

**Universidad Pública de Navarra**

*Nafarroako Unibertsitate Publikoa*

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR  
DE INGENIEROS AGRONOMOS  
TEKNIKOA**

*NEKAZARITZAKO INGENIARIEN  
GOI MAILAKO ESKOLA*

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIPARDEANTE DE DIFERENTES  
EXTRACTOS DE MAÍZ EN PATATAS MÍNIMAMENTE  
PROCESADAS CV *MONALISA***

presentado por

**Adriana Sainz de Vicuña Martínez de Olcoz**

*aurkeztua*

**GRADO EN INNOVACIÓN DE PROCESOS Y PRODUCTOS ALIMENTARIOS**

Febrero 2018

## RESUMEN

La patata mínimamente procesada (PMP) está actualmente en expansión, pero mantiene ciertos problemas asociados a su calidad y vida útil. Entre los principales desafíos a los que este producto se enfrenta, es el control de la enzima polifenol oxidasa (PPO). En este trabajo se estudia el maíz como posible inhibidor de la PPO, alternativa natural a los sulfitos. Se analizan las diferencias entre variedades y temperaturas de secado a nivel de laboratorio. Se observan valores positivos de  $60,91 \pm 16,42 \%$  y  $46,39 \pm 13,07 \%$  para las variedades *Robus-Brand R-997* (maíz palomita) y maíz *Pioner P-1570* (maíz convencional), respectivamente.

**Palabras clave:** antioxidante natural, pardeamiento, polifenol oxidasa, patata, mínimamente procesada.

## ABSTRACT

The minimally processed potato (MPP) is currently expanding, but maintains some problems associated with its quality and shelf life. Among the main challenges that this product faces, is the control of the enzyme polyphenol oxidase (PPO). In this investigation, corn is seen as a possible inhibitor of PPO, a natural alternative to sulphites. The differences between varieties and drying temperatures at the laboratory level are analyzed. Positive values of  $60.91 \pm 16.42\%$  and  $46.39 \pm 13.07\%$  were observed for the *Robus-Brand R-997* (popcorn) and *Pioner P-1570* (conventional corn) varieties respectively.

**Key words:** natural antioxidant, browning, polyphenol oxidase, potato, minimally processed.

## ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN .....	5
1.2. Calidad de la patata mínimamente procesada.....	5
1.2. Solución natural alternativa: el maíz.....	9
1.3. Factores críticos.....	12
1.4. Objetivos.....	12
1.5. Diseño experimental.....	13
2. MATERIAL Y MÉTODOS .....	14
2.1. Materias primas .....	14
2.2. Proceso de elaboración .....	14
2.3. Preparación y secado de las muestras.....	15
2.3. Obtención de los extractos de maíz.....	16
2.4. Obtención de la enzima PPO de patata.....	16
2.5. Métodos de análisis .....	17
2.5.1. Determinación de la humedad .....	17
2.5.2. Caracterización extractos de maíz.....	17
2.5.3. Inhibición de la actividad de la enzima Polifenol Oxidasa (PPO).....	19
2.6. Análisis estadístico.....	20
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	21
3.1. Inhibición de la PPO en las variedades de maíz <i>Robus-Brand R-997</i> (palomita) y maíz <i>Pioner P-1570</i> (convencional).....	21
3.1.1. Caracterización de variedades de maíz.....	21
3.1.2. Inhibición de la PPO en las variedades de maíz.....	24
3.2. Inhibición de la PPO en el maíz rehidratado y secado a temperaturas de 40 °C, 60 °C y 80 °C.....	26
3.2.1. Caracterización del maíz sometido a temperaturas de secado.....	26
3.2.2. Inhibición de la PPO en el maíz sometido a temperaturas de secado.....	29
6. CONCLUSIONES .....	31
7. BIBLIOGRAFÍA .....	32
ANEXO 1. RECTA PATRÓN ÁCIDO GÁLICO.....	35
ANEXO 2. RECTA PATRÓN TROLOX.....	36

## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.2. CALIDAD DE LA PATATA MÍNIMAMENTE PROCESADA.**

Las patatas son un alimento básico en todo el mundo y España es una potencia mundial en producción y comercialización de frutas y hortalizas, incluyendo a la patata.

En cuanto al consumo, se ha mantenido estable en los últimos años, con un constante incremento para las patatas procesadas entre los años 2012 y 2016 dejando atrás a la patata fresca y a la patata congelada. (MERCASA, 2017).

Los productos de IV Gama someten el producto fresco a operaciones de corte y preparación, provocando daños mecánicos en los tejidos los cuales provocan una vida comercial más corta, ya que son más susceptibles al pardeamiento enzimático o a los microorganismos (Serrano, 2013), además de una respiración acelerada de tal forma que las patatas cortadas por la mitad respiran un 33% más que las enteras peladas, y las rodajas de patata de 2 mm de espesor respiran un 34% más que las mitades de patata (Gonzalez, National, & Agrarias, 2016).

El daño mecánico que sufren los tejidos de las patatas mínimamente procesadas hacen del pardeamiento enzimático un factor limitante en la vida útil del producto (Hou, Feng, Wei, & Wang, 2014) ya que está asociado a cambios organolépticos y propiedades visuales además de pérdida de calidad nutricional (Tsouvaltzi & Brecht, 2017).

Así, nos encontramos dos principales desafíos que tiene la industria de la patata procesada: la pérdida de sabor y el pardeamiento enzimático debido a la enzima polifenol oxidasa (PPO) (Sinha, Hui, Evranuz, Siddiq, & Ahmed, 2011).

En presencia de oxígeno, la PPO es catalizada con dos reacciones diferentes. La primera de ellas es la hidroxilación de monofenoles a o-difenoles, la segunda es la oxidación de o-difenoles a o-quinonas. Las quinonas pueden condensarse en ese momento y reaccionar con otros compuestos fenólicos, aminoácidos, proteínas y otros constituyentes celulares para producir polímeros coloreados o pigmentos (Boonsiriphat & Theerakulkait, 2009).

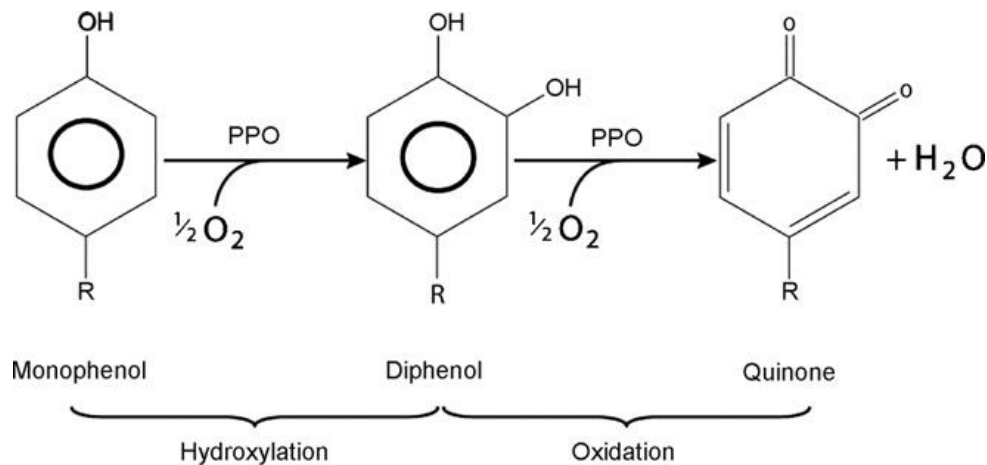


Ilustración 1. Mecanismo de la PPO. Fuente: (Toivonen & Brummell, 2008)

En este contexto, la capacidad para combatir el proceso oxidativo hace que los antioxidantes sean esenciales en la industria alimentaria (Magdeldin & Moser, 2017).

El cultivar de patata cv Monalisa presenta una gran popularidad en el norte de España, ofrece una gran versatilidad en la elaboración de productos de IV gama pero es más sensible a la oxidación (Bobo, 2014), lo cual resulta interesante para este estudio ya que se trata de inhibir la enzima polifenol oxidasa, la cual produce dicha oxidación. Además, dicho fenómeno depende de múltiples factores más allá de la variedad como pueden ser factores climatológicos, operaciones y manejo de la cosecha o incluso de la constitución del propio tubérculo (Bobo, 2014).

Algunos métodos de conservación de los productos mínimamente procesados incluyen tratamientos químicos como aditivos alimentarios sintéticos y naturales (agentes reductores, acidulantes, quelantes y acomplejantes o compuestos que actúan directamente inhibiendo la PPO) (Serrano, 2013), y físicos como tratamientos térmicos suaves, radiaciones ionizantes y no ionizantes, atmósferas modificadas, aplicación de agentes de recubrimiento o películas comestibles y almacenamiento en refrigeración (Gonzalez et al., 2016).

Respecto a los tratamientos químicos, el pardeamiento enzimático ha sido comúnmente inhibido con la aplicación de sulfitos, pero su uso ha sido limitado en ciertas categorías de alimentos debido a los efectos negativos en la salud que conllevan. Por ello la necesidad de buscar inhibidores de la PPO alternativos a los sulfitos ha ido ganando terreno (K. H. Kim, 1997). Otras soluciones comúnmente utilizadas son aquellas compuestas por ácidos orgánicos como el acético y el cítrico que reducen el pH retrasando así la actividad de la PPO, o el ácido ascórbico que tiene tanto acción acidulante como reductora, reconvirtiendo las quinonas en fenoles (Serrano, 2013).

Además, algunos fenoles como el ácido cinámico, p-cumárico, ferúlico o ácido benzoico resultan inhibidores competitivos de la enzima (Bobo, 2014) .

Actualmente se están buscando compuestos alternativos a los químicos de síntesis, compuestos naturales con capacidad antipardeante, entre los que podemos encontrar el salvado de arroz (Boonsiripiphat & Theerakulkait, 2009), (Kubglomsong & Theerakulkait, 2014), el té verde (Boonsiripiphat & Theerakulkait, 2009), diferentes especias (Bobo, 2014), el maíz y el perejil (Merino, 2017).

La Tabla 1 muestra los resultados de varios estudios sobre vegetales con compuestos fenólicos en los que se realiza una caracterización midiendo la cantidad de fenoles totales y su capacidad antioxidante además de resultados sobre la inhibición de la PPO. Estas soluciones resultan especialmente interesantes ya que en la sociedad española se han producido en los últimos años cambios hacia el consumo de productos más respetuosos con el medio ambiente y con el rechazo a la utilización de productos químicos, tendencia que obliga al resto del sistema alimentario a modificar sus patrones (MAPAMA, 2005).

*EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIPARDEANTE DE DIFERENTES EXTRACTOS DE MAÍZ EN PATATAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS CV MONALISA.*

*Tabla 1. Caracterización de compuestos antioxidantes naturales.*

VEGETAL	COMPUESTOS FENÓLICOS	TFC	DPPH	% INHIBICIÓN PPO	FUENTE
<b>Tés</b>	F, AF	488,8 - 13,7 <sup>a</sup>	4076,3 - 251,4 <sup>f</sup>	-	(Paper, 2014)
<b>Lampaya</b>	F	1885,3 ± 62,8 <sup>b</sup>	31,8 ± 1,7 <sup>g</sup>	-	(Garrido, Ortiz, & Pozo, 2013)
<b>Propóleo</b>	F, AF	21,31 - 13,58 <sup>c</sup>	-	-	(Stewart et al., 2014)
<b>Ajo</b>	AF (ácidos ferúlico y p-cumarico) F (flavonoles)	< 25 <sup>d</sup>	< 50 <sup>h</sup>	72,9±1,3	(Bobo, 2014)
<b>Té verde</b>	F, AF	355,9 - 178,3 <sup>d</sup>	2585 - 1374,2 <sup>h</sup>	72,3±1,7	(Bobo, 2014)
<b>Salvado de trigo</b>	AF (ácido ferúlico)	< 25 <sup>d</sup>	< 50 <sup>h</sup>	≥ 50	(Bobo, 2014)
<b>Clavo</b>	AF (ácido gálico) F (flavonoles)	788,6 ± 42,99 <sup>d</sup>	5944,5±577,7 <sup>h</sup>	10 - 50	(Bobo, 2014)
<b>Salvado de arroz</b>	AF (ácido protocatéquico)	-	-	41,36 - 66	(Kubglomsong & Theerakulkait, 2014)
<b>Maíz</b>	AF (ácido ferúlico)	1,26 - 78 <sup>e</sup>	1,83 - 21,71 <sup>i</sup>	59,84 - 43,19	(Merino, 2017), (Cabrera-Soto et al. , 2009),(Deng et al., 2012)
<b>F: Flavonoides</b> <b>AF: ácidos fenólicos</b> <sup>a</sup> mg GAE/100 ml <sup>b</sup> mg GAE/100g BS <sup>c</sup> %p/p <sup>d</sup> mg GAE/ml <sup>e</sup> mg GAE/g BS <sup>f</sup> µmol TE/100 mL <sup>g</sup> CE50 µg/mL <sup>h</sup> µmol TE/ml <sup>i</sup> µmol TE/g					

*Fuente: Elaboración propia.*



Teniendo en cuenta que entre los compuestos fenólicos de los productos con poder antipardeante se encuentran, entre otros, el ácido ferúlico, merece la pena analizar el comportamiento de productos que lo contemplan.

## 1.2. SOLUCIÓN NATURAL ALTERNATIVA: EL MAÍZ.

El maíz (*Zea mays L.*), perteneciente a la familia de las gramíneas, es una de las especies vegetales más cultivadas y base de la alimentación humana y animal a nivel mundial. Además, es utilizado como materia prima en producción de almidón industrial y alimenticio, edulcorantes, dextrinas, aceite o bioproductos

Su estructura se compone de diferentes partes, principalmente el endospermo formado por almidón y gluten (es la parte de mayor valor comercial), el germen o embrión del maíz, y el pericarpio o cascarrilla.

Atendiendo a las características estructurales, el maíz puede clasificarse en maíz *harinoso* compuesto prácticamente por almidón blando, maíz *dentado* compuesto por almidón blando y duro, maíz *flint* (duro o córneo) con granos redondos duros y suaves, maíz *crystalino* con granos lisos y redondos, y maíz *reventón* (o palomero) con el endospermo muy duro y una pequeña porción de almidón suave (Grande Tovar & Orozco Colonia, 2013). El maíz dentado es comúnmente cultivado en España y se caracteriza por una depresión del grano. También podemos encontrar el maíz de palomitas con un grano pequeño y vítreo, el cual al someterse a altas temperaturas produce su explosión (Ezkurra, 2016).

Además, las distintas variedades de maíz presentan pigmentos diferentes que van desde un color morado, rojo hasta amarillo o blanco. Aquellas variedades más pigmentadas se relacionan con una cantidad más elevada de antocianidinas, con efectos benéficos a la salud (Mex-Álvarez, Bolívar-Fernández, Garma-Quen, Tut-Heredia, & Romero-Guillén, 2013).

Los principales componentes del grano entero de maíz son el almidón (62%), proteína (7,8%), los hidratos de carbono y fibra (10,2%) y grasas (3,8%), existiendo una gran variabilidad entre las diferentes partes de su estructura (Grande Tovar & Orozco Colonia, 2013). Dentro de su composición, contiene una gran cantidad de compuestos fenólicos, principalmente el ácido ferúlico, seguido de los ácidos diferúlicos y cumárico (Le et al., 2016). Concretamente, el maíz contiene más fenoles totales (ácido ferúlico principalmente) y mayor poder antioxidante si lo comparamos con otros cereales como el trigo, la avena o el arroz (Cabrera-Soto et al., 2009).

Los ácidos fenólicos son metabolitos secundarios muy presentes en los vegetales con una gran actividad antioxidante. En concreto, los ácidos hidroxicinámicos son los más abundantes en los cereales: el ferúlico (principalmente), diferúlico y cumárico. Éstos contienen un núcleo fenólico y una cadena lateral insaturada, formando así un radical fenoxilo el cual actúa como agente secuestrador de radicales libres (Le et al., 2016).

Además, estudios cuantifican el ácido p-cumárico presente en el maíz (principalmente en el pericarpio) con valores de 2555  $\mu\text{g/g}$  (Boz, 2015). La cantidad de fenoles totales se expresa comúnmente en mg equivalentes de ácido gálico por gramo de base seca (mg GAE/g DW) dando lugar a valores de  $1.97 \pm 0.06$  (Deng et al., 2012),  $0,51 \pm 0,11$  mg GAE/ g de muestra,  $1,24 \pm 0,16$  mg GAE/ g de muestra (Merino, 2017) dependiendo del método de extracción.

También se ha sido estudiada capacidad antioxidante del maíz con valores de  $1.83 \pm 0.07$  (Deng et al., 2012),  $1,26 \pm 0,95$  y  $1,51 \pm 1,67$  (Merino, 2017) para diferentes métodos de extracción y expresada en  $\mu\text{mol}$  equivalentes de Trolox por gramo de base seca ( $\mu\text{mol}$  Trolox/ g BS).

Las extracciones se realizan con agua y disolventes orgánicos bajo una temperatura que varía desde temperatura ambiente hasta los 100 °C y durante tiempos desde 5 minutos hasta 24 horas, tal y como se observa en la Tabla 2.

*EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIPARDEANTE DE DIFERENTES EXTRACTOS DE MAÍZ EN PATATAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS CV MONALISA.*

*Tabla 2. Cantidad total de fenoles y capacidad antioxidante dependiendo de su método de extracción*

MAÍZ	MÉTODO EXTRACCIÓN	TPC	DPPH	FUENTE
<b>Salvado</b>	50% etOH, 100 °C, 5 min	78	18,04 <sup>c</sup> (54,95%)	(Le et al., 2016)
<b>Grano entero</b>	EtOH 70%, 24h/T <sup>a</sup> amb	3,9 <sup>a</sup>	215,9 VCEAC	(Toivonen & Brummell, 2008)
<b>Grano entero</b>	EtOH 2h/T <sup>a</sup> ambiente	115,4 ± 9,3/175,5 ± 6,8 <sup>a</sup>	1827 ± 90,5/2429 ± 406,8 <sup>d</sup>	(Mex-Álvarez et al., 2013)
<b>Partes</b>	MeOH 60 min/T <sup>a</sup> amb + NaOH 3h/ 60 °C	Pericarpio: 208,8 – 347,5 <sup>b</sup> Endospermo: 106,3 – 195,5 <sup>b</sup> Germen: 498 – 727,9 <sup>b</sup>	-	(Cabrera-Soto et al., 2009)
<b>Grano entero</b>	C4H8O + MeOH/CH3COOH/H2O + NaOH 4M + HCl 6M	1,97 ± 0,07	1,83 ± 0,07 <sup>c</sup>	(Deng et al., 2012)
<sup>a</sup> Datos expresados en g GAE/100 g DW <sup>b</sup> Datos expresados en µg GAE/g DW <sup>c</sup> Datos expresados como µmol TE/g <sup>d</sup> Datos expresados como µmol TE/100 g				

*Fuente: Elaboración propia.*

Además de estos datos, debemos incluir los reportados por (Merino, 2017) para el maíz en mazorca crudo:

*Tabla 3. Cantidad de fenoles totales y capacidad antioxidante en distintos extractos de maíz.*

Extracción	Cantidad total de fenoles (mg GAE/g BS)	Capacidad antioxidante (µmol Trolox/ BS)
<b>Agua, 40 °C, 10 min</b>	0,51 ± 0,11	1,26 ± 0,95
<b>Agua, 90 °C, 10 min</b>	1,24 ± 0,16	1,51 ± 1,67

*Fuente: Merino, (2017).*

El efecto sobre la capacidad antioxidante del maíz es variable y depende de varios factores como las condiciones del proceso, la extracción, el método utilizado para el análisis y el vegetal en cuestión (Ben Haj Said, Najjaa, Neffati, & Bellagha, 2013).

Debido a las diferencias en cantidad de fenoles totales así como en la capacidad antioxidante de distintas variedades del maíz en las cuales se ven involucradas características como el color (Mex-Álvarez et al., 2013) o la dureza (Cabrera-Soto et al., 2009) y atendiendo a los cultivos existentes en la zona, se analizan dos variedades de maíz, siendo una correspondiente al maíz común (o convencional) *Pioner P-1570* y otra al maíz palomita *Robus-Brand R-997*.

### 1.3. FACTORES CRÍTICOS.

Para un correcto almacenamiento de los cereales, es necesaria la reducción de la humedad hasta un nivel determinado como "humedad de almacenamiento segura", en el caso del maíz este porcentaje de humedad tiene un valor del 14 - 14,5 %. Para lograrlo, el principal método es el sistema de secado. Éste puede ser a temperaturas baja (temperatura ambiente o 3-8 °C por encima), media (entre 43°C y 60 °C) o alta (mayor de 60 °C). Estas diferencias en temperaturas afectan a la calidad y al rendimiento del cereal, siendo directamente proporcional en el caso del rendimiento e inversamente proporcional a la calidad del mismo (Abadía & Bartosik, 2013).

