

Universidad Pública de Navarra

Nafarroako Unibertsitate Publikoa

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR
DE INGENIEROS AGRÓNOMOS**

*NEKAZARITZAKO INGENIARIEN
GOI MAILAKO ESKOLA TEKNIKOA*

**ESTUDIO DEL EFECTO ANTIPARDEANTE DE LA MIEL EN PATATA
MÍNIMAMENTE PROCESADA CV. *MONALISA***

presentado por

Ignacio Artazcoz Irigoyen (e)k

aurkeztua

**GRADO EN INNOVACIÓN EN PROCESOS Y PRODUCTOS ALIMENTARIOS
*GRADUA ELIKAGAI PROZESU ETA PRODUCTUEN BERRIKUNTZAN***

Enero, 2019 / 2019, *Urtarrila*

ABSTRACT

Due to the demographic change that the world population suffers, the minimally processed products are more and more present in the market. In the past, these products consisted of food of fast consumption, with a very reduced nutritional value, called by population "fast food". The current and constant concern about the healthy diet has caused the increase of the consumption of minimally processed vegetables and with it the concern about the use of synthetic preservatives used to extend the shelf life of these products. This has led to the opening of a line of research and development of minimally processed products with additives with a natural origin. That is why this project is elaborated, in which honey is studied as a natural additive. It is a product with many beneficial properties, among which is found its antioxidant capacity. As a minimally processed product, the cv. *Monalisa* potato is chosen, because of the fact that it presents a high consumption and it contains the enzyme Polyphenol oxidase (PPO) present in many fruits and vegetables. Through this study, the inhibition capacity of honey at 10, 20, 30 and 40% is determined and the most suitable concentration is selected. It is also put into practice the combination with other natural antioxidants such as citric acid and ascorbic acid. Once the treatments have been selected, they are processed in a pilot plant and the pH, colour and organoleptic characteristics are analyzed. After storage for 14 days in refrigeration and through a digital image analysis equipment CIELAB, a result is obtained for the treatment of honey and honey with ascorbic acid from the coordinates L* ($78,12 \pm 1,15$; $80,90 \pm 1,90$), a* ($9,20 \pm 0,90$; $7,67 \pm 1,55$) and b* ($41,61 \pm 1,77$; $45,28 \pm 2,77$) respectively, which state that honey can inhibit the PPO enzyme for at least 14 days. Therefore it is certified that honey can be used as a natural antioxidant.

Key Words: Honey, cv. *Monalisa*, natural antioxidant, citric acid, ascorbic acid, minimally process product

RESUMEN

Debido al cambio demográfico que sufre la población mundial, cada vez son más los productos mínimamente procesados presentes en todo mercados. Antiguamente, estos productos consistían en alimentos de consumo rápido, con un valor nutricional muy reducido, denominado por la población como “comida basura”. La actual y constante preocupación por la alimentación saludable, ha provocado que el consumo de verduras y hortalizas mínimamente procesadas aumente y con ello la preocupación por el uso de conservantes sintéticos empleados para aumentar la vida útil de estos productos. Esto ha provocado que se abra una línea de investigación y desarrollo de productos mínimamente procesados con aditivos de origen natural. Por ello, se elabora este trabajo, en el que se estudia la miel como aditivo natural. Es un producto con muchas propiedades beneficiosas, entre las que se encuentra su capacidad antioxidante. Como producto mínimamente procesado se escoge la patata cv. *Monalisa*, debido a que contiene la enzima polifenol oxidasa (PPO) presentes en muchas frutas y verduras. Mediante este estudio se determina la capacidad de inhibición de la miel al 10, 20, 30 y 40% y se selecciona la concentración más adecuada. También se pone en práctica la combinación con otros antioxidantes naturales como son el ácido cítrico y el ácido ascórbico. Una vez seleccionados los tratamientos, se procesa en planta piloto y se analiza el pH, color y características organolépticas. Tras un almacenamiento de 14 días en refrigeración y mediante un equipo de análisis de imagen digital CIELAB, se obtiene un resultado para el tratamiento de miel y miel con ácido ascórbico de las coordenadas L^* ($78,12 \pm 1,15$; $80,90 \pm 1,90$), a^* ($9,20 \pm 0,90$; $7,67 \pm 1,55$) y b^* ($41,61 \pm 1,77$; $45,28 \pm 2,77$) respectivamente, que afirman que la miel puede inhibir la enzima PPO durante al menos 14 días. Por lo que se certifica que la miel puede utilizarse como un antioxidante natural.

Palabras clave: Miel, cv. *Monalisa*, antioxidante natural, ácido cítrico, ácido ascórbico, producto mínimamente procesado.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	6
1.1. PROBLEMÁTICA DE FRUTAS Y HORTALIZAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS	6
1.2. SOLUCIÓN ACTUAL DE LA INDUSTRIA ALIMENTARIA	7
1.2.1. Antioxidantes alimentarios	7
1.2.2. Antioxidantes sintéticos	8
1.2.3. Antioxidantes naturales	9
1.3. LA MIEL COMO ANTIOXIDANTE NATURAL	13
1.4. PATATA CV. <i>MONALISA</i> COMO PRODUCTO MÍNIMAMENTE PROCESADO	14
2. OBJETIVOS	16
3. PLAN DE TRABAJO	17
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	18
4.1. MATERIAS PRIMAS BÁSICAS.....	18
4.2. MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE LA PPO	18
4.2.1. Extracción de la enzima PPO de patata cv. <i>Monalisa</i>	18
4.2.2. Determinación de la actividad de la PPO	20
4.2.3. Determinación de la inhibición de la PPO	20
4.3. MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE LA PATATA MÍNIMAMENTE PROCESADO Y EFICACIA ANTIPARDEANTE	23
4.3.1. Estudio acelerado de los tratamientos en producto terminado	23
4.3.2. Elaboración del producto mediante un escalado industrial	23
4.3.3. Determinación del pH	27
4.3.4. Determinación del color.....	27
4.3.5. Medida de las características organolépticas del producto.....	29
4.3.6. Análisis estadístico	29

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
5.1. ACTIVIDAD DE LA PPO	30
5.2. INHIBICIÓN DE LA MIEL SOBRE LA ENZIMA PPO DE LA PATATA.....	30
5.3. COMBINACIÓN DE MIEL CON ÁCIDOS ORGÁNICOS.....	31
5.4. ESTUDIO DE 24 HORAS EN EL LABORATORIO DE LA PATATA MÍNIMAMENTE PROCESADA CON DISTINTOS TRATAMIENTOS.....	32
5.5. ESTUDIO DEL EFECTO DE LOS DIFERENTES SOLUCIONES EN PATATA MÍNIMAMENTE PROCESADA A LO LARGO DE 14 DÍAS	34
5.5.1. Medida de pH.....	34
5.5.2. Medida del color	35
5.5.3. Apreciaciones organolépticas	39
6. CONCLUSIONES	41
7. BIBLIOGRAFÍA	42

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ejemplos de productos con compuestos antioxidantes naturales.	12
Tabla 2. Consumo mundial de patata en toneladas durante el 2012 y 2016 en toneladas (FAO, 2016).	14
Tabla 3. Cantidades (μ l) y reactivos que contiene una microplaca.	21
Tabla 4. Porcentajes que se utilizan en cada tratamiento.....	24
Tabla 5. Porcentaje de inhibición de la miel según su concentración.	31
Tabla 6. Inhibición de las diferentes concentraciones de miel con ácido ascórbico y ácido cítrico.....	31
Tabla 7. Evolución del pH según el tratamiento aplicado en los días 0, 7 y 14.	34
Tabla 8. Características organolépticas apreciadas en el producto a lo largo del tiempo según el tratamiento.	39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Reacción de degradación de la enzima polifenol oxidasa (PPO) (Yoruk & Marshall, 2003).	¡Error! Marcador no definido.
Figura 2. Envase de miel multiflores	18
Figura 3. Centrífuga Sigma 3K30.	19
Figura 4. Distribución de las muestras en la multiplaca (Direct Industri, s.f.).	21
Figura 5. Multipipeta utilizada en el proyecto.	21
Figura 6. Equipo Thermo Scientific Multiskan GO.	22
Figura 7. De izquierda a derecha y de arriba a abajo: Cortadora de fiambre (Bosh), balanza, bandejas, envasadora Sammic.	25
Figura 8. Diagrama de flujo del proceso de la patata mínimamente procesada.	26
Figura 9. PH-metro.	27
Figura 10. Sistema de análisis de imagen digital DigiEye.	28
Figura 11. Multiplaca del ensayo de 30 % de miel con AC en las columna 3, 4 y 5; AA en la 6, 7 y 8; AA+AC en la 9, 10, 11 y 12.	32
Figura 12. De izquierda a derecha: Tratamiento de Miel + AA; AA; AA + AC a tiempo 0.	33
Figura 13. De izquierda a derecha: Tratamiento de Miel + AA; AA; AA + AC a tiempo 1 hora.	33
Figura 14. De izquierda a derecha: Tratamiento de Miel + AA; AA; AA + AC a tiempo 10 horas.	33
Figura 15. De izquierda a derecha: Tratamiento de Miel + AA; AA; AA + AC a tiempo 24 horas.	33
Figura 16. Imágenes tomadas mediante el sistema de análisis de imagen. De izquierda a derecha, por columnas: Control, Ácido ascórbico, Miel y Miel con Ácido ascórbico.	38
Figura 17. Patatas mínimamente procesadas cocinadas mediante el planchado. De izquierda a derecha: Control, miel y miel con ácido ascórbico.	40

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Actividad enzimática de la PPO de la patata cv. Monalisa	30
Gráfica 2. Variación del parámetro L* (luminosidad) a lo largo del tiempo.	35
Gráfica 3. Variación del parámetro a* (rojo-verde) a lo largo del tiempo.	36
Gráfica 4. Variación del parámetro b* (amarillo-azul) a lo largo del tiempo.	37

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente, el mercado sigue la tendencia de obtención y consumos de frutas y hortalizas mínimamente procesadas, o como también se les denomina, IV Gama. Según la Asociación Española de Frutas y Hortalizas Lavadas y Listas para su Empleo, se define como los productos vegetales frescos preparados, lavados y envasados, que pueden ser troceados o cualquier operación relativa a la integridad física del producto, listo para consumir o cocinar y destinados para el consumo humano, manteniendo sus propiedades naturales y su frescura.

Anteriormente, la demanda de estos productos de IV gama procedía de empresas dedicadas a catering y canales de restauración (Bobo García, 2014). Hoy en día, el aumento de jóvenes independientes y el ritmo de vida de la población (horarios de trabajo, los dos miembros de la pareja trabajando, desconocimiento de cocina, etc...), ha producido un aumento del consumo de platos fáciles de elaborar, sin renunciar a una alimentación sana (MAPAMA, 2018).

Los productos de IV gama tienen una vida comercial más reducida que el producto fresco debido a que sufre las operaciones de corte y preparación, que provocan daños mecánicos en los tejidos, lo que incita al pardeamiento enzimático, acelera la pérdida de consistencia y facilita la actividad de los microorganismos (Cabezas Serrano, 2013). Esto exige un mantenimiento de cadena de frío para su conservación y un periodo corto de vida útil (Bobo García, 2014).

En especial, en fruta y hortalizas mínimamente procesadas, a causa de los daños provocados por las operaciones mecánicas, se produce un aumento de la respiración y producción de etileno, lo que conlleva una acelerada maduración, ablandamiento, pérdida de agua y deterioro en general. El pardeamiento de las frutas y hortalizas se produce por reacciones de oxidación. Tienen un origen enzimático y están parcialmente catalizadas por la enzima PPO (polifenol oxidasa) teniendo una actividad alta en aquellas frutas y vegetales con elevados compuestos polifenólicos. La reacción de esta enzima con el oxígeno provoca modificaciones en las características organolépticas, provocando cambios de importantes de color, sabor, textura, desprendimiento de olores y efectos negativos sobre el valor nutricional (Morante Carriel et al., 2014).

1.1. PROBLEMÁTICA DE FRUTAS Y HORTALIZAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS

La PPO es una enzima que está presente en el interior de todas las frutas y hortalizas que, cuando sufren daños en los procesos mecánicos, se queda expuesta a diferentes factores atmosféricos de deterioro, por lo que la enzima reacciona con posibles sustratos en presencia de oxígeno, provoca la degradación de los compuestos hasta alcanzar el estado de pardeamiento, en el cuál el producto pierde sus compuestos nutritivos y las cualidades organolépticas características de cada producto (Morante Carriel et al., 2014).

