J. Van der Vijgh & A. Bast (1996) Free Radic. Biol. Med. 20: 331-42.
- Villarreal, H.J. (2012). Competitividad: Estrategia para lograrla. Rev. Papa 29, 4-11.
- Vinson,J. and B. Hontz.(1995). Phenol antioxidant index: comparative antioxidant effectiveness of red and white wines. *J. Agric. Food Chem*. Vol. 43, Nº2, 401-403
- Vogt, Ernst, & et.al. *El Vino: obtención, elaboración y análisis*. España. ACRIBIA S.A., 1984

- Würsch, P., S. del Vedobo, J. Rosset & M. Smiley (1984) Lebens Wiss Technol. 17: 351-54 8.

- Zipmec. (10 de Enero de 2013). *Uva - historia, producción, comercio.* Recuperado el Noviembre de 2015, de http://www.zipmec.com/es/uva-historia-produccion-comercio.html

7. ANEXOS.

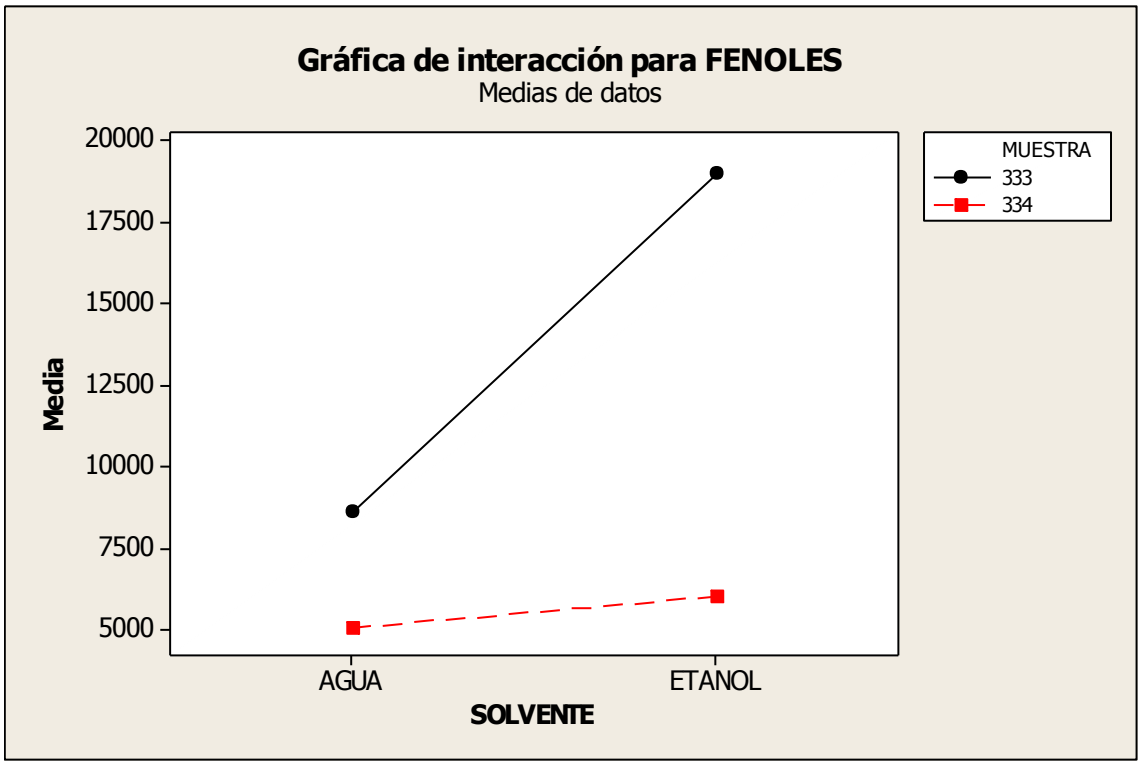
ANEXO A. Curva de calibración para método Folin – Ciocalteu