Además, varios trabajos científicos se han centrado en estudiar los efectos del secado a diferentes temperaturas sobre los vegetales. En el caso del contenido en fenoles, se ha observado una gran variabilidad en el contenido total que van desde pérdidas de hasta un 55% y 57,6% para el secado por convección y por microondas respectivamente y una reducción similar para el caso de la capacidad antioxidante para *Mentha spicata* (Orphanides, Goulas, & Gekas, 2013) o incluso enriquecimiento de los mismos, con datos más bajos para las muestras frescas mientras que aquellos secados a vacío en horno tuvieron valores más altos para diferentes especias (Orphanides et al., 2013).

Debido a la necesidad de utilizar el secado como método de conservación del maíz y la posible influencia de las condiciones de secado en la estabilidad de los compuestos fenólicos, se propone el estudio de tres valores ( 40 °C, 60 °C y 80 °C), correspondientes a temperaturas de secado baja, media y alta (Abadía & Bartosik, 2013) para evaluar si ésta tiene efecto sobre la actividad antipardeante buscada en el maíz.

### 1.4. OBJETIVOS

El objetivo principal de este estudio es la evaluación del efecto antipardeante del extracto de maíz en patatas mínimamente procesadas (*cv Monalisa*).

**Objetivos específicos:**

- Analizar si existen, diferencias del efecto antipardeante entre variedades de maíz (convencional y palomita).
- Analizar si el secado afecta a la capacidad antipardeante y si existe un efecto de las temperaturas empleadas (40 °C, 60 °C y 80 °C).

**1.5. DISEÑO EXPERIMENTAL.**

- Muestras de maíz a analizar:
  - Variedades: Maíz palomita ROBUS-BRANDS R-997 y maíz convencional PIONER P-1570 sin tratamiento.
  - Efecto de secado: Maíz convencional PIONER P-1570 rehidratado, secado a 40 °C, secado a 60 °C y secado a 80 °C.
- Número de extracciones por cada muestra: 3
- Análisis a realizar:
  - Cantidad total de fenoles (Método Folin-Ciocalteu).
  - Capacidad antioxidante (Método DPPH).
  - Porcentaje de inhibición de la PPO (Diferencias en la actividad de la PPO con y sin inhibidor).

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.1. MATERIAS PRIMAS

- Mazorcas de maíz *Robus-Brand R-997* (maíz palomita) y maíz *Pioner P-1570* (maíz convencional) obtenidas de un agricultor de Tudela (Navarra) con una humedad máxima del 14% para su posible almacenamiento a temperatura ambiente durante el tiempo de investigación.
- Patatas *cv. Monalisa* obtenidas en una frutería de Pamplona y almacenadas durante un máximo de 5 días en refrigeración (4 °C).

### 2.2. PROCESO DE ELABORACIÓN

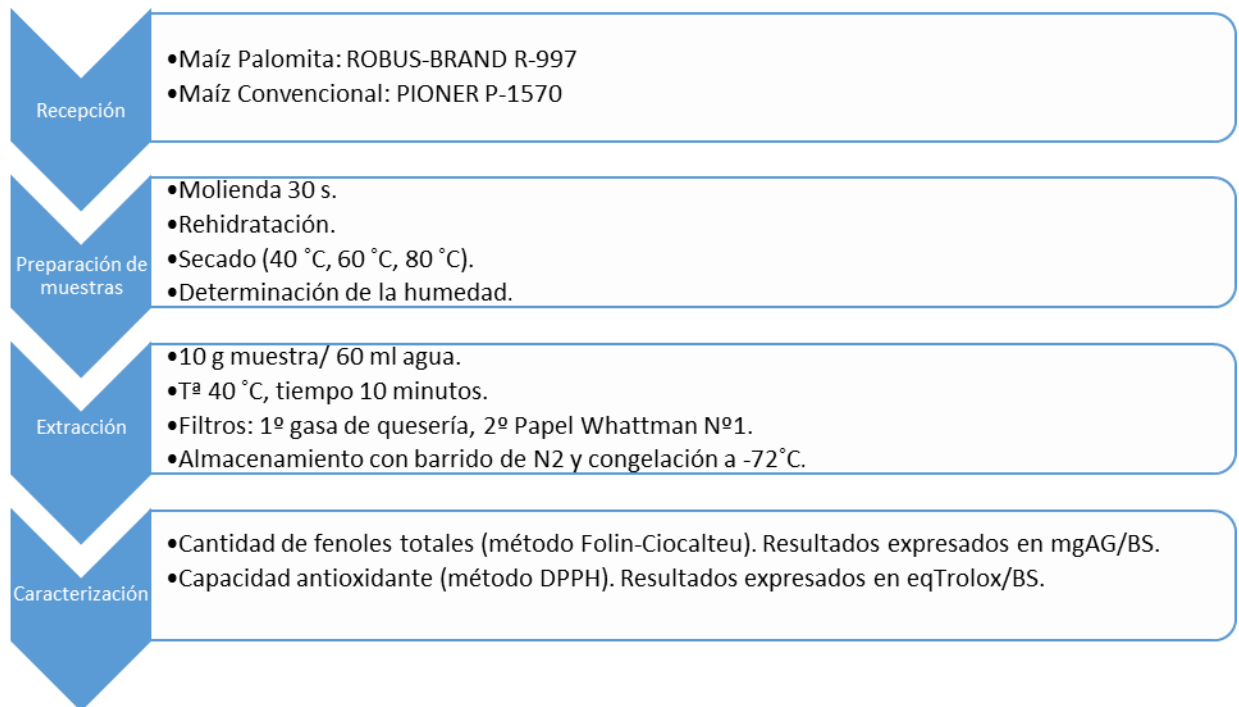
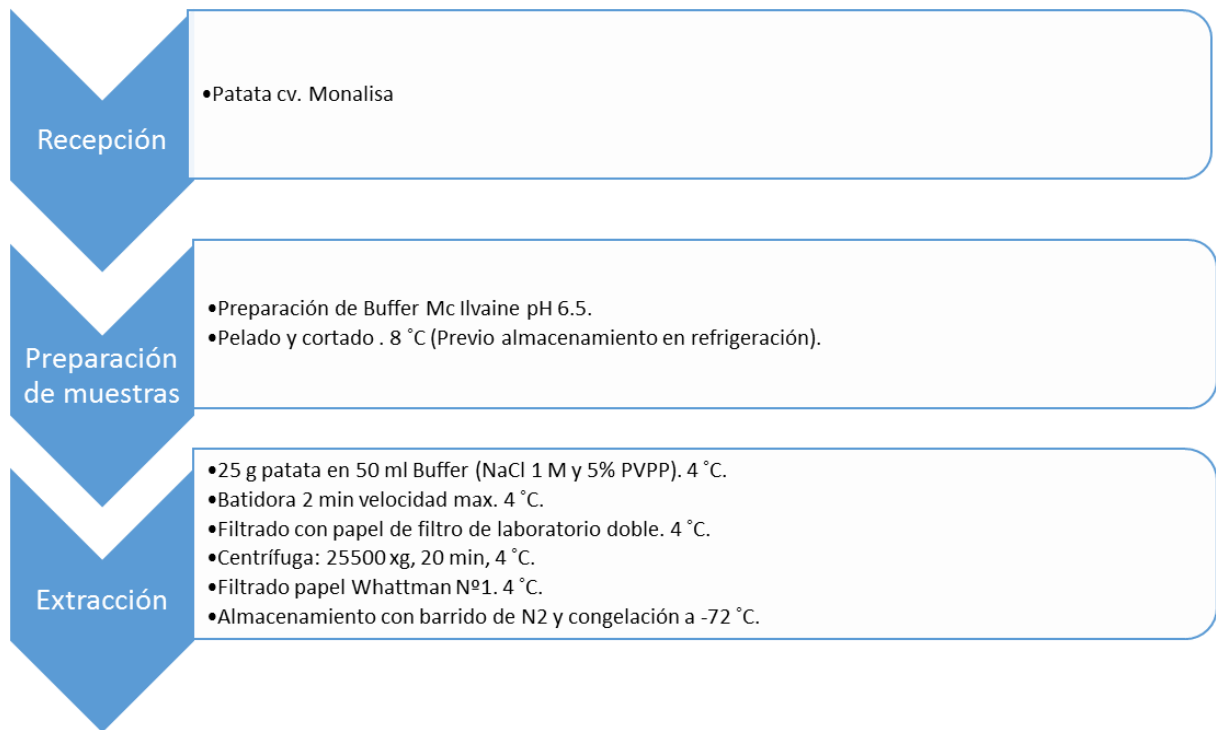


Ilustración 2. Etapas a realizar con el maíz.



*Ilustración 3. Etapas a realizar con la patata.*

### 2.3. PREPARACIÓN Y SECADO DE LAS MUESTRAS

Las mazorcas recibidas son desgranadas. Para la obtención de los extractos rehidratados y secados a diferentes temperaturas es necesario previamente un acondicionamiento de las muestras en el que se sumergen los granos de maíz durante 24 horas en agua a temperatura ambiente (20°C) y de este modo se obtiene una simulación del maíz fresco en el momento de recolección con un 20-25% de humedad (Ezkurra, 2016).

Se muele la muestra durante 30 s con un molinillo (Torus aromatic) de cocina. En el caso de las muestras con tratamiento térmico, se introducen en estufas a 40°C, 60°C y 80°C durante 24 horas. Llegando así a unas humedades con valores de  $3,50 \pm 0,24$  %,  $1,86 \pm 0,24$  % y  $1,05 \pm 0,09$  % respectivamente, por lo que los resultados se expresan en base seca para poder ser comparados.

### 2.3. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS DE MAÍZ

Para las extracciones se utiliza el procedimiento seguido por (Merino, 2017) en su extracción del maíz mediante agua a 40°C. Se utilizan 10 g de muestra para 60 ml de agua destilada a 40°C durante un tiempo de 10 minutos. Se filtra con gasa de quesería y posteriormente con papel Whatman N°1 a vacío. Se realiza un barrido con N<sub>2</sub> y, si las muestras van a ser utilizadas antes de 24 h, se mantienen en refrigeración a 4 °C hasta su uso. De lo contrario, se almacenan a -72°C hasta su análisis. Se realizan cuatro repeticiones para cada extracto.

### 2.4. OBTENCIÓN DE LA ENZIMA PPO DE PATATA

El método llevado a cabo para la extracción de la PPO de la patata es el descrito por (Bobo, 2014).