En presencia de oxígeno la enzima unida a los sustratos, sigue dos reacciones. La primera reacción es la hidroxilación de monofenoles como consecuencia del oxígeno. Este capta el hidroxilo libre formando una molécula de agua y liberándola a la atmosfera transformando el compuesto a o-difenoles. En la segunda ocurre lo mismo pero trasforma el compuesto o-difenol a o-quinona. Es en este punto donde aparece el pardeamiento de la patata mínimamente procesada (Yoruk & Marshall, 2003).

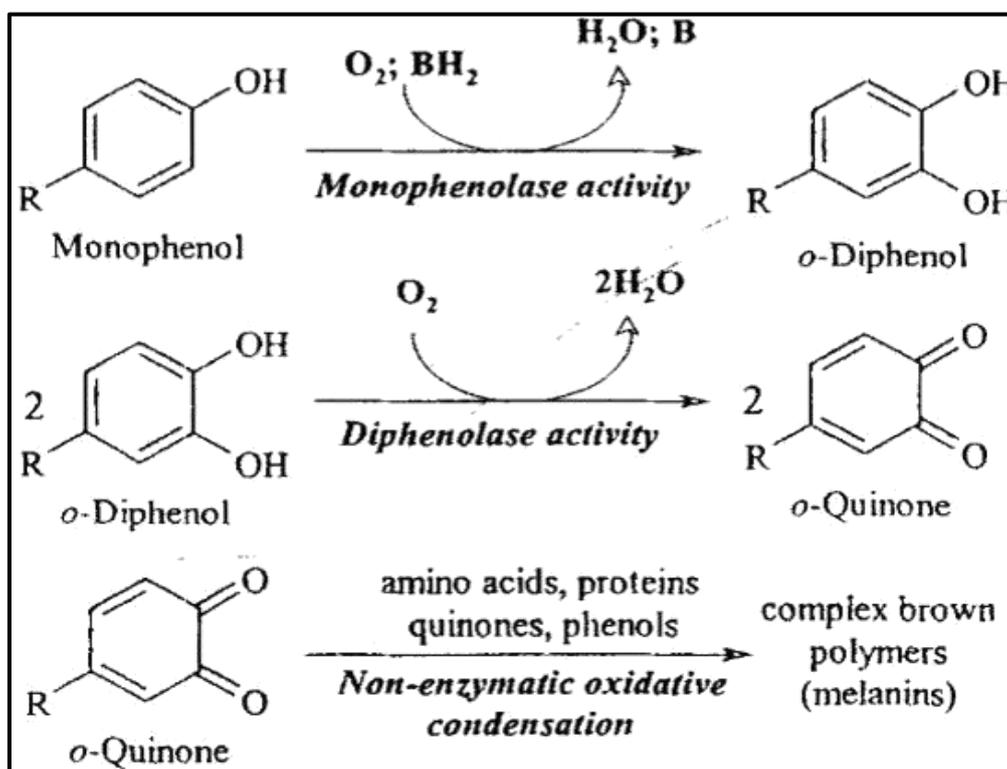


Figura 1. Reacción de degradación de la enzima polifenol oxidasa (PPO) (Yoruk & Marshall, 2003).

Para evitar estas reacciones de degradación, las empresas alimentarias utilizan antioxidantes sintéticos. Poco a poco, van disminuyendo su incorporación, debido a la utilización de antioxidantes naturales ya que es lo que demanda los consumidores actualmente.

1.2. SOLUCIÓN ACTUAL DE LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

1.2.1. Antioxidantes alimentarios

Para evitar el pardeamiento enzimático y alargar la vida útil del producto lo máximo posible, la industria alimentaria utiliza diferentes tipos de aditivos (sustancias que no se consume normalmente como alimento, con o sin valor nutritivo que se incorporan un alimento únicamente con fines tecnológicos u organolépticos (Diario Oficial de la Unión Europea, 2008)). Para que un aditivo pueda comercializarse, tiene que cumplir una serie de requisitos de seguridad e inocuidad, que se muestra ante los consumidores con la letra E en la parte del etiquetado de los productos (Ibáñez, Torre, & Irigoyen, 2003). Hay distintos tipos de aditivos. En nuestro caso, se va a estudiar el efecto de los antioxidantes.

Los antioxidantes son sustancias que prolongan la vida útil de los alimentos protegiéndolos del deterioro causado por la oxidación, como ocurre en el enranciamiento de las grasas y los

cambios de color de los productos (Unión Europea, 2008). Por ello estas sustancias tienen siempre carácter reductor. Se les conoce como un grupo de moléculas con capacidad para neutralizar los efectos negativos de los radicales libres y el estrés oxidativo (Pinchuk, Shoval, Dotan, & Lichtenberg, 2012).

Estos compuestos pueden tener estructuras químicas y modo de acción muy diferentes, pero tienen en común su capacidad de inhibir o frenar los mecanismos de oxidación (Niki, 2010). Pueden actuar solos o mezclarse entre sí para impedir o retardar la oxidación catalítica y los procesos que elevan o causan el enranciamiento natural provocado por la acción del aire o la luz en los diferentes productos (Cubero, Monferrer, & Villalta, 2002).

Los antioxidantes tienen diversos criterios de clasificación. En este caso, se califican según su obtención en: antioxidantes sintéticos, sintetizados mediante extracción química y antioxidantes naturales, procedentes de compuestos naturales. En esta clasificación existe una excepción con dos ácidos orgánicos, como son el ácido cítrico y el ácido ascórbico, que se obtiene de forma química, pero reciben el nombre de antioxidante natural (Carocho, Barreiro, Morales, & Ferreira, 2014).

1.2.2. Antioxidantes sintéticos

Algunos de los antioxidantes sintéticos más utilizados en la industria alimentaria son: sulfitos, nitritos, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolurno butilado (BHT) o butilhidroquinona terciaria (TBHQ) (Ros, Martínez, & Nieto, 2015). Estos compuestos fenólicos se utilizan para inhibir la oxidación lipídica de los productos alimentarios. También se pueden incorporar a los alimentos como recubrimientos comestibles (Nisperos-Carriedo, E. Shaw, & Baldwin, 1990).

La oxidación lipídica, al igual que la oxidación enzimática, produce un sabor desagradable y la pérdida de la calidad. Para estabilizar los productos, la industria alimentaria utiliza estos compuestos sintéticos. Se pueden encontrar este tipo de antioxidantes en productos de bollería como pasteles, tartas o galletas o también en productos como chicles, aceites vegetales y margarinas (Leclercq, Arcella, & Turrini, 2000).

Algunos de los mecanismos de actuación de los antioxidantes sintéticos no está claro, provocan la inhibición directa de la enzima, interaccionando con las reacciones intermedias o pueden actuar como agentes reductores convirtiendo a las quinonas en difenoles. A pesar de su efectividad, se ha estudiado su toxicología y actualmente está siendo cuestionada. Por ello se aconseja la restricción de estos compuestos, debido a que provocan efectos adversos para la salud. Por este motivo, cada vez se recurre más al uso de productos naturales para la solución del problema de la PPO. (Carriel et al., 2014).

En los últimos años, los consumidores, preocupados por los posibles efectos que sobre su salud puedan tener los antioxidantes sintéticos, buscan, cada vez más productos que no los contengan por lo que se hace necesario buscar alternativas naturales para estas sustancias.

1.2.3. Antioxidantes naturales

Los antioxidantes naturales, además de intentar alargar la vida útil del producto, tiene beneficios para la salud del consumidor, reduciendo el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, neurológicas y diversas formas de cáncer (Subirats et al., 2010).

Los compuestos a estudiar son los ácidos orgánicos. Tienen diversas propiedades por las que se incorporan en la industria alimentaria que pueden ser fuente de estudio:

- a) Poder acidulante cuyo objetivo es el control uniforme del pH en el producto final.
- b) Capacidad amortiguadora o reguladora del pH. En pH bajo, retarda el crecimiento de microorganismos indeseables. De esta forma se reduce la necesidad de tratamientos térmicos drásticos y promueve la inactivación enzimática.
- c) Agente quelante de iones metálicos. Estos iones son catalizadores de reacciones indeseables en alimentos como decoloración, rancidez, pérdida de nutrientes, etc.
- d) Emulsificantes.
- e) Efectos organolépticos.

(Muñoz Villa, Sáenz Galindo, López López, Cantú Sifuentes, & Barajas Bermúdez, 2014)

Entre los ácidos orgánicos más utilizados en la industria alimentaria se encuentran el ácido ascórbico y el ácido cítrico. Su utilización se puede encontrar por separado, juntos o acompañando a otros antioxidantes tanto sintéticos como naturales.

1.2.3.1. Ácido ascórbico.

El ácido ascórbico o vitamina C es una vitamina hidrosoluble, es decir, se disuelve en agua y se encuentra en frutas y hortalizas (Quintín Martínez, 2015). El hombre es el único ser vivo que no puede sintetizarla, por lo que debe incorporarla en la dieta. La deficiencia de esta vitamina provoca daños relacionados con la síntesis del colágeno, ya que es un factor esencial en este proceso. La consecuencia clínica es el escorbuto, una enfermedad que va desde la debilidad de las encías hasta hemorragias diseminadas en todo el organismo (Calvo, 2014).

En la industria alimentaria, es el aditivo antioxidante más ampliamente utilizado. Se utiliza en procesado de alimentos, frutos, vegetales, carne, pescado, leche, grasas, aceites, harinas, bebidas no alcohólicas, cerveza y vino. Es muy importante debido a que produce las siguientes reacciones:

- Secuestro de varias formas de oxígeno (oxígeno singulete, radical hidroxilo y superóxido).
- Reducción de radicales libres, frenando las reacciones en cadena y previniendo daños en los alimentos (Maestro Durán & Padilla, 1993). Por un lado, consume el oxígeno del medio, y por otro lado reacciona con productos intermedios de la reacción de pardeamiento desplazándola y formando otros compuestos que no presentan color sobre el producto (Quintín Martínez, 2015).
- Reducción de los radicales antioxidantes primarios, actuando como sinergia (actúan conjuntamente) de estos.
- Oxidación del escorbuto por el oxígeno molecular en presencia de iones metálicos.

Este ácido mediante las anteriores reacciones realiza deferentes funciones. Por ejemplo, con las grasas insaturadas, en presencia de un antioxidante fenólico y ácido ascórbico, el primero cede hidrogeno al peróxido y lo recupera el ácido ascórbico, regenerándose el antioxidante fenólico. En cambio, en frutas y hortaliza, evita su pardeamiento. Las fenolasas oxidan a los o-difenoles y flavonoides dando lugar a o-quinonas de color oscuro. Por ello en presencia de ácido ascórbico, las o-quinonas se reducen evitando el pardeamiento (Maestro Durán & Padilla, 1993).

Al ser un compuesto hidrosoluble puede perderse por lixiviación. La pérdida del ácido ascórbico está relacionada con la superficie de contacto, de modo que se pierde con mayor facilidad en vegetales de forma laminar o alimentos troceados (Calvo, 2014).

Para evitar su pérdida, se necesita otro compuesto que permita fijar el ácido ascórbico al alimento, evitando así su pérdida y de esta forma poder alargar su capacidad antioxidante en el alimento aumentando su vida útil.

1.2.3.2. Ácido cítrico

El ácido cítrico o ácido 2-hidroxi-1, 2, 3-popanotricarboxílico, es un ácido orgánico natural y se encuentra en casi todas las frutas, pero sobre todo en limón, naranja, mandarina. Aunque este ácido se suele sintetizar en el laboratorio. Tiene numerosos campos de aplicación como la industria alimentaria, farmacéutica, y cosmética entre otros. De forma sintética se encuentra en forma de polvo cristalino blanco, cuya producción actual se estima en millones de toneladas por años. El constante aumento de su uso, genera la necesidad de encontrar nuevas alternativas para su obtención (Muñoz-Villa et al., 2014).

Este ácido es un acidulante que junto con sus sales de sodio y potasio preservan la acción de agentes quelantes atrapando metales extraños que causan la turbidez de la pulpa deteriorando el color. También el ácido cítrico en presencia del ácido ascórbico tiene un efecto sinérgico, es decir, que el efecto combinado de las dos sustancias es mayor que el de cada ácido por separado, por lo que potencia el efecto que tiene el ácido ascórbico por sí solo, en la decoloración de frutas y vegetales, que actúan reteniendo vitaminas, evitando la oxidación enzimática en los alimentos. Además el ácido cítrico actúa como regulador del pH (Dávila M., Cortés R., & Gil G., 2016).

El uso de este ácido en cuanto a la industria alimentaria es muy amplio. Se usa en procesos como la conservación o la mejora de las propiedades organolépticas en alimentos ya que contiene compuestos carboxilos en su fórmula, por lo que se considera que los ácidos que tienen varios compuestos carboxilos, son importantes aditivos (Muñoz-Villa et al., 2014).