FORMULA	A	B	R2
Y=A*+B	0,0083	0,0154	0,9992

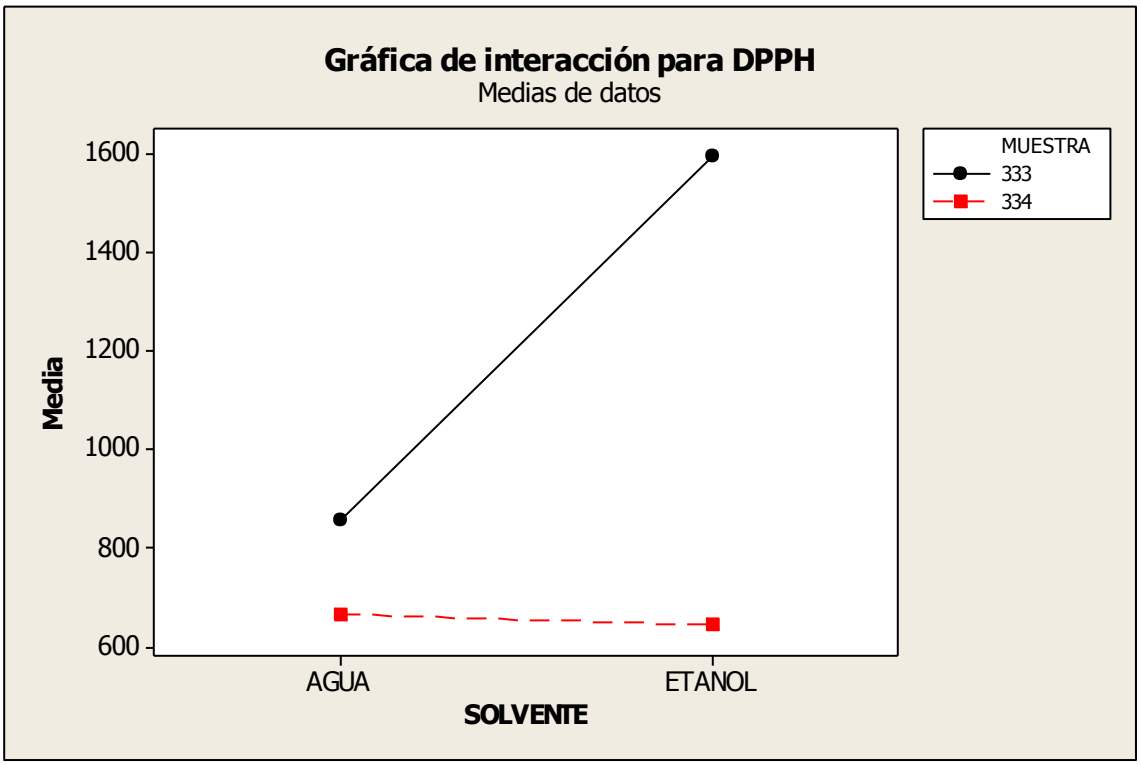
ANEXO B. Datos obtenidos del análisis estadístico para el ensayo de compuestos fenólicos. Obtenidos por medio del software Minitab 16

ANOVA DE DOS FACTORES: FENOLES TOTALES VS SOLVENTE Y MUESTRA					
FUENTE	**GL**	**SC**	**MC**	**F**	**P**
Solvente	1	97251698	97251698	12681,44	0,000
Muestra	1	205477356	205477356	26793,87	0,000
Interacción	1	66903563	66903563	8724,10	0,000
Error	8	61351	7669		
Total	11	369693968			
S: 87,57 R-cuadrada: 99,98% R-cuadrada (ajustado) : 99,98%					



ANEXO C. Datos obtenidos del análisis estadístico para el ensayo de DPPH. Obtenidos por medio del software Minitab 16.

ANOVA DE DOS FACTORES: DPPH VS TIPO DE SOLVENTE Y MUESTRA					
FUENTE	**GL**	**SC**	**MC**	**F**	**P**
Solvente	1	384958	384958	237,50	0,000
Muestra	1	973150	973150	600,38	0,000
Interaccion	1	432623	432623	266,91	0,000
Error	8	12967	1621		
Total	11	1803697			
S: 40,26 R-cuadrada: 99,28% R-cuadrada (ajustado) : 99,01%					



ANEXO D. Datos obtenidos del análisis estadístico para el ensayo de Inhibición de la polifenoloxidasa. Obtenidos por medio del software Minitab 16

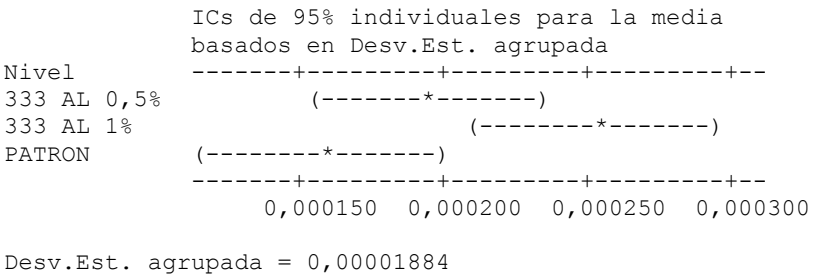
ANOVA UNIDIRECCIONAL: UA VS MUESTRA					
FUENTE	**GL**	**SC**	**MC**	**F**	**P**
Muestra	2	0,0000068	0,0000034	0,99	0,468
Error	3	0,0000103	0,0000034		
Total	5	0,0000171			
S: 0,001855 R-cuadrada: 39,75% R-cuadrada (ajustado) : 0,00%					

```
                                        ICs de 95% individuales para la media
                                        basados en Desv.Est. agrupada
Nivel        N     Media  Desv.Est.    -+---------+---------+---------+--------
333 AL 0,5%  2  0,001625   0,000884        (------------*-------------)
333 AL 1%    2  0,003317   0,003088              (-------------*-------------)
PATRON       2  0,000750   0,000071     (-------------*------------)
                                        -+---------+---------+---------+--------
                                       -0,0030    0,0000    0,0030    0,0060
```