Es necesaria la preparación previa del Buffer McIlvaine pH 6.5. Para obtener 150 ml de Buffer mezclamos 43,5 ml de ácido cítrico monohidrato 0,1M y 106,5 ml de disódico hidrógeno fosfato dihidrato 0,2 M.

Para la extracción de 25 g de patata se disuelven 2,9 g de NaCl y 2,5 g de PVPP en 50 ml Buffer McIlvaine pH 6,5 y se homogeniza con una batidora manual a la máxima potencia durante 2 minutos en frío (4 °C). Se realiza un filtrado doble con papel de filtro de laboratorio a vacío y se centrifuga a 25500 xg durante 20 min a 4 °C (Centrífuga Sorvall Super T21). Se realiza un último filtrado a vacío con papel Whatman N°1. El extracto crudo de la enzima PPO se almacena con un barrido de N<sub>2</sub> y en congelación (-72 °C).



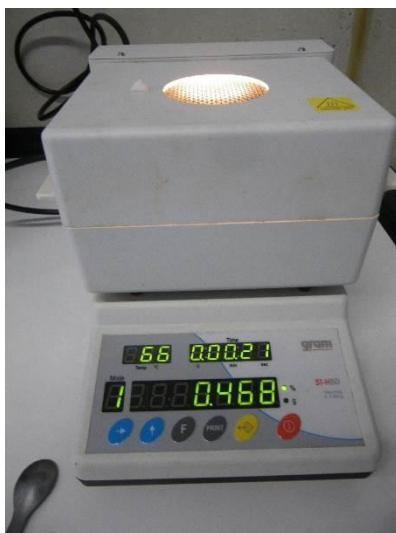
*Ilustración 2. Centrífuga Sorvall Super T21.*



## 2.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS

### 2.5.1. Determinación de la humedad

La humedad de las muestras es analizada mediante una balanza de humedad (ST-H50 GRAM) con una programación determinada correspondiente a " *Mode 1, time 15 s, temperature 100 °C* ", y así realizar los cálculos posteriores en base seca (BS).



*Ilustración 3. Balanza humedad ST-H50 GRAM.*

### 2.5.2. Caracterización extractos de maíz

#### 2.5.2.1. Determinación de polifenoles totales

El contenido total de fenoles se realiza mediante el método de Folin-Ciocalteu convencional descrito por Prior, Wu, & Schaich, (2005).

Se mezclan 50 ml de agua ultrapura, 1 ml de extracto y 5 ml de reactivo Folin-Ciocalteu (Folin-Ciocalteu Sigma-Aldrich). Se deja reposar durante 5 minutos. A continuación se añaden 20 ml de solución de carbonato de sodio ( $200\text{g L}^{-1}$ ) y se enrasa con agua ultrapura. Transcurridos 30 minutos se mide la absorbancia a 750 nm utilizando como blanco agua ultrapura en vez de extracto (Espectrofotómetro UH5300 Hitachi).



Ilustración 4. Espectrofotómetro UH5300 Hitachi.

La cantidad total de polifenoles se expresa en equivalentes de ácido gálico por litro, para lo que se realiza una recta patrón de ácido gálico de 10 – 200 mg L<sup>-1</sup> (10, 20, 50, 100, 200 mg AG/L) obteniendo la siguiente ecuación:

$$y = 0,0009x - 0,0035$$

La gráfica se puede observar en (ANEXO 1).

#### 2.5.2.2. Determinación de actividad antioxidante

La actividad antioxidante de los extractos se mide mediante la técnica de oxidación del 2,2-Difenil-1-Picrilhidracilo (DPPH Sigma-Aldrich) por el método convencional descrito por Brand-Williams, Cuvelier, & Berset, (1995).

Se mezclan 2940 µl de DPPH disuelto en metanol (60 µmol/L) con 60 µl del extracto y se incuban durante 60 min en oscuridad. Después se mide la absorbancia a 515 nm en el espectrofotómetro (Espectrofotómetro UH5300 Hitachi).

El porcentaje de oxidación del DPPH, se calcula mediante la ecuación:

$$\% DPPH = \left( 1 - \frac{(A_{muestra} - A_{blanco})}{(A_{control} - A_{blanco})} \right) \times 100$$

Donde A<sub>muestra</sub> es la absorbancia de 60 µl de muestra en 2940 µl de DPPH tras 60 min, A<sub>blanco</sub> es la absorbancia del metanol y A<sub>control</sub> es la absorbancia de 60 µl de agua en 2940 µl de DPPH tras 60 min.

Los resultados se expresan en µmol equivalentes de Trolox (ácido 6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchroman-2-carboxylic). Para poder expresarlo en equivalentes de Trolox, se realiza una recta patrón con concentraciones 25 - 500 µmol/L (25, 50, 100, 200, 400,

500  $\mu\text{mol/L}$ ) en una solución 50% etanol 50% agua ultrapura, dando lugar a la siguiente ecuación:

$$y = 0,1278x + 1,6913$$

La gráfica se puede encontrar en (ANEXO 2).

### 2.5.3. Inhibición de la actividad de la enzima Polifenol Oxidasa (PPO)

#### 2.4.3.1. Determinación de la actividad de la PPO

La determinación de la actividad de la PPO se realiza por el método descrito por Sukhonthara, Kaewka, & Theerakulkait, (2016) con la modificación introducida por Bobo, (2014) en la que el buffer utilizado es a pH 6,5 (Buffer McIlvaine).

Atemperar en un baño a 25 °C durante 15 min la muestra. En una cubeta de 1 cm se añaden 0,1 ml de enzima, 0,9 ml de Buffer McIlvaine, 1 ml de catecol 0,2M disuelto en Buffer McIlvaine y 1 ml de agua destilada. Se agita y se introduce la cubeta en espectrofotómetro de inmediato (Espectrofotómetro Jasco V630). Se realizan medidas durante 2 min cada 5 s a una longitud de onda de 420 nm. Para el blanco se utiliza agua en lugar de enzima.

*Una unidad de actividad de enzima* se define como el cambio de absorbancia en 0.001 por minuto y mililitro inmediatamente después de la introducción del extracto de enzima en la cubeta y el ratio de la reacción inicial se estima a partir de la zona lineal de la curva (Bobo, 2014), dando como resultado la siguiente ecuación para la obtención de la actividad de la PPO:

$$\text{Actividad (UA/min*ml)} = ((abs_f - abs_i)/0,001)/(s/60)*0,1$$

Donde  $abs_f$  es la absorbancia en el punto final de la recta,  $abs_i$  es la absorbancia inicial de la recta y  $s$  los segundos en los que se produce la recta.

#### 2.4.3.2. Determinación de la capacidad de los extractos para inhibir la PPO

Para la determinación de la capacidad de los extractos para inhibir la PPO de la patata se realiza el procedimiento de la actividad sustituyendo el agua destilada por el inhibidor deseado y se calcula mediante la ecuación (Sukhonthara et al., 2016):

$$\% \text{ inhibición PPO} = [(actividad \textit{ control} - actividad \textit{ con inhibidor}) / actividad \textit{ control}] * 100$$

#### 2.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

El análisis estadístico de los resultados obtenidos se realiza mediante el programa IBM SPSS Statistics 22. Se aplica el análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia de 5% ( $p < 0,05$ ) para comparar el contenido de fenoles totales, la actividad antioxidante y el porcentaje de inhibición de la PPO entre grupos. Se realizan grupos homogéneos de los diferentes extractos mediante el método Duncan. También se estudia la relación de las variables analizadas mediante el análisis de correlación de Pearson.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. INHIBICIÓN DE LA PPO EN LAS VARIEDADES DE MAÍZ *ROBUS-BRAND R-997* (PALOMITA) Y MAÍZ *PIONER P-1570* (CONVENCIONAL).

##### 3.1.1. Caracterización de variedades de maíz.

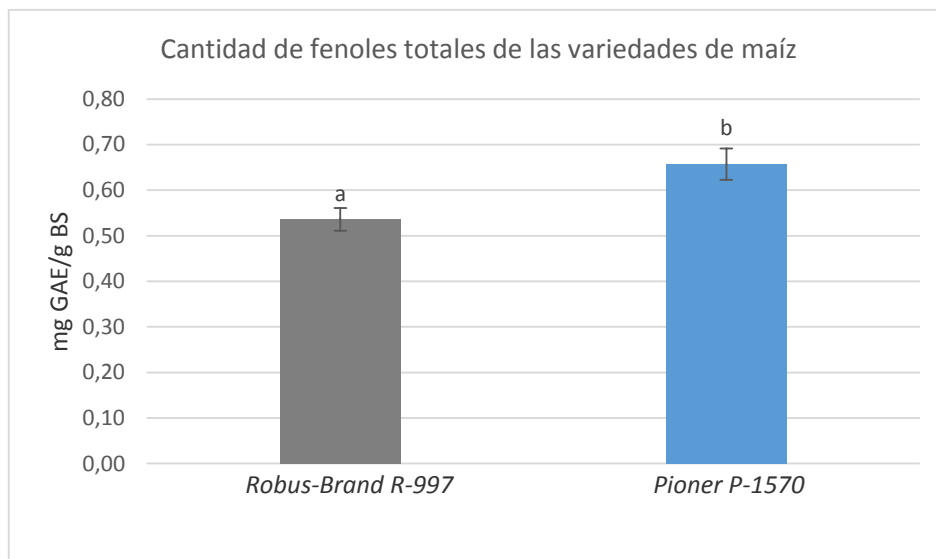
###### 3.1.1.1. Humedad del grano.

La humedad de los distintos extractos es analizada en el momento antes de la extracción, ya que los datos posteriores se representan en base seca (BS). Las humedades son de  $8,62 \pm 0,26$  % para maíz *Pioner P-1570* (maíz convencional) y  $9,54 \pm 0,32$  % para *Robus-Brand R-997* (maíz palomita), humedades correspondientes para un almacenamiento óptimo (<14%).

###### 3.1.1.2. Cantidad de fenoles totales.

Los resultados de la cantidad de fenoles obtenidos para las diferentes muestras son expresados en mg Ácido Gálico /g Base Seca (mg GAE/ g BS).

Si se analizan las dos variedades de maíz estudiadas, maíz *Robus-Brand R-997* y maíz *Pioner P-1570* (palomita y convencional), se obtienen diferencias significativas en la cantidad de fenoles totales. De las dos variedades la destinada a la obtención de palomitas presenta una cantidad significativamente menor ( $0,54 \pm 0,02$ ) que el maíz convencional ( $0,66 \pm 0,03$ ).