Algunos de ejemplos de las principales aplicaciones son:

- Bebidas: Proporciona acidez y complementa los sabores de las frutas y bayas. Aumenta la eficacia de los conservantes antimicrobianos y ajusta el pH para proporcionar una acidez uniforme.
- Jaleas, mermeladas y conservas: Proporciona acidez y ajusta el pH.
- Dulces: Proporciona acidez. Minimiza la inversión de la sacarosa. Produce un color oscuro a los caramelos duros y actúa como acidulante.

- Fruta congelada: Disminuye el pH para inactivar las enzimas oxidativas. Protege el ácido ascórbico por inactivación de trazas de metales.
- Grasas y aceites: Sinergias con otros antioxidantes, actúa como secuestrador de radicales libres (Muñoz-Villa et al., 2014).

1.2.3.3. Otros Antioxidantes

La creciente demanda de los consumidores de productos naturales, ha provocado que se busques distintas fuentes para extraer antioxidantes naturales (Rojo Cortina, 2013).

Revisando la bibliografía, las fuentes más habituales de las que se se han extraído antioxidantes naturales son:

- Plantas superiores
- Mohos
- Musgos
- Algas y microalgas
- Bacterias

Generalmente, los antioxidantes naturales más utilizados proceden de las plantas superiores. La mayoría son compuestos fenólicos, productos del metabolismo secundario. Los principales productos alimentarios que se utilizan como compuestos bioactivos son la uva, la manzana, los cítricos, la cebolla o la borraja. También se puede obtener de otras plantas aromáticas, frutas, hortalizas, té o subproductos de que se generan en las etapas de producción de alimentos como semillas, pieles, etc. (Peiró Sánchez, 2015).

Tabla 1. Ejemplos de productos con compuestos antioxidantes naturales.

Producto	Compuestos fenólicos	Actividad antioxidante	%Inhibición de la PPO	Fuente
Ajo	Ácido ferúlico Flavonoles	<50 ^a	72,9+1,3	(Bobo García, 2014)
Alcachofa	Lignina Taninos Melanina Suberina	1400+0,3 ^a	-	(Cabezas Serrano, 2013)
Clavo	Ácido gálico Flavonoles	5944,5+577,7 ^a	10-50	(Bobo García, 2014)
Espinacas	Ácido ferúlico (Peñarrieta, Tejada, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014)	32047+1541,2 ^a	-	(Zapata, Pedrahita, & Rojano, 2014)
Fresa	Flavonoles Flavononas Antocianos Isoflavonas Flavonoides (Chordi Barrufet, 2013)	35841,7+2566,3 ^a	-	(Zapata et al., 2014)
Miel Multifloral	Flavonoles Flavonas	-	25-35	Elaboración propia
Té verde	Flavonoles Ácido ferúlico	2584-1374 ^a	72,3+1,7	(Bobo García, 2014)
μmol TE/100ml^a				

Como se puede observar en la tabla 1, los compuestos que se han utilizado como sustitutos de los antioxidantes naturales son todos de origen vegetal. En la búsqueda de trabajos en los que se usa como antioxidante un producto de origen animal no se ha encontrado ningún estudio al respecto. Sin embargo existen productos como la miel que, atendiendo a su composición podría tener propiedades antioxidantes y por tanto ser utilizada como antioxidante natural.

Entre los principales alimentos naturales con capacidad antioxidante, la miel es uno de los que más interés ha despertado en los últimos diez años, debido a su buena percepción ante los consumidores. Los productos con miel despiertan un interés especial entre los consumidores (Martín Garretas, 2015).

1.3. LA MIEL COMO ANTIOXIDANTE NATURAL

La miel es la sustancia natural dulce producida por las abejas *Apis mellifera* a partir del néctar de plantas o de secreciones de partes vivas de la planta o de insectos chupadores presentes en las partes vivas de las plantas, que las abejas recolectan, transforman con sustancias propias, depositan, deshidratan, almacenan y dejan en la colmena para su maduración (Boletín Oficial del Estado, 2003).

Según el Real decreto 1049/2003 por el que se aprueba la norma de calidad relativa a la miel, se puede clasificar teniendo en cuenta los siguientes criterios:

- Según su origen:
 - a) Miel de flores o de néctar: la miel procedente del néctar de las plantas
 - b) Miel de mielada: procede en su mayor parte de excreciones de insectos chupadores de plantas (hemípteros) presente en las partes vivas de las plantas o de secreciones de las plantas.

- Según su elaboración:
 - a) Miel de panal: depositada en los alveolos operculados de los panales.
 - b) Miel con trozo de panal o panal cortado en miel: Contiene uno o más trozos de panal en la miel.
 - c) Miel escurrida: Se obtiene mediante escurrido de los panales desoperculados, sin larvas.
 - d) Miel de centrifuga: se obtiene mediante centrifugación.
 - e) Miel prensada: se obtiene mediante prensa del panal, con o sin aplicación de calor, hasta 45°C.
 - f) Miel filtrada: Se obtiene eliminando materia ajena a la miel.
(Boletín Oficial del Estado, 2003)

El principal componente de la miel son los hidratos de carbono, mayoritariamente glucosa y fructosa, agua, ácidos (acético, cítrico, málico, láctico) y minerales (Martín Garretas, 2015). Tiene muchas sustancias conservantes como α -tocoferoles, ácido ascórbico, flavonoides como flavanonas y flavonoles y otros compuestos fenólicos cuya acción conjunta proporciona un efecto antioxidante. La miel ha demostrado tener la capacidad de minimizar las reacciones de deterioro oxidativo como la protección contra el crecimiento microbiano, debido a que es un alimento cuya actividad de agua es muy reducida, por lo que evita el crecimiento de microorganismos, alargando la vida útil del producto. La capacidad antioxidante depende del origen del cual procede (Rojo Cortina, 2013) y parece estar relacionado con el color. Las mieles con coloración más fuertes tienen una mayor capacidad antioxidante que las mieles más claras (Frankel, Robinson, & Berenbaum, 1998).

Debido a la multitud de beneficios que tiene la miel, tanto como oxidante, antimicrobiano y para la salud, se decide realizar un estudio sobre ella. En concreto, de la capacidad antioxidante que tiene la miel sobre un producto mínimamente procesado, o como también se le conoce, un producto IV gama.

La capacidad antioxidante de diferentes tipos de miel depende de su origen geográfico y su origen botánico. Es necesario saber el origen de este producto y estudiarlo debido a que sus

propiedades, tanto físicas como químicas, como su composición varían mucho según el lugar y las plantas de la que proceda. Por ejemplo el color oscuro de algunas mieles indica que posee una acidez y un contenido mayor de minerales y las claras contienen más glucosa y fructosa (Rojo Cortina, 2013).

Por ello, para determinar un tipo de miel que tenga una capacidad antioxidante interesante para el estudio, se ha tomado como punto de partida el trabajo fin de grado realizado por Gabriela Dos Santos, (2018) “Evaluación del efecto antiparadeante de diferentes mieles Navarras en patatas cv *Monalisa*” en el cual se estudia la capacidad antioxidante de 13 tipos de mieles según su origen botánico y geográfico. Puesto que en el estudio llevado a cabo no se pudieron extraer conclusiones claras, por la poca variabilidad de las muestras y por el difícil manejo de la miel se ha considerado importante repetir el estudio de una de las mieles con mayor porcentaje de inhibición, incrementando el número de muestras, para aumentar la variabilidad de forma que se puedan sacar conclusiones claras.

1.4. PATATA CV. *MONALISA* COMO PRODUCTO MÍNIMAMENTE PROCESADO

Como producto mínimamente procesado se utiliza la patata. Más concretamente la patata cv. *Monalisa*, cuyo producto es fácil de obtener y la extracción de la enzima polifenol oxidasa (PPO) es sencilla.

La patata pertenece de la familia de las solenaceae cuyo nombre científico es *Solanum tuberosum* y es originaria de los Andes. Existen unas 4000 variedades de patatas que se llevan cultivando desde el año 5000 A.C siendo un alimento indispensable en muchas dietas del mundo (Salar Aziz, 2010).

Hoy en día el cuarto producto más cultivado por detrás del arroz, trigo y maíz, ya que más de un billón de personas en el mundo consume este producto de manera regular en su dieta (Singh & Lovedeep, 2016) La producción anual mundial está en aumento, aunque en el 2015 se produjo una pequeña reducción de toneladas anuales, que en el 2016 se observa que vuelve a aumentar.

Tabla 2. Consumo mundial de patata en toneladas durante el 2012 y 2016 en toneladas (FAO, 2016).

AÑO	CONSUMO MUNDIAL	CONSUMO ESPAÑA
2012	369.073.364,00	2.192.284,00
2013	374.721.105,00	2.199.600,00
2014	380.967.206,00	2.543.930,00
2015	376.811.720,00	2.284.073,00
2016	376.826.967,00	2.096.475,00

Como se observa en la tabla 2 presentada por la FAO, la tendencia que sigue la producción de patata es ascendente. Se ve que hay un pequeño descenso en el año 2015 pero que al año siguiente vuelve a ascender.

En España, la producción ha disminuido a lo largo de los años. Esto se debe a muchos factores, pero principalmente al hundimiento de los precios debido a la importación de terceros países. Según los datos obtenidos en la FAO, en el año 2012 se alcanzó una producción de 2.192.284,00 toneladas de patatas. Este dato ha ido descendiendo a lo largo de los años poco a poco, tal y como se observa en el año 2016 cuya producción fue 95.809 toneladas menos (Salar Aziz, 2010).

Aunque según los últimos datos de MAPAMA (2018), la tendencia en los próximos años sobre el consumo de este tubérculo es ascendente. Por ello, la utilización de este producto para realizar el estudio se piensa que es la correcta, para que después se pueda extrapolar a otros procesos.

2. OBJETIVOS

El objetivo de este Trabajo Fin de Grado consiste en evaluar la eficacia antioxidante de una miel multifloral y sus combinaciones con ácido orgánicos en un producto mínimamente procesado de alta intensidad de pardeamiento como es el caso de la patata cv *Monalisa*.

El objetivo general se aborda a partir de unos objetivos específicos:

1. Determinar la capacidad de antioxidante que tiene una determinada miel a diferentes concentraciones para inhibir la enzima PPO procedente de patata cv *Monalisa*
2. Determinar el efecto de la combinación de miel con la adición de ácidos orgánicos para inhibir el pardeamiento enzimático de enzima PPO procedente de patata cv *Monalisa*
3. Determinar la aplicabilidad de los resultados seleccionando los tratamientos con mayor capacidad de inhibición del pardeamiento enzimático y evaluar su eficacia en patata mínimamente procesada.

3. PLAN DE TRABAJO

Los pasos que se van a seguir para el desarrollo del Trabajo Fin de Grado son los siguientes:

1. Obtener el porcentaje de miel necesaria para inhibir la enzima PPO mediante un estudio *in vitro* con distintas concentraciones de miel al 10, 20, 30 y 40%.
2. Obtener el porcentaje de inhibición de la miel con los ácidos orgánicos *in vitro* para observar cuáles de ellos nos interesan.
3. Determinar cuáles son los mejores ensayos para poner en práctica.
4. Realizar una prueba de 24 horas a temperatura ambiente con los resultados obtenidos en el laboratorio, para determinar si se puede realizar un escalado industrial.
5. Realizar el escalado industrial utilizando los materiales necesarios para la realización del producto envasado. Se obtendrán 4 bolsas de 150 g para cada tratamiento.
6. Realizar el seguimiento de los productos a día 0, 7, 14. Obtener información de la variación del pH, características organolépticas y cambios de color mediante un equipo de análisis.
7. Analizar y discutir los resultados obtenidos tras el seguimiento de los 14 días. Evaluar las consecuencias y sacar las conclusiones del trabajo.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. MATERIAS PRIMAS BÁSICAS

Para el estudio de la eficacia antioxidante, producida por una miel multifloral y ácidos orgánicos, se utiliza los siguientes ingredientes básicos:

- Miel milflores Cantabria elaborada con acacia, castaño y brezo procedente del Baztan (Navarra), recolectada en septiembre de 2017. Se obtiene por centrifuga.



Figura 2. Envase de miel multiflores

- Ácido ascórbico (SIGMA®). Es un ácido orgánico que se utiliza en la industria alimentaria, pero sobre todo en frutas y hortalizas como un antiparadeante.
- Ácido cítrico (Panreac). Es un ácido orgánico con efecto acidulante muy utilizado en la industria alimentaria. También en combinación con el ácido ascórbico tiene un efecto sinérgico.
- Patatas de la variedad cv. *Monalisa*: Adquiridas en supermercado, de categoría I, con un calibre de 50-80 mm.