ANEXO E. Datos obtenidos del análisis estadístico para el ensayo de Inhibición de la polifenoloxidasa. Obtenidos por medio del software Minitab 16

ANOVA UNIDIRECCIONAL: AE VS MUESTRA					
FUENTE	**GL**	**SC**	**MC**	**F**	**P**
Muestra	2	0,0000000	0,0000000	12,85	0,034
Error	3	0,0000000	0,0000000		
Total	5	0,0000000			
S: 0,00001884 R-cuadrada: 89,54% R-cuadrada (ajustado) : 82,57%					

NIVEL	**N**	**MEDIA**	**DESVIACION EST.**
PATRON	2	0,00015785	0,00001492
TRATAMIENTO 33 AL 0.5%	2	0,00019500	0,00002121
TRATAMIENTO 33 AL 1%	2	0,00025260	0,00001980



Desv.Est. agrupada = 0,00001884

METODO TUKEY			
MUESTRA	**N**	**MEDIA**	**AGRUPACION**
PATRON	2	0,00015785	A
TRATAMIENTO 33 AL 0.5%	2	0,00019500	A B
TRATAMIENTO 33 AL 1%	2	0,00025260	B

```
Nivel de confianza individual = 97,50%


TRATAMIENTO = 333 AL 0,5% restado de:

TRATAMIENTO     Inferior       Centro    Superior
333 AL 1%    -0,00002112   0,00005760  0,00013632
PATRON       -0,00011587  -0,00003715  0,00004157

TRATAMIENTO  -------+---------+---------+---------+--
333 AL 1%                   (-------*-------)
PATRON            (-------*-------)
             -------+---------+---------+---------+--
                 -0,00010   0,00000   0,00010   0,00020


TRATAMIENTO = 333 AL 1% restado de:

TRATAMIENTO     Inferior       Centro     Superior
PATRON       -0,00017347  -0,00009475  -0,00001603

TRATAMIENTO  -------+---------+---------+---------+--
PATRON       (-------*------)
             -------+---------+---------+---------+--
                 -0,00010   0,00000   0,00010   0,00020
```

ANEXO F. Datos obtenidos del análisis estadístico para el ensayo de Inhibición de la polifenoloxidasa. Obtenidos por medio del software Minitab 16.

ANOVA UNIDIRECCIONAL: % DE INHIBICIÓN VS MUESTRA					
FUENTE	**GL**	**SC**	**MC**	**F**	**P**
Muestra	2	1409,834	704,917	1675,05	0,000
Error	3	1,262	0,421		
Total	5	1411,096			
S: 0,6487 R-cuadrada: 99,91% R-cuadrada (ajustado) : 99.85%					

```
                                ICs de 95% individuales para la media
                                basados en Desv.Est. agrupada
Nivel        N   Media  Desv.Est.  -+---------+---------+---------+--------
333 AL 0,5%  2  19,615      0,544                  (*-)
333 AL 1%    2  37,535      0,983                               (*)
PATRON       2   0,000      0,000  (*)
                                   -+---------+---------+---------+--------
                                    0         12        24        36

Desv.Est. agrupada = 0,649
```

METODO TUKEY			
MUESTRA	**N**	**MEDIA**	**AGRUPACION**
PATRON	2	0,000	A
TRATAMIENTO 33 AL 0.5%	2	19,615	B
TRATAMIENTO 33 AL 1%	2	37,535	C

```
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.


Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de TRATAMIENTO

Nivel de confianza individual = 97,50%


TRATAMIENTO = 333 AL 0,5% restado de:

TRATAMIENTO  Inferior   Centro  Superior
333 AL 1%      15,209   17,920    20,631
PATRON        -22,326  -19,615   -16,904

TRATAMIENTO  ------+---------+---------+---------+---
333 AL 1%                      (*)
PATRON              (*)
             ------+---------+---------+---------+---
                  -25         0        25        50


TRATAMIENTO = 333 AL 1% restado de:

TRATAMIENTO  Inferior   Centro  Superior
PATRON        -40,246  -37,535   -34,824

TRATAMIENTO  ------+---------+---------+---------+---
PATRON       (*)
             ------+---------+---------+---------+---
                  -25         0        25        50
```