Gráfica 1. Cantidad total de fenoles (mg GAE/g BS) de las variedades Robus-Brand R-997 y Pioner P-1570. Diferentes letras demuestran diferencias significativas.

Los resultados se encuentran en el rango ( $0,51 \pm 0,11$  mg GAE/ g BS) obtenido por (Merino, 2017) para la extracción del grano de maíz entero a  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Estos valores son algo menores si se comparan con los obtenidos por extracción a  $90\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $1,24 \pm 0,16$  mg GAE/ g BS) y mucho menores si se comparan con los obtenidos por (Deng et al., 2012) donde la extracción del maíz se realiza con solventes orgánicos. Estas diferencias debidas a los diferentes métodos de extracción se reflejan en la Tabla 2.

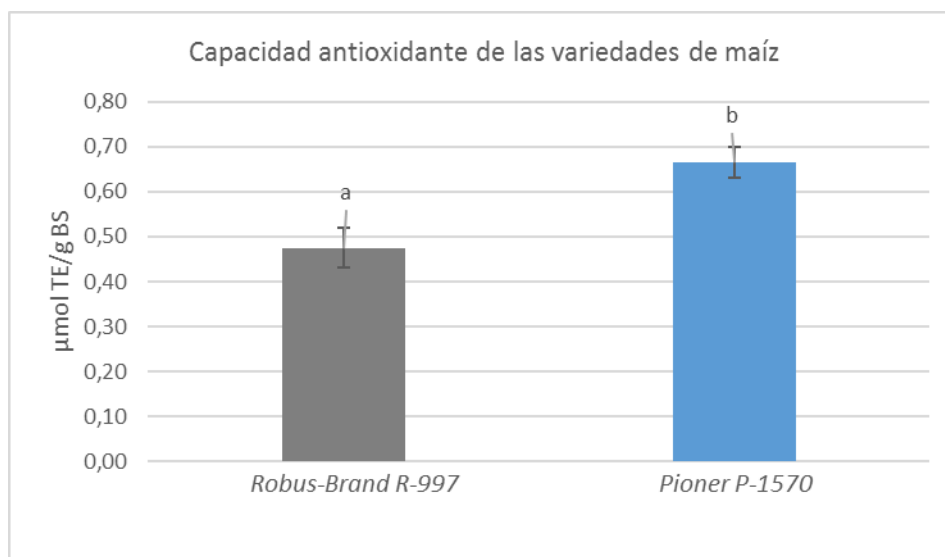
En relación con los datos para diferentes vegetales (Tabla 1), los datos obtenidos para la lampaya ( $1885,3 \pm 62,8$  mg GAE/100g BS) y para el propóleo (21,31 - 13,58 %p/p) son mucho más elevados que los del maíz, al igual que el clavo ( $788,6 \pm 42,99$  mg GAE/ml). El salvado de trigo y el ajo son junto con el maíz los vegetales con menor cantidad de fenoles totales ( $< 25$  mg GAE/ml).

### 3.1.1.3. Capacidad antioxidante.

La gráfica 2 muestra los resultados de la capacidad antioxidante de las diferentes muestras expresada en  $\mu\text{mol}$  Equivalente Trolox /g Base Seca ( $\mu\text{mol TE/g BS}$ ). El análisis de capacidad antioxidante entre variedades de maíz muestra diferencias significativas, siendo los valores de  $0,48 \pm 0,04$   $\mu\text{mol TE/g BS}$  para la variedad *Robus-Brand R-997* (maíz palomita) y  $0,66 \pm 0,03$   $\mu\text{mol TE/g BS}$  para la variedad *Pioner P-1570* (maíz convencional).

Los resultados son algo menores a los obtenidos por (Merino, 2017) para la extracción del grano de maíz entero a 40 °C ( $1,26 \pm 0,95 \mu\text{mol TE/g BS}$ ) y a 90 °C ( $1,51 \pm 1,67 \mu\text{mol TE/g BS}$ ). También son mayores los obtenidos por (Deng et al., 2012) con valores de  $1,83 \pm 0,07 \mu\text{mol TE/g}$ .

Si se comparan con los datos obtenidos para diferentes vegetales (Tabla 1), se observa que los valores obtenidos para el maíz están muy por debajo en cualquier caso, siendo el valor mínimo de  $< 50 \mu\text{mol TE/ml}$  extracto para el ajo y el salvado de trigo y el valor máximo  $5944,5 \pm 577,72 \mu\text{mol TE/ml}$  extracto para el clavo.



Gráfica 2. Capacidad antioxidante ( $\mu\text{mol TE/g BS}$ ) de las variedades Robus-Brand R-997 y Pioneer P-1570. Diferentes letras demuestran diferencias significativas.

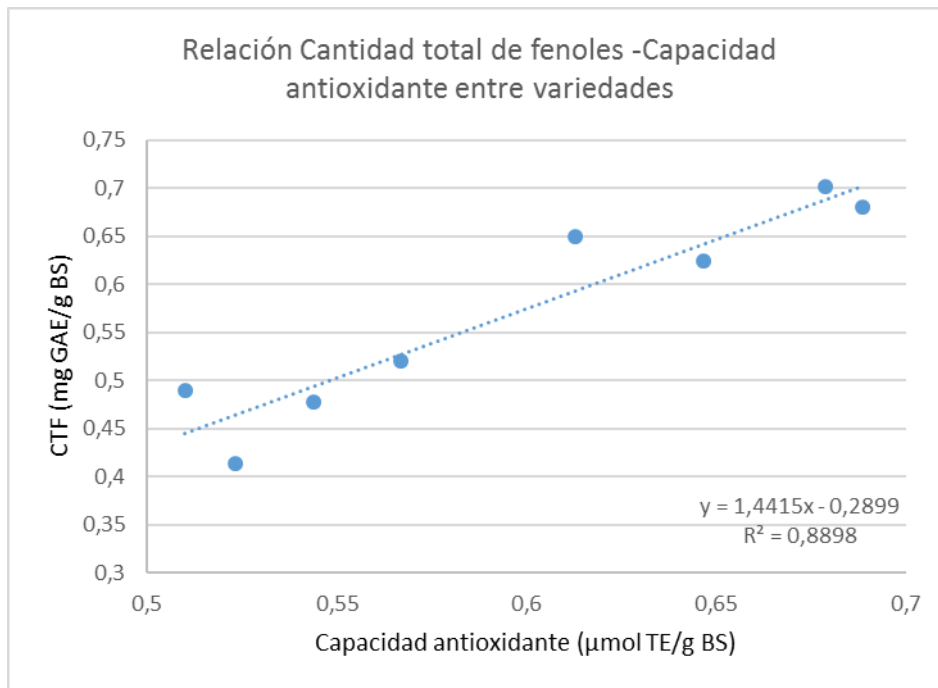
#### 3.1.1.4. Relación entre la cantidad total de fenoles y capacidad antioxidante.

Se relacionan los datos de las dos variedades de maíz, obteniendo una relación estrecha entre cantidad total de fenoles y capacidad antioxidante, como se observa en la gráfica 3. El grupo de puntos más cercano a los ejes corresponde a los datos obtenidos para la variedad Robus-Brand R-997 (maíz palomita) y los más alejados (valores más altos) a la variedad Pioneer P-1570 (maíz convencional).

*EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIPARDEANTE DE DIFERENTES EXTRACTOS DE MAÍZ EN PATATAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS CV MONALISA.*

Tabla 4. Correlación entre la cantidad total de fenoles y la capacidad antioxidante para variedades.

Correlación de Pearson	Sig. (bilateral)
0,943**	0,000
** . La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).	



Gráfica 3. Correlación entre la capacidad total de fenoles y la capacidad antioxidante de las variedades Robus-Brand R-997 y Pioner P-1570.

La relación entre cantidad de fenoles totales y capacidad antioxidante es positiva. La ecuación que representa dicha relación es:

$$y = 1,4415x - 0,2899$$

### 3.1.2. Inhibición de la PPO en las variedades de maíz.

#### 3.1.2.1. Actividad de la polifenol oxidasa (PPO).

Para el posterior estudio de la capacidad de inhibición de la PPO de los extractos es necesario previamente determinar la actividad de la polifenol oxidasa sin ningún tipo de inhibidor (actividad control) y la actividad con los inhibidores de estudio. Los resultados de la actividad de la PPO se expresan en Unidad de Actividad / min\* ml. La actividad de la PPO control es de  $747 \pm 70$  UA.



La actividad para la variedad *Robus-Brand R-997* (maíz palomita) es de  $292 \pm 122$  UA y  $400 \pm 97$  UA para la variedad *Pioner P-1570* (maíz convencional).

Se obtienen resultados de actividad menores que el valor control, esto indica la existencia de cierta capacidad inhibidora sobre la PPO.

La inhibición de la PPO se obtiene a partir de la actividad de la PPO mediante la ecuación:

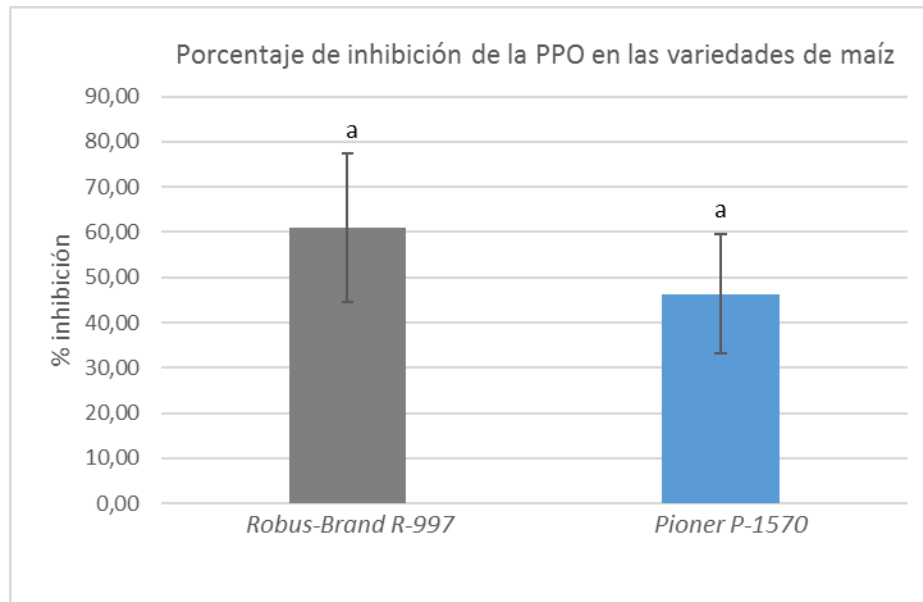
$$\% \text{ inhibición PPO} = [(actividad \text{ control} - actividad \text{ con inhibidor}) / actividad \text{ control}] * 100$$

#### 3.4.1. Porcentaje de inhibición

Se analiza el porcentaje de inhibición según las distintas variedades de maíz, no existiendo diferencias significativas entre las mismas respecto al porcentaje de inhibición de la PPO. Los valores obtenidos para la variedad *Robus-Brand R-997* (maíz palomita) es de  $60,91 \pm 16,42$  % y  $46,39 \pm 13,07$  % para la variedad *Pioner P-1570* (maíz convencional).