4.2. MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE LA PPO

4.2.1. Extracción de la enzima PPO de patata cv. *Monalisa*

Para realizar la extracción de la encima de la patata se toma como referencia el procedimiento descrito por Bobo García (2014).

El primer proceso que hay que realizar consiste en la preparación del Buffer McIlvaine una solución tampón para que se produzcan las reacciones en las mismas condiciones de pH. Para ello se preparan dos reactivos:

- Reactivo A: 100 ml de agua ultrapura + ácido cítrico monohidrato 0,1 M (2,1 g).
- Reactivo B: 200 ml agua ultrapura + disódico de hidrógeno fosfato dihidrato 0,2 M (7,12 g).

Para realizar la extracción se necesita 50 ml de Buffer McIlvaine con un pH de 6,5. Para obtener una solución con esas características se realizan una serie de operaciones matemáticas.

Buffer MacIlvaine con pH 6,5 (20 ml) = 5,8 ml de reactivo A + 14,2 ml de reactivo B

De esta forma se obtiene un tampón con un pH de 6,5. En nuestro caso se necesita más cantidad de muestra por lo que se necesita una cantidad mayor de buffer McIlvaine. Por ello se realiza un escalado para obtener 150 ml de muestra.

Buffer Macllvaine con pH 6,5 (150ml) = 43,5ml de reactivo + 106,5ml de reactivo B

Después de obtener el Buffer necesario, se procede a la extracción de la PPO de la patata cv. *Monalisa*. Este proceso se realiza mediante los siguientes pasos:

- Se mezclan 100 ml de Buffer McIlvaine con 5,8 ml de cloruro de sodio (NaCl) 1M y 10% polivinilpolipirrolidona (PVPP), es un agente sintético elimina componentes pequeños que están asociados con el color sin que afecte a sus propiedades sensoriales (Martínez Berzosa, 2016).
- Después se mezclan 50 g de patata con el Buffer que contiene el NaCl y el PVPP a un pH 6,5 y se homogeniza por medio de una batidora a máxima velocidad durante 2 minutos en frío (4°C).
- La mezcla obtenida se filtra mediante vacío, manteniéndola en frío para evitar que se produzca el pardeamiento de la enzima PPO durante este proceso.
- Tras filtrar toda la muestra, se coloca en tubos y se centrifuga, por medio del equipo Sigma 3k30 a 25500 xg durante 20 minutos a 4°C.



Figura 3. Centrifuga Sigma 3K30.

- Una vez finalizada la centrifugación, se vuelve a filtrar la muestra en frío. Finalmente se obtiene la enzima de la PPO en crudo de la patata cv. *Monalisa*.
- Para guardar la enzima hasta su uso, se lleva a congelación, a -28°C, y se marca el nº de muestra y la fecha en la que se obtiene.

4.2.2. Determinación de la actividad de la PPO

El método utilizado para observar la evolución de la actividad de la PPO se basa en el descrito por Sukhonthara, Kaewka, & Theerakulkait (2016) y la modificación realiza por Bobo García (2014).

Primero se atempera la muestra de la PPO a 25°C durante 15 minutos. En una cubeta de cuarzo de 1 cm se le añade 1ml de la enzima PPO diluida 1:2 con el buffer McIlvaine y se cierra con parafilm. En otra cubeta se añaden 3 ml de catecol 50 mM y 75 µl de la enzima diluida atemperada. Esta última se utilizará como blanco.

Para la medición se utiliza un Espectrofotómetro UH53000 HITACHI. Se introducen las muestras y se miden durante 2 minutos en intervalos de 5 segundos a una longitud de onda de 400 nm.

Los resultados se miden como: una unidad de actividad de PPO está definida como el cambio de absorbancia de 0,001 por minuto y ml inmediatamente después de la adición del extracto de la enzima. La reacción se estima mediante una recta al comienzo de la zona lineal de la curva (Bobo García, 2014). Para la obtención de la actividad de la PPO se estima la siguiente ecuación:

$$\text{Actividad} \left(\frac{UA}{\text{min} * \text{ml}} \right) = \frac{ABSf - ABSi}{0,001} \cdot \frac{1}{Y(\text{min}) * 0,075}$$

Dónde:

- ABSf es el valor de absorbancia obtenida a 400 nm en el momento en que deja de ser lineal la tendencia de la curva.
- ABSi es el valor de absorbancia obtenida a 400 nm al inicio de la medición.
- Y es el tiempo en que se observa la zona lineal en la curva obtenida.
- 0,001 es el cambio de absorbancia por minuto establecido.
- 0,0075 ml son los mililitros de enzima PPO usada en el ensayo.

4.2.3. Determinación de la inhibición de la PPO

Los datos de inhibición se obtienen mediante un equipo de lector de multiplaca (Thermo Scientific Multiskan GO), que elabora mediciones espectrofotométricas de cada pocillo de la multiplaca. De esta manera se obtiene una gran cantidad de datos, es decir, una mayor repetitividad de los datos en las mismas condiciones, con un ahorro de costes y tiempo.

Para la determinación de la capacidad de inhibición se toma como referencia el estudio realizado por Bobo García (2014). En todos los ensayos se utiliza el catecol 200 mM como sustrato y siempre se realiza a un pH de 6,5. En cuanto a la dilución de la PPO es de (1:2 v/v) en solución tampón Buffer McIlvaine.

Las microplacas utilizadas constan de 96 pocillos en los que se vierte una cantidad total de muestra de 200 µl. Los reactivos y las cantidades utilizadas se describen en la tabla 3:

Tabla 3. Cantidades (μ l) y reactivos que contiene una microplaca.

Denominación del pocillo	Buffer	Inhibidor	PPOp 1:2	Catecol 200mM
A	120		40	40
B	160			40
C	80	40	40	40
D	120	40		40
Blanco	200			

En la siguiente figura se muestra la distribución que se realiza de las muestras en los pocillos que contiene la placa:

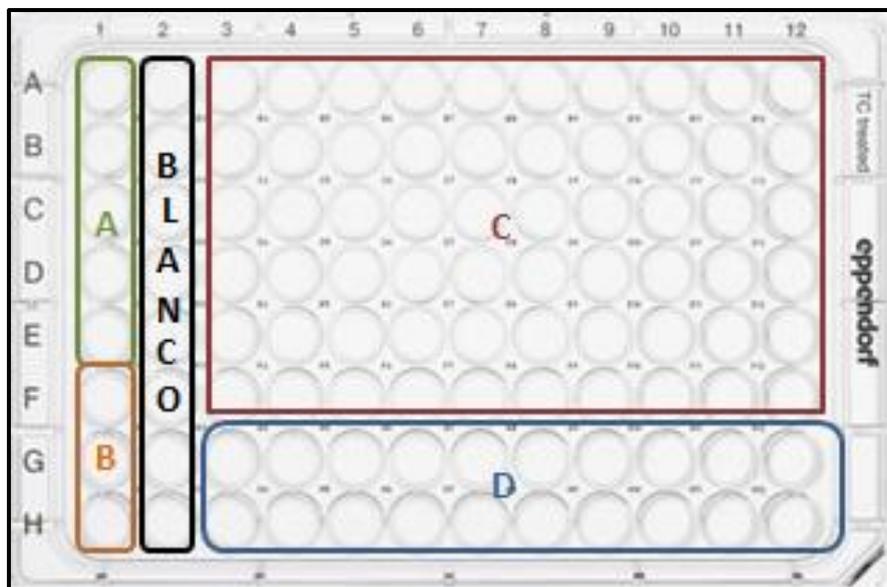


Figura 4. Distribución de las muestras en la multiplaca (Direct Industri, s.f.).

Para realizar este método se utiliza una placa de Petri en la que se vierte el buffer McIlvaine, los diferentes inhibidores, la enzima diluida y el catecol. Para coger la cantidad necesaria en cada momento se utiliza una multipipeta VWR que consta de 8 absorbedores los cuales cogen el mismo volumen como se observa en la figura 5. De esta forma se facilita la elaboración del método.



Figura 5. Multipipeta utilizada en el proyecto.

Para el llenado de los pocillos, se añade el buffer McIlvaine, con la cantidad que aparece en la tabla 3, mediante la multipipeta. Después, se dispensa el inhibidor, previamente diluido en las concentraciones determinadas. Como se indica previamente, la enzima se diluye (1:2 p/p) mediante agitación y se vierte en los pocillos, tardando lo menos posible para evitar que comience el pardeamiento.

Se lleva la multiplaca al equipo Thermo Scientific Multiskan GO (espectrofotómetro que indica la variación de la absorbancia de cada pocillo de la multiplaca de forma rápida y sencilla). Para obtener los datos se indica al equipo que realice un protocolo que contiene el siguiente método: Primero se agita durante 5 minutos para que se mezclen los compuestos de los pocillos. Se incuba durante otros 5 minutos a 25°C y, se le añade el catecol 200 mM. Se vuelve a agita otros 5 minutos para eliminar las burbujas de aire que pueden quedar retenidas en los pocillos de la multiplaca. Si la eliminación no es total, se realiza de forma manual. Por último, se deja incubar otros 5 minutos a 25°C. Finalmente, el equipo mide los valores de cada pocillo mediante una absorbancia a 420 nm.



Figura 6. Equipo Thermo Scientific Multiskan GO.

Para calcular la inhibición de la PPO, primero a todos los datos obtenidos se le resta la absorbancia del blanco, debido que aporta color. Después se realiza la siguiente fórmula para obtener el % inhibición de la PPO:

$$\% \text{ inhibición de la PPO} = \left(\frac{((A - B) - (C - D))}{(A - B)} \right) \times 100$$

A corresponde a la absorbancia obtenida de la reacción del sustrato catecol con la enzima PPO sin ningún inhibidor; B corresponde a el color que aporta el catecol, por eso se le resta. De esta forma solo se obtiene el color que se ha producido en la reacción enzima/sustrato. C corresponde a la absorbancia obtenida de la reacción de la PPO con el inhibidor que se quiere estudiar; y D pertenece al color que aporta e inhibidor, por lo que es necesario restarlo a la reacción C.

4.3. MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE LA PATATA MÍNIMAMENTE PROCESADO Y EFICACIA ANTIPARDEANTE

4.3.1. Estudio acelerado de los tratamientos en producto terminado

Antes de llevar el estudio a planta piloto, se realiza un ensayo en el laboratorio. Consiste en observar el cambio que se produce en la patata tratada respecto a una patata control bajo las condiciones de 25°C durante 24 horas. De esta forma se determina si los ácidos orgánicos y la miel tienen un efecto inhibitor sobre la enzima PPO.

Se modifican las cantidades de los compuestos utilizados en el multiplaca, debido a que se decide obtener unas disoluciones de 200 ml, para poder cubrir las láminas de patata. Tras realizar los cálculos se incorpora a las soluciones:

1. 60 g de miel + 1 g de ácido ascórbico
2. 1 g de ácido ascórbico
3. 1 g de ácido cítrico + 1 g de ácido ascórbico

Para la elaboración de la patata se sigue el proceso descrito por Bobo García (2014), se cortan rodajas de 5 mm de espesor y una longitud de 40 a 80 mm. Para cada ensayo se utilizan 3 láminas de patata. A dos de ellas se les aplica el tratamiento a 4°C durante 7 minutos y la otra se utiliza como control. Después se colocan en papel de filtro identificando cada muestra y se deja a una temperatura de 25°C.

Se toman nota del pardeamiento de las láminas de patata a cuatro tiempos diferentes: a tiempo 0, a 1 hora, a 10 horas y a 24 horas.

Finalmente se observan los resultados obtenidos en el experimento y se realizan las conclusiones pertinentes, para después poner a prueba en la elaboración en planta piloto del producto.

4.3.2. Elaboración del producto mediante un escalado industrial

Tras realizar los estudios pertinentes y observar los resultados obtenidos en el laboratorio se llega a la conclusión que, los ensayos más interesantes para el estudio de la miel y los ácidos orgánicos como inhibidor de la enzima PPO son:

- Un ensayo control, para poder observar si los tratamientos realizan algún efecto retrasando la aparición del pardeamiento enzimático.
- Un tratamiento solo con ácido ascórbico, para ver si la miel influye como un agente antioxidante o solo con este ácido es suficiente para alargar la vida útil del productos, debido a que se pierde por lixiviación en productos vegetales en forma laminar (Calvo, 2014).

- Un proceso solo con miel, de esta forma podremos determinar si la miel por si sola retarda la oxidación en el periodo estudiado y si produce alguna variación en las características organolépticas del producto final.
- Una combinación de los dos tratamientos de miel y ácido ascórbico. La miel es un producto viscoso, por lo que se quiere estudiar si al mezclarse los dos tratamientos, existe alguna sinergia, como ocurre con la combinación de ácido ascórbico y ácido cítrico (Dávila M. et al., 2016).

La determinación de los porcentajes de cada ingrediente de las distintas soluciones se basa en los estudios anteriores realizados en el laboratorio y la conclusión de los resultados obtenidos. Por ello, finalmente se decide estudiar el efecto de las disoluciones de la tabla 4 en la patata mínimamente procesada. La cantidad concreta de cada producto se realiza mediante operaciones matemáticas.

Tabla 4. Porcentajes que se utilizan en cada tratamiento.

Soluciones	Control	Ác. ascórbico	Miel + Ác. ascórbico	Miel
Porcentajes (%)	-	0,005	30 + 0,005	30

Para la elaboración del producto a un escalado industrial, se necesitan los siguientes materiales:

- Cortadora de fiambre Bosch
- Pelador
- Espátula
- 2 bandejas de plástico
- Un termómetro
- Balanza
- Envasadora
- Escurridor
- Bolsas envasado
- Soluciones para aplicar en el producto

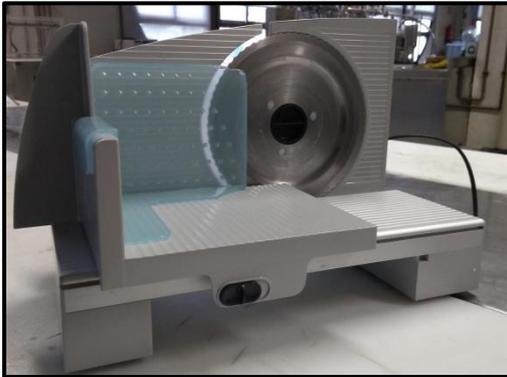


Figura 7. De izquierda a derecha y de arriba a abajo: Cortadora de fiambre (Bosh), balanza, bandejas, envasadora Sammic.

Para realizar este proceso se tiene en cuenta el siguiente diagrama de flujo:

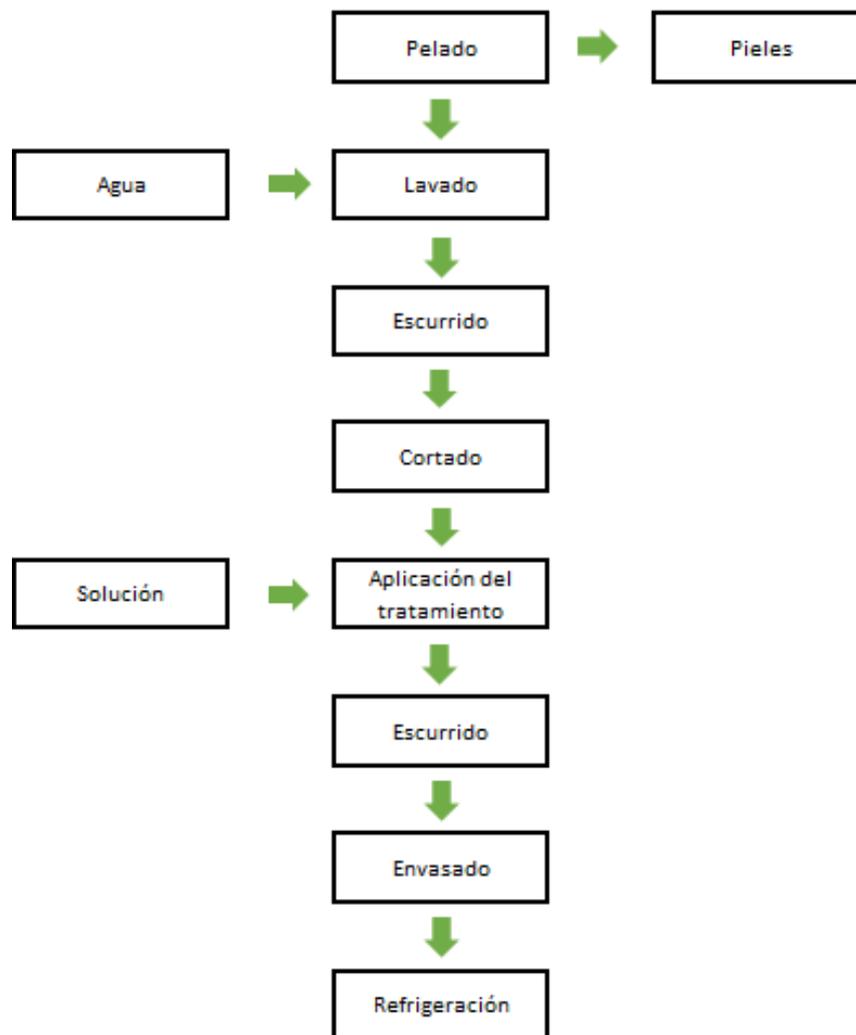


Figura 8. Diagrama de flujo del proceso de la patata mínimamente procesada.

Se recibe la patata y se realiza el pelado, en nuestro caso de forma manual con un pelador. Se coloca en una bandeja con agua fría para eliminar los restos de pieles y arena. Después se realiza un escurrido.

Se procede al cortado en laminas de las patatas. Para ello se utiliza una cortadora de fiambre Bosch, de este modo se obtiene un corte homogéneo en todas las laminas. En este caso se utiliza la medida de 5 mm de espesor y una longuitud de 30 a 60 mm . Cuando se obtiene 800 g de patata, se procede a la aplicación de la solución.

Se coloca una bandeja con hielo en el fondo, en la cual se coloca, los botes con los tratamiento que se van a utilizar y otra bandeja en la que se vierte la solución en la que se incorporan las laminas de patata, tal y como se observa en la figura 8.

Se deja unos minutos hasta que la solución alcance 4°C y se colocan las laminas. El producto debe estar completamente sumergido en la disolución durante 7 minutos. Se extrae el producto mediante una espátula y se escurre.

Se elaboran 4 bolsas de 150 g cada una por cada tratamiento, para obtener dos repeticiones a día 7 y a día 14. Se envasan en una atmosfera de 40% de aire mediante una envasadora Sammic. Para terminar se identifican las bolsas y se guardan en refrigeración a 4°C. A día 0 no se envasan los ensayos, debido a que se realizan las medidas el mismo día de su elaboración. Se estudia el color, pH y características organolépticas a día 0, a día 7 y a día 14.

4.3.3. Determinación del pH

En este estudio el análisis de pH de una solución se realiza en dos ocasiones. La primera para comprobar que el buffer McIlvaine tiene un pH de 6,5 Antes de comenzar a trabajar en la elaboración de las multiplacas y la otra en el seguimiento de los días de almacenamiento de producto terminado en los días 0, 7, 14.

Para ello se utiliza el pH-metro. Siempre es necesario calibrarlo antes de comenzar a tomar las medidas pertinentes. En la medición del buffer McIlvaine se realiza de forma directa, debido a que está en forma de líquido, pero en las mediciones de producto terminado es necesario utilizar una batidora y agua destilada para disolver el producto y poder obtener el valor pH.



Figura 9. PH-metro.

Para calcular el pH del producto termina a día 0, 7, 14 se tritura y se diluye en agua destilada con una concentración del 10% (p/v), es decir, se diluyen 20 g de patata en 200 ml de agua destilada, y se realizan tres repeticiones de cada producto envasado. Para calcular el valor se realiza la media de las tres mediciones.

4.3.4. Determinación del color

Para determinar el color se utiliza el sistema de análisis de imagen que consta de una cámara digital enfocada en un recinto cerrado con iluminación, que contiene las características de luminosidad y temperatura óptimas para determinar el color de la muestra eliminando los efectos perjudiciales de la iluminación ambiental. Además dispone del software de análisis de imagen Digieye versión 6.2.



Figura 10. Sistema de análisis de imagen digital DigiEye.

Observando otros estudios, se decide utilizar la aplicación “Colour Measurement”, que permite medir el color del área que se determine. Por ello, mediante la utilización de una circunferencia podemos obtener el color de las láminas de patata utilizando el siguiente proceso:

1. Se calibra el equipo mediante una serie de pasos descritos en el manual del equipo.
2. Se coloca 5 láminas de patata, de partes distintas de la bolsa, en un papel de filtro para no ensuciar la base y se introduce en el equipo.
3. Una vez dentro se realiza una foto de las muestras. Utilizando el programa que se ha descrito antes, se realizan cuatro medidas de cada una de las láminas, dos por una cara y dos por la otra.
4. Se extrapolan los datos a un Excel, se realiza la media de las muestras y se realiza un estudio de los resultados mediante un análisis estadístico.

Se determina el color de las muestras mediante el sistema de color CIELAB, un diagrama cromático donde se representan el área en donde tienen lugar todos los colores reales. Las mediciones que se toman son las siguientes:

- Luminosidad (L^*)
- Variación rojo-verde (a^*)
- Variación amarillo-azul (b^*)

El color se mide a día 0, 7, 14, debido a que este es uno de los parámetros más importantes del estudio, ya que por medio de él se puede determinar si la enzima PPO ha sido inhibida, o por el contrario el producto está pardeado.

4.3.5. Medida de las características organolépticas del producto

En cuanto a las características organolépticas, los puntos que se van a tener en cuenta son la textura, el aspecto y el olor. Se observa y anota los diferentes cambios que sufre el producto a lo largo de los 14 días. Se presentan los datos obtenidos en forma de tabla.

También se realiza un cocinado del producto. De esta manera se puede observar si alguno de los tratamientos utilizados aporta un sabor y color añadido a la patata. Se decide que la mejor manera de cocinar el producto para poder distinguir los sabores es el método del planchado, ya que de esta manera no influye ningún otro tipo de ingrediente para distorsionar el sabor.

4.3.6. Análisis estadístico

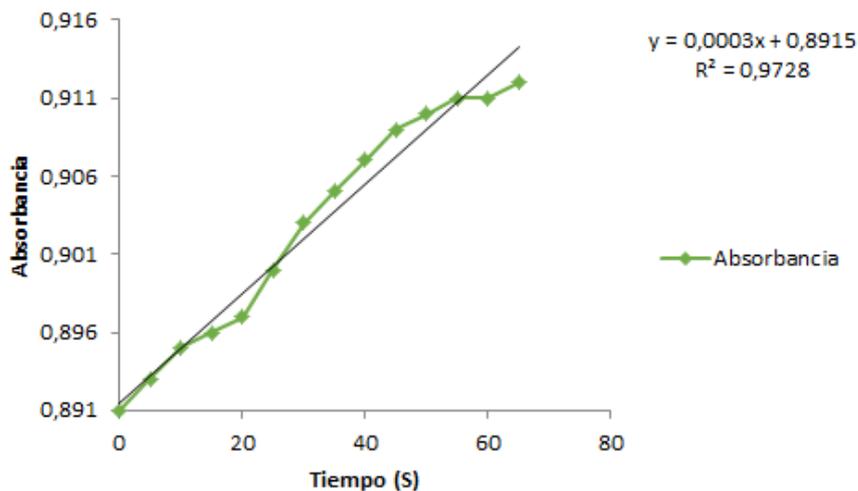
Para realizar el análisis estadístico de los datos obtenidos en el estudio se utiliza el programa IBM SPSS Statistics.

Para observar si los datos tienen o no diferencias significativas entre ellos, primero se realiza un análisis de varianza ANOVA entre los datos que se van a estudiar a un intervalo de confianza del 95%. Si estos no tienen diferencias significativas, no se realiza nada más debido a que no tiene sentido intentar sacar algo en claro. Si tiene diferencias significativas se realiza un test de Tukey, que consiste en un test de comparación de medias de las diferentes muestras.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. ACTIVIDAD DE LA PPO

La actividad enzimática de la patata cv. *Monalisa* se determina cogiendo el primer minuto de los dos estudiados, debido que en ese tiempo, la actividad de la enzima sigue una tendencia ascendente. A partir de ese punto, la actividad se estabiliza.



Gráfica 1. Actividad enzimática de la PPO de la patata cv. *Monalisa*

El resultado de la ecuación descrita en el apartado 4.2.2 para determinar la actividad de la enzima PPO es :

$$266,67 \frac{UA}{min * ml}$$

Por lo que se puede decir que la actividad de la enzima PPO de la patata c.v. *Monalisa* es suficiente para causar un pardeamiento enzimático en el producto, por lo que es necesario aplicar un agente antioxidante para evitar este problema.

5.2. INHIBICIÓN DE LA MIEL SOBRE LA ENZIMA PPO DE LA PATATA.

Se analiza la miel como un inhibidor de la enzima PPO de la patata, estudiando la capacidad antioxidante para diferentes concentraciones de miel. De forma similar a lo descrito por Bobo García (2014), se decide realizar los ensayos de cuatro concentraciones diferentes: 10, 20, 30 y 40 % de miel. De esta forma, se puede afirmar sí existe una relación de la concentración con la capacidad antioxidante.