Si comparamos los datos obtenidos con los reportados por Merino, (2017) para concentraciones al 50 % y 80% con temperatura de extracción 40 °C, ( $59,84 \pm 34,81$  y  $43,19 \pm 11,68$ % respectivamente) se observa que nuestros datos se encuentran en dicho rango.

Comparado con otros vegetales (tabla 2), los resultados del maíz son similares a los obtenidos con el té verde ( $72,3 \pm 1,7$  %) y al salvado de arroz (41,36 - 66 %) así como con los vegetales que presentan ácido ferúlico como el ajo ( $72,9 \pm 1,3$  %) y el salvado de trigo ( $\geq 50$  %). El clavo contiene un porcentaje de inhibición para la PPO menor que el maíz (10 - 50 %).



Gráfica 4. Porcentaje de inhibición de la PPO en las variedades Robus-Brand R-997 y Pioner P-1570. Diferentes letras demuestran diferencias significativas.

Como se observa en la gráfica 7, no existen diferencias entre variedades para el porcentaje de inhibición de la PPO. Sin embargo, esta homogeneidad puede deberse a la gran desviación de datos obtenida, resultado de la inestabilidad de las muestras en el almacenamiento.

### 3.2. INHIBICIÓN DE LA PPO EN EL MAÍZ REHIDRATADO Y SECADO A TEMPERATURAS DE 40 °C, 60 °C Y 80 °C.

#### 3.2.1. Caracterización del maíz sometido a temperaturas de secado.

##### 3.2.1.1. Humedad del grano

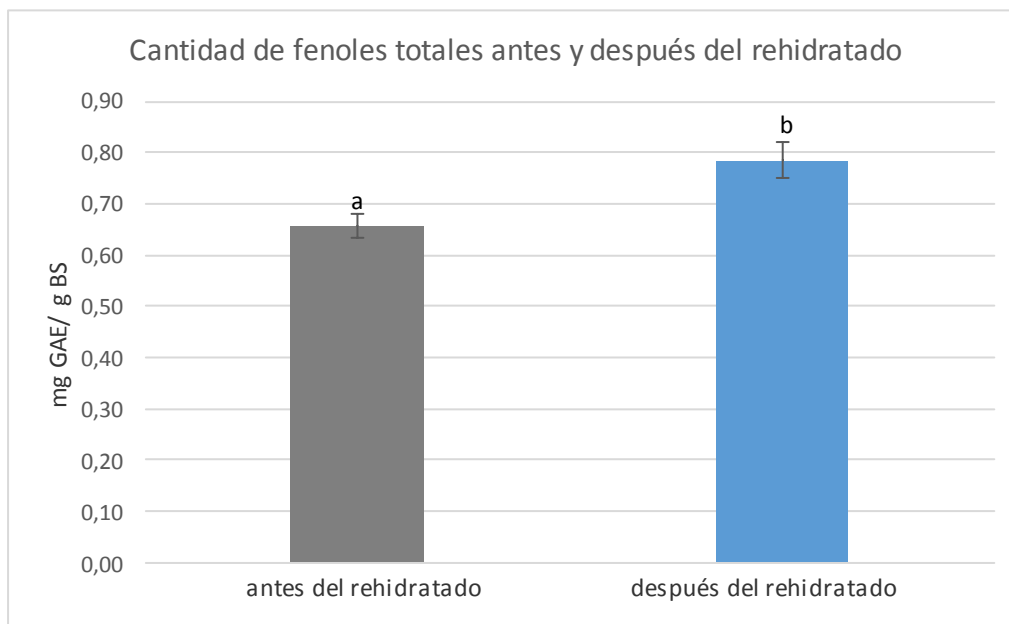
El maíz obtenido como materia prima presenta una humedad baja, ideal para el almacenamiento, por lo que para simular un maíz recién cosechado es necesario someterlo a un rehidratado y así alcanzar una humedad en el rango de un 20 – 25%. Posteriormente todas las muestras se someten al proceso de secado con distintas temperaturas (40 °C, 60 °C y 80 °C).

La humedad de los distintos extractos es analizada en el momento antes de la extracción, ya que los datos posteriores se representan en base seca (BS).

El maíz rehidratado cuenta con un porcentaje de  $27,68 \pm 0,26$  %, mientras que los extractos de maíz tras el proceso de secado cuenta con valores de  $3,50 \pm 0,24$  %,  $1,86 \pm 0,24$  % y  $1,05 \pm 0,09$  % para las temperaturas  $40$  °C,  $60$  °C y  $80$  °C respectivamente.

### 3.2.1.2. Cantidad de fenoles totales.

Tras el rehidratado, el contenido total de fenoles es de  $0,78 \pm 0,06$  mg GAE/g BS, significativamente mayor al obtenido para la misma variedad antes de la rehidratación ( $0,66 \pm 0,03$ ), como se observa en la gráfica 4.



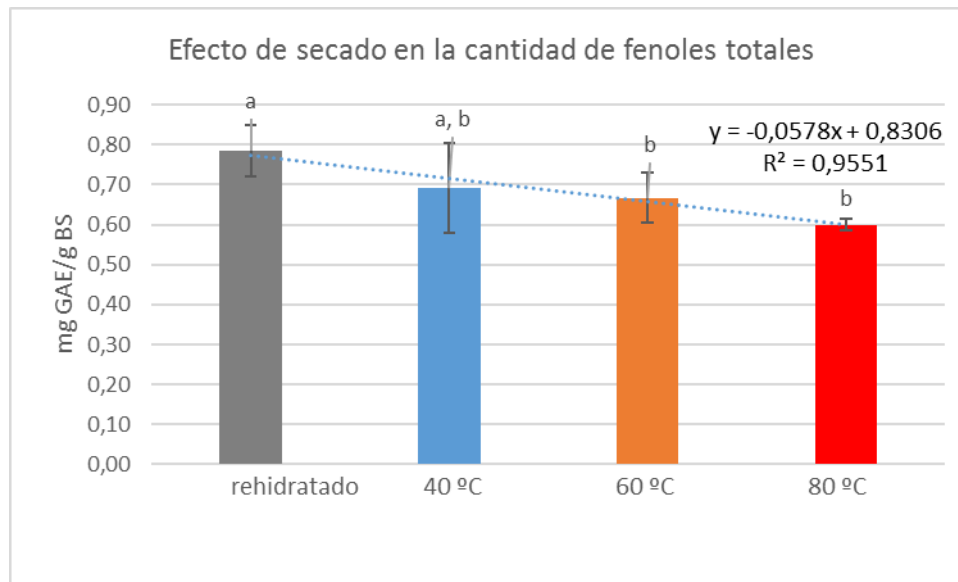
Gráfica 5. Cantidad de fenoles totales (mg GAE/g BS). Diferentes letras demuestran diferencias significativas en el contenido total de fenoles entre extracciones.

Esto podría explicarse con el hecho de que en el rehidratado se le facilita al maíz agua “extra” a la del proceso de extracción, es decir, existe una extracción previa a la propiamente dicha, a temperatura ambiente durante el tiempo que dura el proceso de rehidratación.

Además, se observan diferencias en la facilidad de extracción del maíz húmedo, la muestra queda más homogénea, con un resultado final similar a la harina. En el caso del maíz sin rehidratación, la muestra presenta diferencias en el granulado, pudiéndose comparar con arena, al igual que los extractos con tratamiento térmico.

Dado que todas las muestras son sometidas previamente a una etapa de rehidratación, el efecto de aumento en la cantidad total de fenoles debido a la rehidratación se ve igualmente afectado para todas ellas.

El secado tiene un efecto significativo sobre la cantidad de fenoles totales, creando dos grupos homogéneos tal y como se muestra en la gráfica 5.



Gráfica 6. Cantidad total de fenoles (mg GAE/g BS) para los diferentes extractos. Diferentes letras demuestran diferencias significativas.

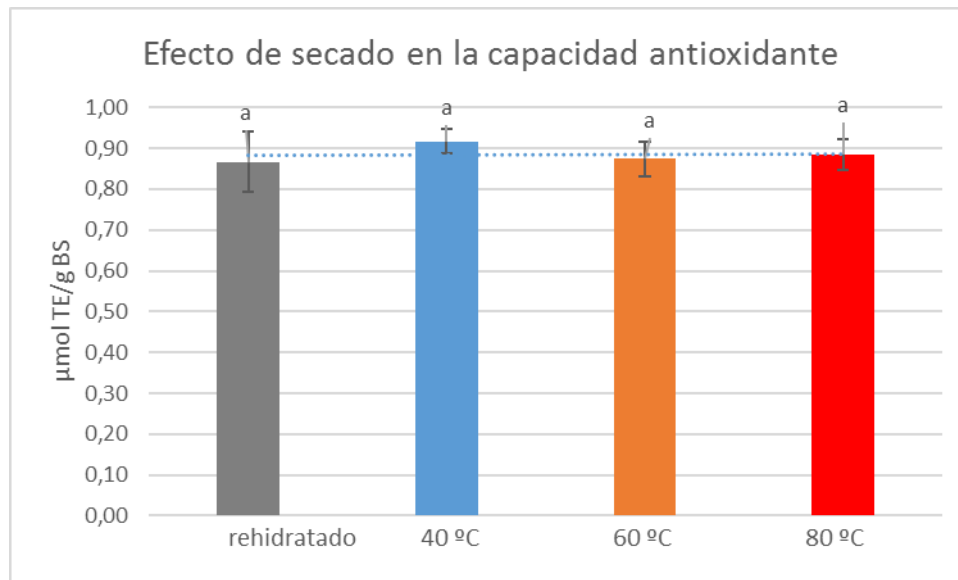
Aunque a 40 °C ( $0,69 \pm 0,11$ ) no existen diferencias significativas respecto al extracto rehidratado ( $0,78 \pm 0,06$ ), esto puede deberse a una mayor variabilidad de los datos.