Se utiliza realiza mediante la metodología explicada en el apartado 3.5 y se obtienen 30 datos para cada concentración de miel. Se realizan 4 repeticiones de cada concentración. En definitiva, se obtiene un valor medio de 120 datos, por lo que se tiene una alta repetitividad.

Por medio de un análisis estadístico, los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Tabla 5. Porcentaje de inhibición de la miel según su concentración.

Concentración de miel (%)	Inhibición (%)
10	13,21 ± 2,31 ^A
20	22,37 ± 3,58 ^B
30	30,48 ± 2,37 ^C
40	30,56 ± 0,24 ^C

Letras mayúsculas diferentes indican, diferencias significativas ($p < 0,05$) entre concentraciones (prueba de Tukey).

Tal y como indican los resultados obtenidos, existen diferencias significativas entre las concentraciones de 10 y 20 % entre ellas y con los porcentajes de 30 y 40%. Las concentraciones más altas son similares, lo que significa que a partir de un 30 % de miel, el porcentaje de inhibición no varía.

Los resultados obtenidos en este análisis no resultan concluyentes, debido a que un 30,56 ± 0,24 derivado de una concentración de 40%, no es un resultado suficientemente elevado para poder utilizar la miel como un agente antioxidante. Por ello, y tras observar los estudios de Quintín Martínez, (2015) y Muñoz-Villa et al.,(2014) se decide estudiar la combinación de la miel con dos tipos de ácidos orgánicos: el ácido cítrico y el ácido ascórbico. Mediante este estudio se pretende aumentar los porcentajes de inhibición de la miel, para que pueda ser utilizada como agente antioxidante.

5.3. COMBINACIÓN DE MIEL CON ÁCIDOS ORGÁNICOS.

En este estudio se decide probar una combinación de las mismas concentraciones anteriores de miel con: ácido cítrico, ácido ascórbico y una mezcla de los dos ácidos. Ambos ácidos se incorporaron a la solución de miel con una concentración de 0,005%, debido a que se quiere incorporar la mínima cantidad posible en el producto. Siguiendo la anterior metodología y por medio de un análisis estadístico se obtienen los siguientes resultados:

Tabla 6. Inhibición de las diferentes concentraciones de miel con ácido ascórbico y ácido cítrico.

Concentración de miel (%)	AC (%)	AA (%)	AA+AC (%)
10	-1,87 ± 1,42 ^{Aa}	93,14 ± 0,57 ^{Ba}	92,42 ± 0,74 ^{Ba}
20	-0,16 ± 6,29 ^{Aa}	93,28 ± 2,33 ^{Ba}	93,60 ± 1,88 ^{Ba}
30	17,61 ± 1,84 ^{Ab}	92,43 ± 0,43 ^{Ba}	92,69 ± 1,41 ^{Ba}
40	23,84 ± 4,22 ^{Ab}	94,68 ± 1,11 ^{Ba}	93,15 ± 1,89 ^{Ba}

AC: Ácido cítrico
AA: Ácido ascórbico

Letras mayúsculas diferentes indican, para cada concentración de miel, diferencias significativas ($p < 0,05$; Tukey) entre tratamientos. Letras minúsculas diferentes indican, para cada ácido orgánico, diferencias significativas ($p < 0,05$; Tukey) entre concentraciones de miel.

A la vista de los resultados, se observa que solo existen diferencias significativas en la columna del AC, concretamente entre las concentraciones de 10 y 20 %. En los demás datos, se observa que el incremento de la concentración no produce ese efecto, ya que no existen diferencias significativas entre ellos.

Viendo los resultados obtenidos, se puede deducir que, tal y como indica Bobo García (2014) en su tesis, el AC por sí solo no tiene suficiente poder antioxidante, incluso al combinarse con miel, hay algún porcentaje que en vez de evitar el pardeamiento, le aporta color a la muestra (figura 11). Por ello, este ácido no resulta concluyente para seguir con su estudio.

En cuanto al tratamiento de la miel con la combinación de AA + AC, los resultados de las concentraciones son elevados. Los datos son interesantes para su estudio debido que todas las concentraciones con este tratamiento superan el 90% de inhibición de la enzima PPO.

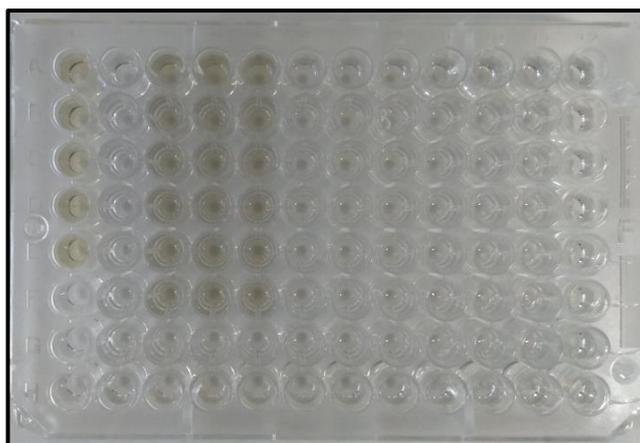


Figura 11. Multiplaca del ensayo de 30 % de miel con AC en las columna 3, 4 y 5; AA en la 6, 7 y 8; AA + AC en la 9, 10, 11 y 12.

Como conclusión y a la vista de los resultados obtenidos en el laboratorio, tanto en el estudio de las concentraciones de miel, como el estudio de la combinación de esta con ácidos orgánicos, se decide que el mejor tratamiento que se puede estudiar para la inhibición de la PPO es el tratamiento de un 30% de miel con AA y con AA + AC. Se llega a esta conclusión debido a que en el estudio de las concentraciones de miel, a partir del 30%, por mucho que aumentas la concentración no aumenta el porcentaje de inhibición y se selecciona los ácido orgánico AA y AA + AC debido a que muestran unos valores importantes para su estudio como agentes antioxidantes.

Antes de realizar el escalado industrial se realiza un estudio de 24 horas del producto final para observar si, los datos obtenidos en el laboratorio, llevados a la práctica, se ven reflejados en el producto final.

5.4. ESTUDIO DE 24 HORAS EN EL LABORATORIO DE LA PATATA MÍNIMAMENTE PROCESADA CON DISTINTOS TRATAMIENTOS.

Se decide realizar un estudio acelerado de los tratamientos siguiendo la metodología explicada en el apartado 4.3.1, para observar el comportamiento de los procesos. De esta forma se determina si merece la pena o no realizar el escalado industrial.

Se colocan dos láminas de patata con el tratamiento correspondiente y la última se deja sin ningún tratamiento para utilizarla como control. El resultado se muestra en las siguientes figuras:

1. Tiempo 0 horas:



Figura 12. De izquierda a derecha: Tratamiento de Miel + AA; AA; AA + AC a tiempo 0 horas.

2. Tiempo 1 hora:



Figura 13. De izquierda a derecha: Tratamiento de Miel + AA; AA; AA + AC a tiempo 1 hora.

3. Tiempo 10 horas:



Figura 14. De izquierda a derecha: Tratamiento de Miel + AA; AA; AA + AC a tiempo 10 horas.

4. Tiempo 24 horas:



Figura 15. De izquierda a derecha: Tratamiento de Miel + AA; AA; AA + AC a tiempo 24 horas.

Como es de esperar, el control es el primero que se empieza a pardear debido a que no tiene ningún tratamiento. En cuanto a los demás tratamientos hasta las 10 horas no se observa ningún cambio de color. Es justo en ese tiempo, en el que los tres ensayos comienzan el pardeamiento como se observa en la figura 15. Aparece el color pardo por la parte exterior de la patata. En cambio la patata control está completamente pardeada.

Con este ensayo concluimos que para realizar el producto mínimamente procesado es necesario aplicarle un tratamiento. Por ello y como no se ven grandes diferencias entre aplicar una solución u otra, se decide que el mejor tratamiento para llevarlo a un escalado industrial es el que consta de miel al 30% y AA. Se escoge el porcentaje de miel por los resultados obtenidos en el primer ensayo (apartado 5.2) con multiplaca de las concentraciones de miel, ya que al aumentar la cantidad de miel, el resultado de inhibición es el mismo. También se descarta la mezcla de AA + AC ya que la incorporación del AC no supone ningún beneficio en cuanto a la inhibición y de esta manera se reduce el uso de aditivos en el proceso.

5.5. ESTUDIO DEL EFECTO DE LOS DIFERENTES SOLUCIONES EN PATATA MÍNIMAMENTE PROCESADA A LO LARGO DE 14 DÍAS

Una vez elaborado el producto final mediante el método descrito en el apartado 3.7, se realiza un estudio de pH, color y características organolépticas en los días 0, 7 y 14. Los ensayos se guardan todos bajo las mismas condiciones, en un equipo de refrigeración y en el mismo lugar dentro del equipo, a una temperatura de 4 °C, emulando un frigorífico convencional. De esta forma se observa la evolución que sufre el producto final conforme avanza el tiempo.

5.5.1. Medida de pH

Las medidas de pH se realizan a día 0, 7 y 14 para observar si existe alguna diferencia significativa entre los tratamientos y de esta forma poder obtener alguna conclusión relevante. Los datos se obtienen de 6 repeticiones por tratamiento.

Tabla 7. Evolución del pH según el tratamiento aplicado en los días 0, 7 y 14.

DÍA	C	AA	M	MAA
0	5,91 ± 0,03 ^{Ca}	5,64 ± 0,03 ^{Aa}	5,84 ± 0,02 ^{Ba}	5,85 ± 0,01 ^{Ba}
7	5,99 ± 0,20 ^{Aa}	5,89 ± 0,27 ^{Aab}	5,78 ± 0,10 ^{Aa}	5,93 ± 0,27 ^{Aa}
14	6,11 ± 0,11 ^{ABa}	6,01 ± 0,12 ^{ABb}	6,13 ± 0,07 ^{Cb}	5,96 ± 0,07 ^{Aa}

C: control
 AA: ácido ascórbico
 M: miel
 MAA: miel + ácido

Letras mayúsculas diferentes indican, para cada día, diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos. Letras minúsculas diferentes indican, para cada tratamiento, diferencias significativas ($p < 0,05$) entre días (prueba Tukey).

Tal y como se observa en la tabla, el pH tiende a subir en todo los tratamientos durante el almacenamiento. Podemos decir que se mantiene bastante estable en todo el proceso, ya que la mayor variación es la sufre el AA que pasa de $5,64 \pm 0,03$ a $6,01 \pm 0,12$, por lo que es una variación muy pequeña que no afectara a las características del producto.

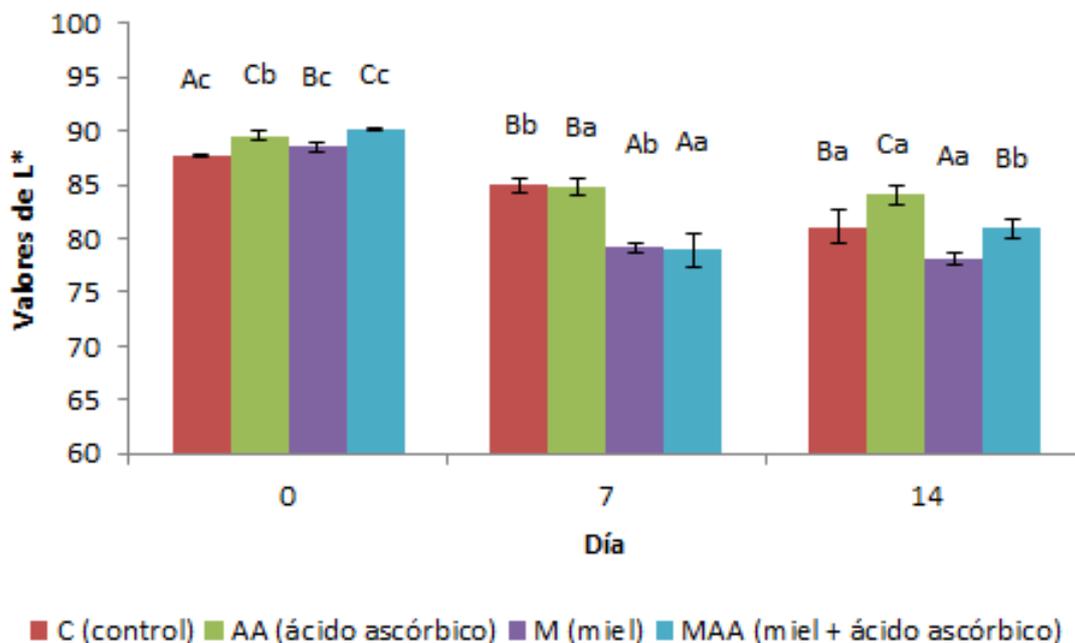
En frutas y hortalizas, los valores de actividad óptima de la enzima PPO a 25 °C se encuentran entre 5 y 7 (Parzanese, 2014). Los valores obtenidos en la tabla 7 están comprendidos entre estos valores, por lo que es imprescindible, aparte de aplicarles un tratamiento antioxidante, guardar estos productos en refrigeración. De esta forma se retrasa el pardeamiento del producto.

Estos valores de pH pueden presentar problemas de actividad microbiana debido a que actúan sobre pH de 5,8 y 6 y el producto presenta una gran superficie de corte (Tapiador Zamorano, 2014).

5.5.2. Medida del color

El color es el principal y más importante atributo en el que se fijan los consumidores a la hora de obtener un producto (Lucas A., 2011). A parte, es un método rápido para observar las imperfecciones que puede tener el producto. En este caso, mediante el color, se puede determinar si la patata mínimamente procesada sufre una oxidación mediante el pardeamiento de la superficie.

Se estudian los parámetros de luminosidad (L^*) en la gráfica 2, rojo-verde (a^*) en la gráfica 3 y amarillo-azul (b^*) en la gráfica 4:



Gráfica 2. Variación del parámetro L^* (luminosidad) a lo largo del tiempo.

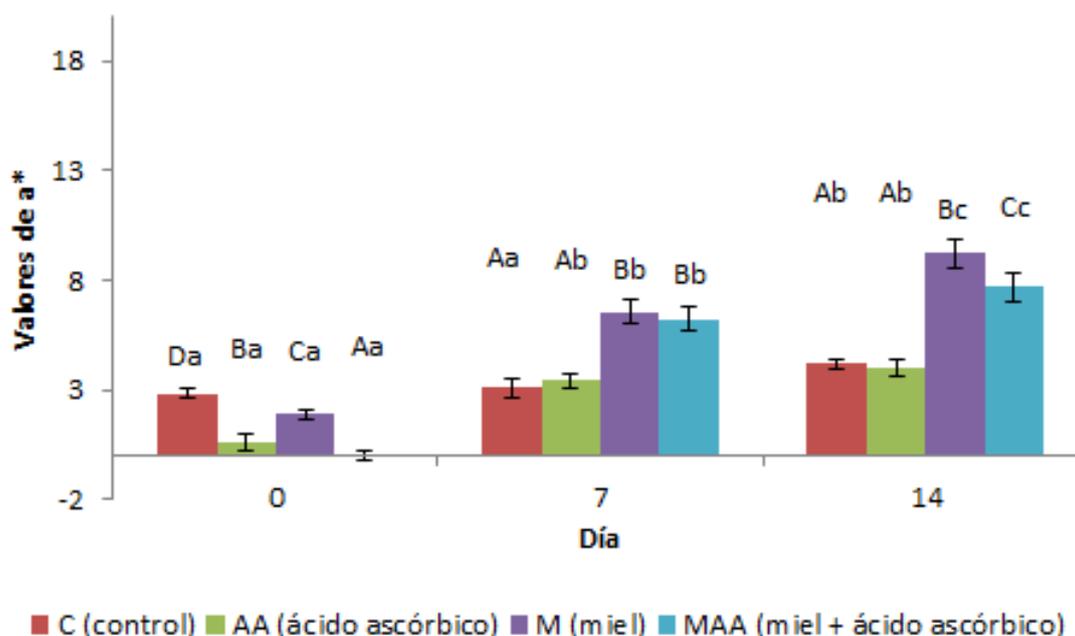
Letras mayúsculas diferentes indican, para cada día, diferencias significativas ($p < 0,05$; Tukey) entre tratamientos. Letras minúsculas diferentes indican, para cada tratamiento, diferencias significativas ($p < 0,05$; Tukey) entre días.

Los resultados de luminosidad tienden a seguir una línea descendente. El ensayo control muestra un valor de $87,71 \pm 0,24$, siendo el valor inicial más bajo. Esto indica que la aplicación de estos tratamientos a día 0, aportan luminosidad al producto. El valor más alto pertenece a el tratamiento MAA con un $90,14 \pm 0,33$.

Observando la significación que presenta el efecto del tiempo de almacenamiento para cada tratamiento (letras minúsculas), podemos afirmar que en el ensayo control, en el tratamiento M y el MAA existen diferencias significativas desde el día 0 hasta el día 14. En cambio, para el tratamiento AA entre el día 7 y el 14 no existen diferencias significativas.

En cuanto al tratamiento M y MAA, en los primeros 7 días en refrigeración, se observa que sufren un mayor descenso de luminosidad que los demás tratamientos, pasa de un $88,49 \pm 1,14$ a $79,13 \pm 1,20$ y de un $90,14 \pm 0,33$ a un $78,91 \pm 3,48$ respectivamente. Esto puede deberse a que a día 7, ambas muestras presentaban exudación de miel en el envase.

El descenso de luminosidad en las muestras no es suficiente para descartar el producto, debido a que existen otras variedades de patata, como la Agria, Hermes o Innovator, que sin aplicarles ningún proceso y almacenándolas en refrigeración a 4°C, tienen na luminosidad de 69,26, 68,82 y 69,85 respectivamente (Castro Lara, 2008).



Gráfica 3. Variación del parámetro a* (rojo-verde) a lo largo del tiempo.

Letras mayúsculas diferentes indican, para cada día, diferencias significativas ($p < 0,05$; Tukey) entre tratamientos. Letras minúsculas diferentes indican, para cada tratamiento, diferencias significativas ($p < 0,05$; Tukey) entre días.

El parámetro a* en sus valores positivos indican tonalidades rojizas. La combinación de un descenso del parámetro L* con un ascenso del parámetro a* indican una tendencia al pardeamiento (Bobo García, 2014).

En el día 0, se observa que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos, siendo el control el parámetro más alto con un $2,83 \pm 0,47$, que asciende hasta $4,17 \pm 0,52$ a día 14, en el cual se observan diferencias significativas entre los días.

En cuanto al tratamiento AA se observa que tiene diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el tiempo de almacenamiento. A día 0 presenta valores de $0,62 \pm 0,79$, en cambio a día 14 llega a alcanzar valores de $4,02 \pm 0,85$.

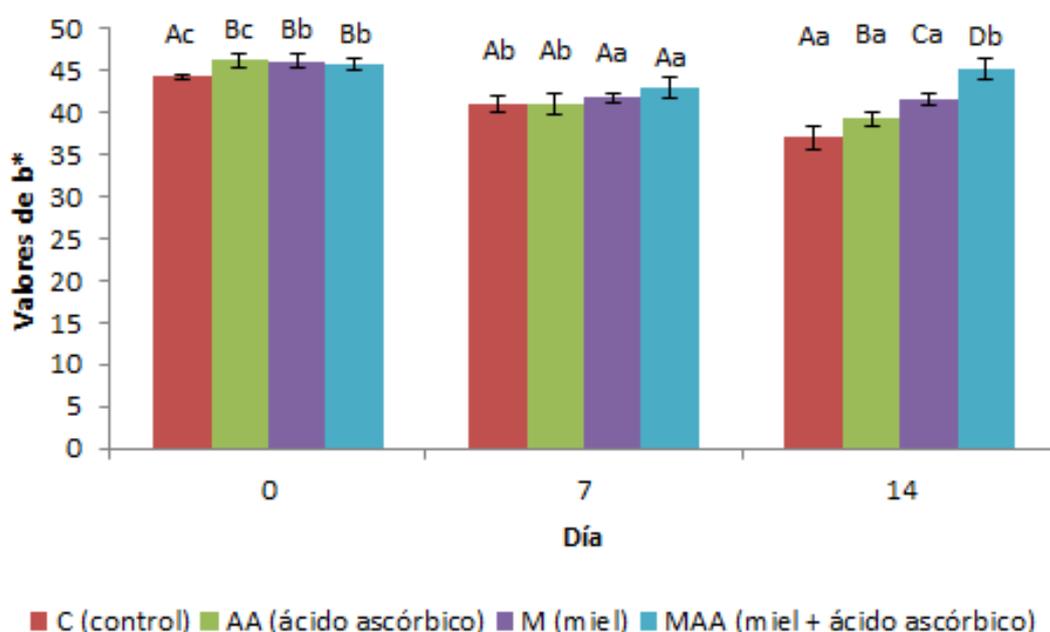
Los tratamientos M y MAA, siguen el mismo patrón, en los dos existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los días de almacenamiento. El proceso M alcanza el valor más alto a día 14 con un $9,20 \pm 0,90$ seguido del MAA con un $7,67 \pm 1,55$.

Tal y como se indica anteriormente, el descenso del parámetro L* y el ascenso del parámetro a* indica la aparición del color correspondiente al pardeamiento. Como se observa en el gráfico 3 y en la figura 17, el tratamiento C y AA, que presentan las coordenadas de a* más bajas, presentan mayor pardeamiento. En cambio los tratamientos M y MAA presentan los

valores de a^* más altos y no presentan pardeamiento. Tal y como indica Bobo García (2014) esta contradicción se debe a que tanto en el C como en el AA, a día 14, presentan una granulación blanquecina en la superficie, que corresponde al almidón seco adherido, por ello el valor de la coordenada a^* es más bajo.

Con todo lo anterior, se puede afirmar que, en una muestra no siempre el descenso de L^* y el aumento de a^* significa que presenta un pardeamiento, ya que pueden influir otras condiciones.

Los valores de M y MAA corresponden a los valores de a^* más elevados a día 14, pero tampoco son unos valores muy altos, por lo que muestra que el tratamiento con miel aporta color a la patata.



Gráfica 4. Variación del parámetro b^* (amarillo-azul) a lo largo el tiempo.

Letras mayúsculas diferentes indican, para cada día, diferencias significativas ($p < 0,05$; Tukey) entre tratamientos. Letras minúsculas diferentes indican, para cada tratamiento, diferencias significativas ($p < 0,05$; Tukey) entre días.

En cuanto a la coordenada b^* a día 0, se observan diferencia significativas ($p < 0,05$) entre el tratamiento C y los demás. Por lo que se puede afirmar los procesos que se le aplican, aportan color a la muestra.

En el día 7 no existen diferencias significativas. En cambio a día 14 sí existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos. Siendo el proceso MAA el valor más alto con un $45,28 \pm 2,77$ seguido de la M con el $41,61 \pm 1,77$.

Teniendo en cuenta todo lo anterior y fijándonos en la figura 16, se puede concluir que los tratamientos que presentan miel aportan color a la muestra conforme aumenta el tiempo de almacenamiento. Este hecho se debe a que presentan exudaciones de miel en el envase, por lo que le proporciona color a la superficie de la patata.

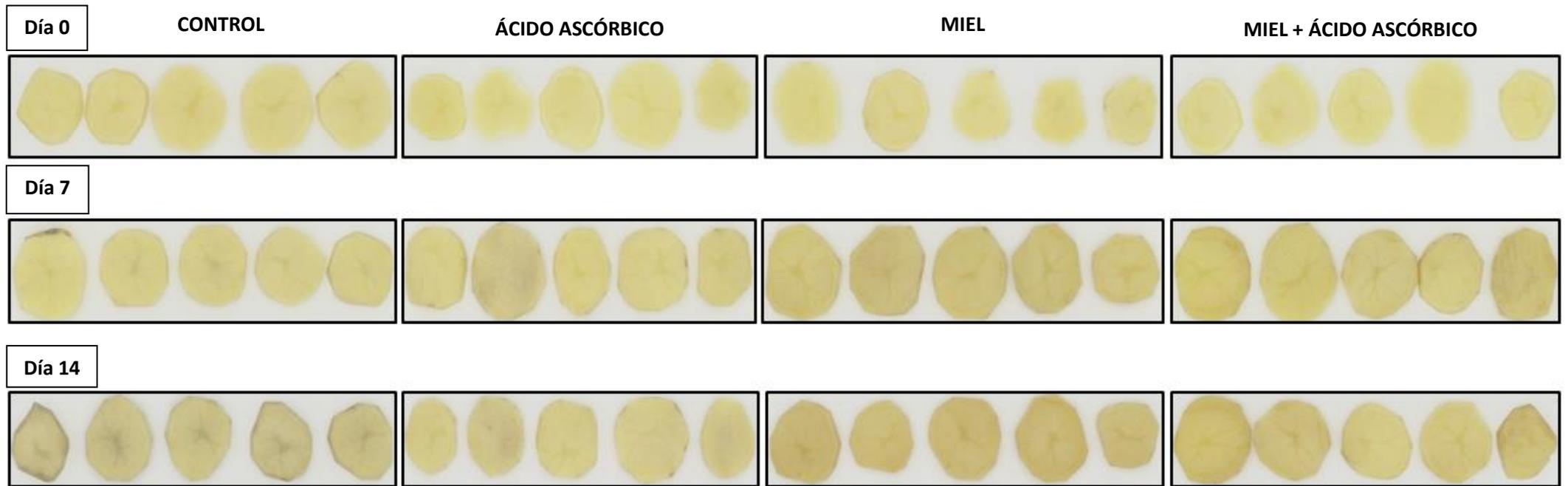


Figura 16. Imágenes tomadas mediante el sistema de análisis de imagen. De izquierda a derecha, por columnas: Control, Ácido ascórbico, Miel y Miel con Ácido ascórbico.