Sin embargo, se observa una tendencia a la disminución de la cantidad total de fenoles con el aumento de la temperatura ( $0,69 \pm 0,11$ ,  $0,67 \pm 0,06$  y  $0,60 \pm 0,01$ ) para temperaturas de secado (40 °C, 60 °C y 80 °C) respectivamente, creando así una línea de tendencia que es descrita por la siguiente ecuación:

$$y = -0,0578x + 0,8306$$

### 3.2.1.3. Capacidad antioxidante.

Al analizar la capacidad antioxidante según la temperatura de secado (maíz rehidratado  $0,87 \pm 0,07$   $\mu\text{mol TE/g BS}$ , maíz secado a 40 °C  $0,92 \pm 0,03$   $\mu\text{mol TE/g BS}$ , maíz secado a 60 °C  $0,87 \pm 0,04$   $\mu\text{mol TE/g BS}$  y maíz secado a 80 °C  $0,88 \pm 0,04$   $\mu\text{mol TE/g BS}$ ), no se observan diferencias significativas entre las diferentes muestras, es decir, la temperatura no es un factor determinante sobre la capacidad antioxidante del maíz.



Gráfica 7. Capacidad antioxidante ( $\mu\text{mol TE/g BS}$ ) de los extractos. Diferentes letras demuestran diferencias significativas.

Encontramos múltiples estudios sobre el efecto de la temperatura de secado en diferentes vegetales, que consiguen tanto una pérdida de dicha capacidad antioxidante (Orphanides et al., 2013),(Alara, Abdurahman, Abdul Mudalip, & Olalere, 2017) como un aumento de la misma (Hossain, Barry-ryan, & Martin-diana, 2010), (H. S. Kim & Chin, 2016),(Esparza, F., Miranda, R. y Guzmán, 2016) en mayor o menor medida. Por lo que los vegetales presentan comportamientos dispares en el efecto de la temperatura de secado sobre la capacidad antioxidante.

### 3.2.2. Inhibición de la PPO en el maíz sometido a temperaturas de secado.

#### 3.2.2.1. Actividad de la polifenol oxidasa (PPO).

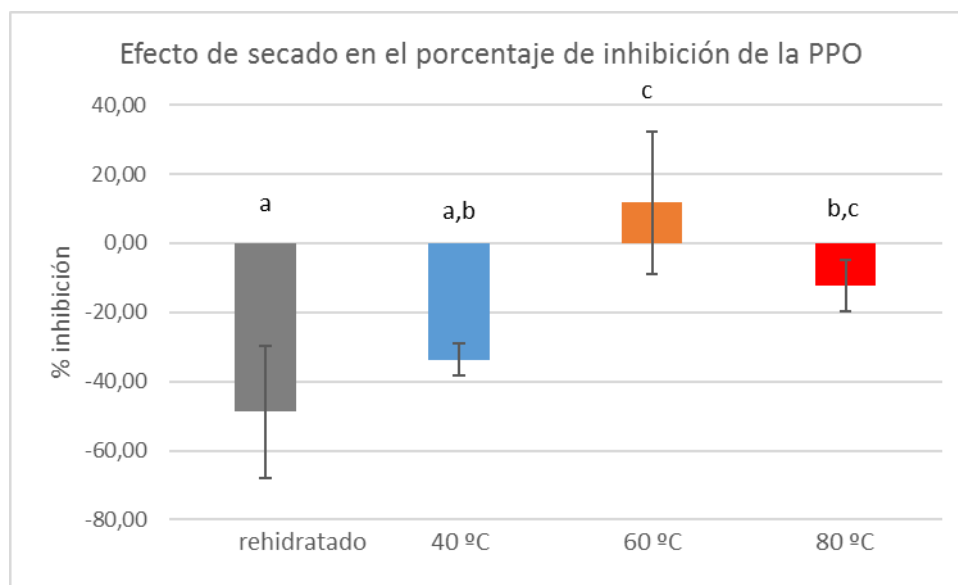
Para el estudio del efecto de secado la actividad del maíz rehidratado es de  $1111 \pm 143$  UA. Los valores correspondientes a la actividad de los extractos secados a  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$  son  $999 \pm 34$  UA,  $660 \pm 155$  UA y  $839 \pm 55$  UA, respectivamente.

Se obtienen valores mayores a los de la actividad de la PPO control, lo que se traduce a una ausencia de efecto inhibitor.

Cabe destacar la existencia de una gran variabilidad de los datos, lo cual puede deberse a la inestabilidad de las muestras en el almacenamiento.

### 3.2.2.2. Porcentaje de inhibición.

El análisis del porcentaje de inhibición de la PPO según la temperatura de secado muestra diferencias significativas entre los extractos, siendo el extracto con secado a 60 °C el único con valores positivos ( $11,70 \pm 20,74$  %). El valor más negativo es el del extracto de maíz rehidratado ( $-48,75 \pm 19,18$  %). Entre estos valores se encuentran los resultados para el secado a 40 °C ( $-33,74 \pm 4,65$  %) y secado a 80 °C ( $-12,24 \pm 7,43$  %). Las diferencias entre grupos se muestran en la gráfica 8.



Gráfica 8. Porcentaje de inhibición de los extractos. Diferentes letras demuestran diferencias significativas.

Si bien la variabilidad de los datos no permite definir con precisión, se observa una tendencia parabólica, siendo la temperatura de secado a 60 °C el valor máximo de la misma.

En cualquier caso, el proceso de rehidratación tiene un papel importante en los resultados de inhibición de la PPO, puesto que los datos no son favorables tras la realización de dicha etapa. Esto puede deberse a una mayor disponibilidad de agua, de sustratos y enzimas que favorecen reacciones enzimáticas y no enzimáticas que pueden dar lugar a productos coloreados, lo cual interfiere en la medición de la PPO, que es medida por absorbancia por un método espectrofotométrico.

## 6. CONCLUSIONES

- Hay diferencias significativas en la cantidad de fenoles totales ( $0,54 \pm 0,02$  y  $0,66 \pm 0,03$  mg GAE/g BS) y la capacidad antioxidante ( $0,48 \pm 0,04$  y  $0,66 \pm 0,03$   $\mu\text{mol TE/g BS}$ ) de las variedades (*Robus-Brand R-997* y *Pioner P-1570*), lo que indica que la variedad de maíz es determinante.
- Existe una relación fuerte y positiva entre la cantidad total de fenoles y la capacidad antioxidante para las dos variedades.
- No hay diferencias significativas en el porcentaje de inhibición de la PPO de la patata ( $60,91 \pm 16,42$  % y  $46,39 \pm 13,07$ ) para las variedades *Robus-Brand R-997* y *Pioner P-1570* respectivamente, lo que indica que la variedad de maíz no es determinante. (Los resultados están basados en muestras sometidas a una inestabilidad durante el almacenamiento).
- La temperatura de secado es un factor determinante para la cantidad de fenoles totales en el rango de  $25$  °C (temperatura ambiente) –  $80$  °C. Los cambios producidos se representan mediante la ecuación:  $y = -0,0578x + 0,8306$ .
- No hay diferencias significativas en la capacidad antioxidante para las temperaturas de secado del maíz (rehidratado  $0,87 \pm 0,07$ , secado a  $40$  °C  $0,92 \pm 0,03$ , secado a  $60$  °C  $0,87 \pm 0,04$  y secado a  $80$  °C  $0,88 \pm 0,04$   $\mu\text{mol TE/g BS}$ ). La temperatura no es un factor determinante.
- La rehidratación afecta a la cantidad total de fenoles extraídos, aumentándola significativamente de  $0,66 \pm 0,03$  a  $0,78 \pm 0,06$  mg GAE/g BS.
- No se obtienen resultados concluyentes del efecto del secado sobre la inhibición de la PPO.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

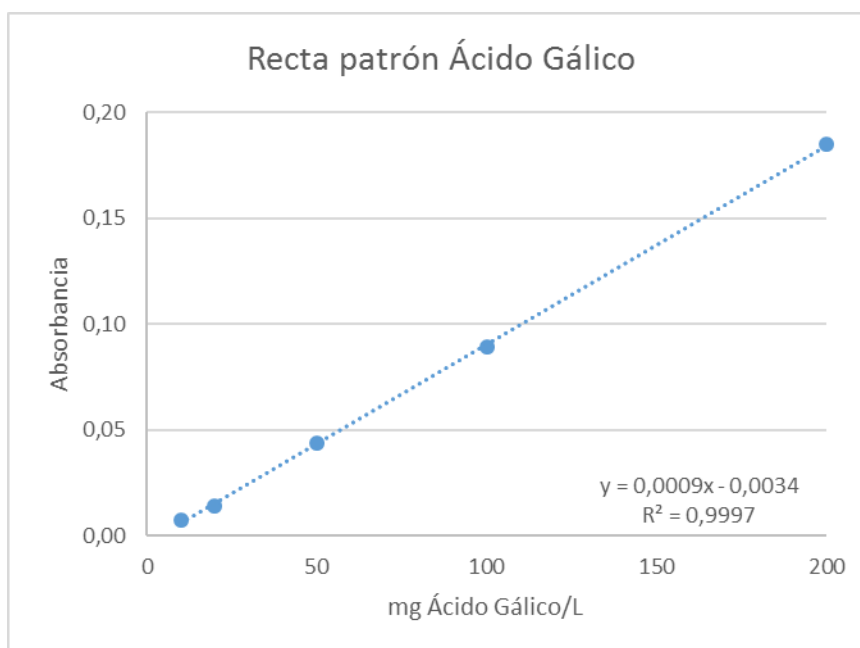
- Abadía, B., & Bartosik, R. (2013). *Manual de buenas prácticas en poscosecha de granos. Hacia el agregado de valor en origen de la producción primaria*. Retrieved from [http://inta.gob.ar/sites/default/files/inta\\_manual\\_de\\_buenas\\_practicas\\_en\\_poscosecha\\_de\\_granos\\_reglon\\_48-2.pdf](http://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_manual_de_buenas_practicas_en_poscosecha_de_granos_reglon_48-2.pdf)
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., Abdul Mudalip, S. K., & Olalere, O. A. (2017). Effect of drying methods on the free radicals scavenging activity of *Vernonia amygdalina* growing in Malaysia. *Journal of King Saud University - Science*. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2017.05.018>
- Bobo, G. (2014). Universidad Pública de Navarra.
- Boonsiripiphat, K., & Theerakulkait, C. (2009). Extraction of rice bran extract and some factors affecting its inhibition of polyphenol oxidase activity and browning in potato. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 39(2), 147–158. <https://doi.org/10.1080/10826060902800817>
- Boz, H. (2015). p-Coumaric acid in cereals: Presence, antioxidant and antimicrobial effects. *International Journal of Food Science and Technology*, 50(11), 2323–2328. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12898>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Cabrera-Soto, M., Salinas Moreno, Y., Velázquez-Cardelas, G., & Espinosa Trujillo, E. (2009). Contenido De Fenoles Solubles E Insolubles En Las Estructuras Content of Soluble and Insoluble Phenols in the Structures of Corn Grain. *Agrociencia*, 43(8), 827–839. Retrieved from <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=30215547005>
- Deng, G. F., Xu, X. R., Guo, Y. J., Xia, E. Q., Li, S., Wu, S., ... Li, H. Bin. (2012). Determination of antioxidant property and their lipophilic and hydrophilic phenolic contents in cereal grains. *Journal of Functional Foods*, 4(4), 906–914. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.06.008>
- Esparza, F., Miranda, R. y Guzmán, S. (2016). Efecto de la temperatura sobre los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante en el residuo de la producción de jugo de mandarina (*Citrus reticulata* Satsuma). *Investigación Y Desarrollo En Ciencia Y Tecnología de Alimentos*, 1(1), 843–850.
- Ezkurra, K. M. (2016). Luis M . Larraya Retadirigido por: José Ignacio Ruiz de Galarreta Junio , 2016.
- Garrido, G., Ortiz, M., & Pozo, P. (2013). Fenoles y flavonoides totales y actividad