5.5.3. Apreciaciones organolépticas

Textura, aspecto y olor

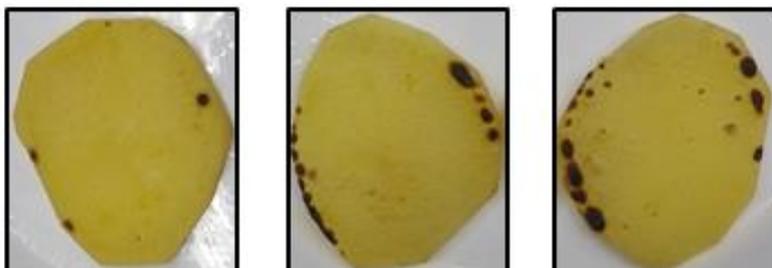
Los resultados obtenidos mediante las apreciaciones visuales y el seguimiento del proceso a lo largo del tiempo son:

Tabla 8. Características organolépticas apreciadas en el producto a lo largo del tiempo según el tratamiento.

Día	Tratamiento	Textura	Aspecto	Olor
0	C	Dura, característica de la patata cruda	Presenta un buen aspecto. Color característico de patata.	Característico de la patata cruda
	AA	Dura, característica de la patata cruda, no se modificada por el tratamiento	Húmeda, debido al tratamiento. Presenta un color amarillo brillante	Característico de la patata cruda. No aporta olor el proceso.
	M	Más blanda que la patata en crudo	Viscoso, proporcionado por el contacto con la miel. Color amarillo característico de la patata	Se percibe el olor a miel
	MAA	Más blanda a la patata en crudo	Viscoso, proporcionado por la miel. Color similar al de patata.	Se percibe olor a miel
7	C	Más dura que la control de día 0	Seca, ligeramente pardeada en el centro de las láminas, pérdida de color amarillo	Característico de la patata
	AA	Más dura que el proceso a tiempo 0	Seca, ligeramente pardeada, pérdida de color amarillo	Disminución del olor a patata.
	M	Más blanda que su proceso a tiempo 0	Húmeda, presenta exudación en el envasado, aumenta la coloración amarilla	Se percibe olor a miel
	MAA	Más blanda que su proceso a tiempo 0	Húmeda, presenta exudación en el envasado, aumenta la coloración amarilla.	Se percibe olor a miel
14	C	Más dura que anteriores percepciones, es rugosa	Seca, se observa almidón en la superficie (granulación blanca), presenta pardeamiento	No presenta olor
	AA	Más dura que anteriores percepciones, rugosa	Seca, se observa almidón en la superficie (granulación blanca), presenta pardeamiento	No presenta olor
	M	Más blanda que anteriores percepciones	Viscoso, presenta exudado en el envase, presenta color	Presenta olor a miel
	MAA	Más blanda que anteriores percepciones	Viscoso, presenta exudado en el envase, tiene más color que los tratamientos sin miel	Presenta olor a miel

Aplicación de un tratamiento térmico

Se decide realizar un cocinado de los productos a día 7 mediante la técnica de planchado en el ensayo control, el tratamiento con miel y el tratamiento con miel y ácido ascórbico, debido a que al sacar el producto del envase, se observa que existe una exudación de la miel y le proporciona a la patata su olor característico. Por ello se decide realizar un cocinado, para ver si este aspecto también está presente en el producto a la hora de consumirlo.



**Figura 17. Patatas mínimamente procesadas cocinadas mediante el planchado.
De izquierda a derecha: Control, miel y miel con ácido ascórbico.**

Se observa que al cocinar el producto, todos los procesos presentan el mismo color, tal y como se aprecia en la figura 16. En el sabor, tampoco se observan diferencias en los tratamientos en los que se utiliza miel y la patata control. Por lo que se puede afirmar que la aplicación de miel a una concentración del 30% no aporta ni olor ni sabor al producto después de cocinarlo.

6. CONCLUSIONES

- Se determina que la capacidad de inhibición en el rango de las concentraciones ensayadas (10, 20, 30 y 40 %) depende de la concentración de miel. La máxima capacidad de inhibición es de $30,56 \pm 0,24\%$, correspondiente a la concentración del 40% de miel. Pero se observa que no existen diferencias significativas a partir de una concentración del 30%.
- Según los resultados reflejados, parece que al combinar el ácido ascórbico con miel actúan de manera sinérgica, ya que son capaces de retrasar la aparición del pardeamiento enzimático. En cambio, los resultados obtenidos de la combinación de miel y ácido cítrico, demuestra que el ácido cítrico no tiene efecto antioxidante.
- La miel modifica las características organolépticas del producto, en cuanto a su color, olor y textura, pero al aplicarle algún tratamiento térmico para su consumo, no existen diferencias entre una patata tratada con miel y una patata sin ningún proceso.
- La patata mínimamente procesada, pierde luminosidad a lo largo de su almacenamiento (parámetro L^*) ya que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los días para cada tratamiento aplicado al producto en todos los procesos.
- Tras haber analizado los resultados se puede afirmar que la miel al 30% y de miel 30% + ácido ascórbico, tiene una capacidad antioxidante suficientemente apta para retardar la aparición del pardeamiento enzimático en patata mínimamente procesada durante al menos 14 días en refrigeración. Por lo que se afirma que puede utilizarse como un aditivo de origen natural.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Bobo García, G. (2014). *ESTUDIO DE ESTRATEGIAS PARA LA CONSERVACIÓN DE PATATAS (cv. Monalisa) MÍNIMAMENTE PROCESADAS*. Universidad Pública de Navarra, Pamplona.
- Boletín Oficial del Estado. (2003). REAL DECRETO 1049/2003, de 1 de agosto, por el que se aprueba la Norma de calidad relativa a la miel. Boletín Oficial del Estado.
- Cabezas Serrano, A. B. (2013). *Estrategias dirigidas a retrasar el pardeamiento enzimático en productos destinados a la IV Gama: alcachofas y patatas*. Universidad de Córdoba y Università Di Foggia.
- Calvo, M. (2014). ACIDO ASCÓRBICO.
- Carocho, M., Barreiro, M. F., Morales, P., & Ferreira. (2014). Adding Molecules to Food, Pros and Cons: A Review on Synthetic and Natural Food Additives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4).
- Morante Carriel, J., Agnieszka Obrebska, A., Bru-Martinez, R., Carranza Patiño, M., Pico-Santos, R., & Nieto Rodriguez, E. (2014, junio). Distribución, localización e inhibidores de las polifenol oxidasas en frutos y vegetales usados como alimento. *Ciencia y Tecnología*, 7(1), 23-31.
- Castro Lara, M. C. (2008). *Evaluación de las propiedades físico-químicas y sensoriales de la patata para fritura*. Universidad de Burgos, Burgos.
- Chordi Barrufet, S. (2013). *Contenido fenólico y capacidad antioxidante de fresa mínimamente procesada sometida a tratamientos de conservación por pulsos de luz de alta intensidad*. Universitat de Lleida, Facultad de Medicina.
- Cubero, N., Monferrer, A., & Villalta, J. (2002). *Aditivos Alimentarios*.
- Dávila M., R. M., Cortés R., M., & Gil G., J. H. (2016). Cambio físicos y fisicoquímicos durante el almacenamiento en plátano impregnado al vacío con soluciones antioxidantes. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14(2), 125-134.

- Diario Oficial de la Unión Europea. (2008). REGLAMENTO (CE) No 1333/2008 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 16 de diciembre de 2008 sobre aditivos alimentarios.
- FAO. (2016). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- Frankel, S., Robinson, G. E., & Berenbaum, M. R. (1998). Antioxidant capacity and correlated characteristics of 14 unifloral honeys. *Journal of Apicultural Research*, 37(1).
- Ibáñez, F. C., Torre, P., & Irigoyen, A. (2003). Aditivos alimentarios. Universidad Pública de Navarra.
- Leclercq, C., Arcella, D., & Turrini, A. (2000). Estimates of the theoretical maximum daily intake of erythorbic acid, gallates, butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT) in Italy: a stepwise approach. *Food and Chemical Toxicology*, 38, 1075-1084.
- Lucas A., J. C. (2011). Evaluación de los parametros de calidad durante la fritura de rebanadas de papa criolla. *Scientia et Technica Año XVI*, 48, 299-304.
- Maestro Durán, R., & Padilla, R. B. (1993). Actividad antioxidante de las vitaminas C y E y de la provitamina A. *Instituto de la Grasa y sus Derivados (C.S.I.C.)*, 44(2), 107-108.
- MAPAMA. (2018). Informe del consumo de alimentación en España.
- Martín Garretas, D. (2015). *Evaluación de la capacidad antioxidante de la miel y su potencial como conservante natural*. Universidad de Salamanca, Escuela Politécnica de Zamora.
- Martínez Berzosa, I. (2016). *Predicción del „pinking“ en los vinos blancos*. Universidad Politécnica de Valencia, Escuela técnica superior de ingeniería agronómica del medio rural.
- Muñoz Villa, A., Sáenz Galindo, A., López López, L., Cantú Sifuentes, L., & Barajas Bermúdez, L. (2014). Ácido Cítrico: Compuesto Interesante. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 6(12).

- Niki, E. (2010). Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. *Free Radical Biology Medicine*, 49(4), 503-515.
- Nisperos-Carriedo, M. O., E. Shaw, P., & Baldwin, E. A. (1990). Changes in volatile flavor components of pineapple orange juice as influenced by the application of lipid and composite films. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 38, 1382-1387.
- Parzanese, M. (2014). Vegetales mínimamente procesados. *Alimentos Argentinos*, 31-38.
- Peiró Sánchez, S. (2015). *Actividad antioxidante del té blanco y de los residuos de limón: optimización de la extracción y aplicaciones en carne y en envases activos*. Universitat de Barcelona, Barcelona.
- Peñarrieta, J. M., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., & Bravo, J. A. (2014). PHENOLIC COMPOUNDS IN FOOD. *REVISTA BOLIVIANA DE QUÍMICA*, 31(2), 68-81.
- Pinchuk, I., Shoval, H., Dotan, Y., & Lichtenberg, D. (2012). Evaluation of antioxidants: scope, limitations and relevance of assays. *Chemistry and Physics of Lipids*, 165(6), 638-647.
- Quintín Martínez, D. (2015). *Empleo de Extractos Naturales obtenidos de Subproductos Agroalimentarios en Productos de V Gama*. Universidad de Murcia.
- Rojo Cortina, M. D. (2013). *Evaluación del empleo de miel artesanal en la conservación de carne picada de ternera*. Universidad Politécnica de Cartagena, Cartagena.
- Ros, G., Martínez, L., & Nieto, G. (2015). Situación actual del empleo de aditivos sintéticos en preparados cárnicos y nuevas tendencias para la sustitución de los mismos. *Eurocarne*, (241), 7.
- Salar Aziz, M. (2010). *Determinación de daños durante la recolección mecanizada y la manipulación de patata*. Universidad Pública de Navarra, Pamplona.
- Singh, J., & Lovedeep, K. (2016). *Advances in potato chemistry and technology*.
- Subirats, S., Peris, M. J., Blasco, M., Pérez, J. P., Llusar, J., Romero, J. F., ... Saludes, J. (2010). Ultrasonidos, una vía para aumentar el nivel de antioxidantes en los alimentos.

- 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* (Vol. 190).
- Tapiador Zamorano, M. T. (2014). *Capacidad antipardeante del extracto de té verde en combinación con ácidos orgánicos sobre patata mínimamente procesada cv. Monalisa*. Universidad Pública de Navarra, Navarra.
- Unión Europea. (2008). REGLAMENTO (CE) No 1333/2008 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 16 de diciembre de 2008 sobre aditivos alimentarios. Diario Oficial de la Unión Europea.
- Yoruk, R., & Marshall, M. R. (2003). Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: a review, *25*(5), 361-422.
- Zapata, S., Pedrahita, A. M., & Rojano, B. (2014). Capacidad atrapadora de radicales oxígeno (ORAC) y fenoles totales de frutas y hortalizas de Colombia. *Perspectiva en nutrición humana*, *16*(1), 25-26.