- antioxidante de extractos de hojas de *Lampaya medicinalis* F.Phil. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 1(1), 30–38. Retrieved from <http://jppres.com/jppres>
- Gonzalez, M., National, S., & Agrarias, I. (2016). Técnicas de Procesamiento de Hortalizas Cortadas, (January 2005).
- Grande Tovar, C. D., & Orozco Colonia, B. S. (2013). Producción y procesamiento del maíz. *Guillermo de Ockham*, 11(1), 97–110. [https://doi.org/ISSN: 1794-192X](https://doi.org/ISSN:1794-192X)
- Hossain, M., Barry-ryan, C., & Martin-diana, A. B. (2010). Effect of Drying Method on the Antioxidant Capacity of Six Lamiaceae Herbs. *Food Chemistry*, 123(1), 85–91. <https://doi.org/10.21427/D74628>
- Hou, Z., Feng, Y., Wei, S., & Wang, Q. (2014). Effects of Curing Treatment on the Browning of Fresh-cut Potatoes. *American Journal of Potato Research*, 91(6), 655–662. <https://doi.org/10.1007/s12230-014-9396-6>
- Kim, H. S., & Chin, K. B. (2016). Effects of Drying Temperature on Antioxidant Activities of Tomato Powder and Storage Stability of Pork Patties. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36(1), 51–60. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.1.51>
- Kim, K. H. (1997). On polyphenyl activity, 21.
- Kubglomsong, S., & Theerakulkait, C. (2014). Effect of rice bran protein extract on enzymatic browning inhibition in vegetable and fruit puree. *Kasetsart Journal - Natural Science*, 48(2), 205–213.
- Le, N., Peque, E. A., Monterrey, M. C., Le, N., Culiac, U., Dorado, E., ... Canad, E. El. (2016). ÁCIDOS FENÓLICOS CON ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN SALVADO DE MAÍZ Y SALVADO DE TRIGO Phenolic acids with antioxidant activity in maize bran and wheat bran MATERIALES Y MÉTODOS, 3(7), 43–50.
- Magdeldin, S., & Moser, A. (2017). World's largest Science, Technology & Medicine Open Access book publisher : <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.68547>
- MAPAMA. (2005). 2. El Consumo de Productos Ecológicos.
- MERCASA. (2017). Alimentación esn España 2017, Frutas y Hortalizas. *Frutas Y Hortalizas*, 51. Retrieved from <http://www.asohofrucol.com.co/archivos/revista/revista9.pdf>
- Merino, G. (2017). Estudio de nuevos productos naturales como el maíz, la canela o el perejil y sus posibles sinergias como antipardeantes en patatas mínimamente procesadas cv Monalisa Resumen.
- Mex-Álvarez, R. M. J., Bolívar-Fernández, N. J., Garma-Quen, P. M., Tut-Heredia, J. A., & Romero-Guillén, K. I. (2013). Actividad antioxidante de cinco variedades de maíz cultivadas en Campeche, México. *Boletín Latinoamericano Y Del Caribe de Plantas Medicinales Y Aromaticas*, 12(6), 558–571.
- Orphanides, A., Goulas, V., & Gekas, V. (2013). Effect of Drying Method on the

- Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Spearmint. *Czech J. Food Sci*, 31(5), 509–513.
- Paper, O. S. (2014). Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina Total Phenolic Content and Antioxidant Capacity in Infusions of Various Herbal Teas, (January 2016).
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>
- Serrano, A. C. (2013). Estrategias dirigidas a retrasar el pardeamiento enzimático en productos destinados a la IV gama: alcachofas y patatas, 196. Retrieved from <http://helvia.uco.es/xmlui/handle/10396/9760>
- Sinha, N. K., Hui, Y. H., Evranuz, E. Ö., Siddiq, M., & Ahmed, J. (2011). Handbook of Vegetables and Vegetable Processing. *Handbook of Vegetables and Vegetable Processing*, (2010), 1522–1528. <https://doi.org/10.1002/9780470958346>
- Stewart, J. J. P., Santacoloma-Varón, L. E., Granados, J. E., Sampedro, M. P., Salido M., Abásolo L., Bañares, a., Pérez, A., ... Tovar, C. F. (2014). Capítulo II. *Revista Cubana De Cardiología Y Cirugía Cardiovascular*, 22(1), 61–104. Retrieved from [http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/viewFile/798/814%5Cnhttp://bvs.sld.cu/revistas/car/vol14\\_1\\_00/car08100.htm%5Cnhttps://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01134421%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10920275%5Cnhttp://riaa.u-nad.edu.co/PDF11/](http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/viewFile/798/814%5Cnhttp://bvs.sld.cu/revistas/car/vol14_1_00/car08100.htm%5Cnhttps://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01134421%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10920275%5Cnhttp://riaa.u-nad.edu.co/PDF11/)
- Sukhonthara, S., Kaewka, K., & Theerakulkait, C. (2016). Inhibitory effect of rice bran extracts and its phenolic compounds on polyphenol oxidase activity and browning in potato and apple puree. *Food Chemistry*, 190, 922–927. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.016>
- Toivonen, P. M. A., & Brummell, D. A. (2008). Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables, 48, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.09.004>
- Tsouvaltzis, P., & Brecht, J. K. (2017). Inhibition of Enzymatic Browning of Fresh-Cut Potato by Immersion in Citric Acid is Not Solely Due to pH Reduction of the Solution. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(2). <https://doi.org/10.1111/jfpp.12829>

## ANEXO 1. RECTA PATRÓN ÁCIDO GÁLICO.



Gráfica 9. Recta patrón Ácido Gálico.

Recta patrón de ácido gálico de 10 – 200 mg L<sup>-1</sup> (10, 20, 50, 100, 200 mg AG/L).

Con la ecuación de la recta se extrapolan los datos obtenidos y se expresan como mg de ácido gálico/ g de extracto seco.

## ANEXO 2. RECTA PATRÓN TROLOX.

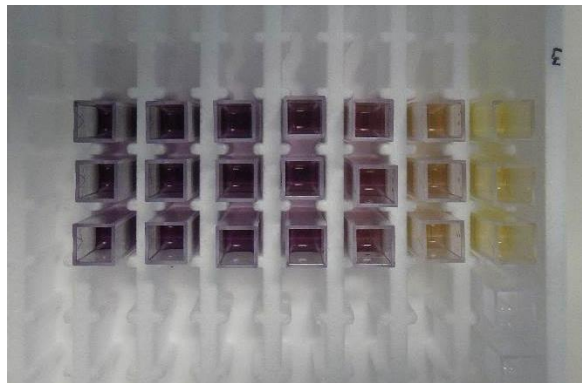
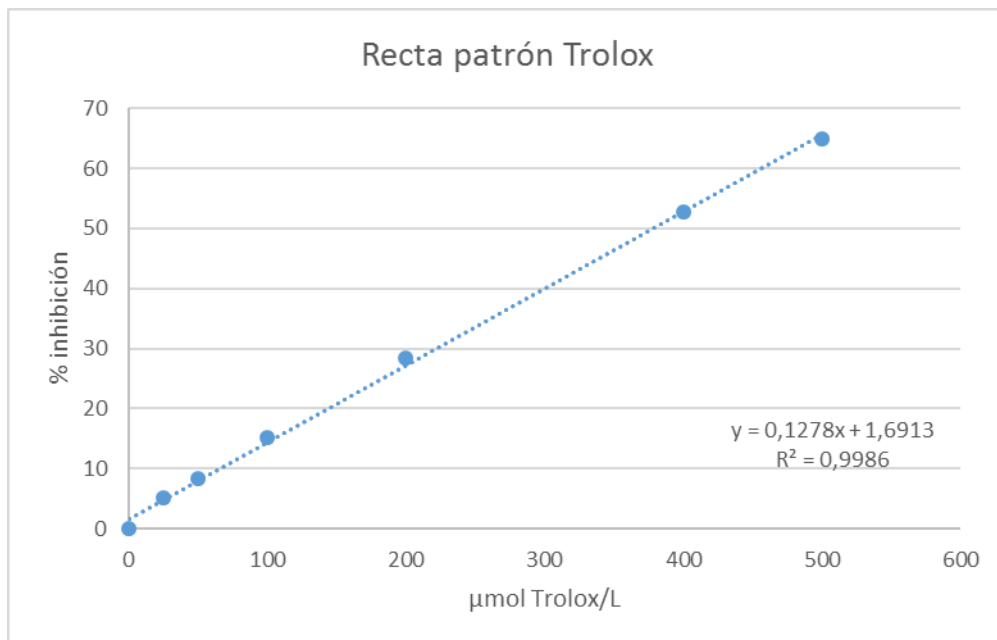


Ilustración 5. Concentraciones Trolox.



Gráfica 10. Recta patrón Trolox.

Recta patrón con concentraciones 25 - 500 µmol/L (25, 50, 100, 200, 400, 500 µmol/L) en una solución 50% etanol 50% agua ultrapura.

Con la ecuación de la recta se extrapola y los datos obtenidos se expresan como µmol Equivalentes de Trolox / g de extracto seco.