

**EVALUACIÓN DE UNA TECNOLOGÍA EMERGENTE (MICROONDAS) PARA
LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES DE CÁSCARA DE
PAPA (*Solanum tuberosum*) DE LA VARIEDAD DIACOL CAPIRO.**

**VALERY DANIELA BOLAÑOS PATIÑO
DIANA MELISA CHAVES MORILLO**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL
PROGRAMA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL
SAN JUAN DE PASTO
2014**

**EVALUACIÓN DE UNA TECNOLOGÍA EMERGENTE (MICROONDAS) PARA
LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES DE CÁSCARA DE
PAPA (*Solanum tuberosum*) DE LA VARIEDAD DIACOL CAPIRO**

**VALERY DANIELA BOLAÑOS PATIÑO
DIANA MELISA CHAVES MORILLO**

**Trabajo de grado en la modalidad de investigación, presentado como
requisito parcial para optar al título de Ingeniera Agroindustriale**

Asesor:

**MAURICIO BUCHELI JURADO
Ingeniero Agroindustrial**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL
PROGRAMA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL
SAN JUAN DE PASTO
2014**

NOTA DE RESPONSABILIDAD

Las ideas y conclusiones aportadas en el presente trabajo de grado son de responsabilidad exclusiva de los autores.

Artículo 1º del acuerdo No. 324 del 11 de octubre de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación:

Firma del Presidente de tesis

Firma del jurado

Firma del jurado

San Juan de Pasto, septiembre de 2014

AGRADECIMIENTOS

A la Vicerrectoría de investigaciones, Postgrados y Relaciones Internacionales (VIPRI) por la financiación de este proyecto.

Ph.D. Oswaldo Osorio y M.Sc. Diego Mejía España por su valiosa colaboración y aportes al trabajo de grado.

A nuestro asesor Ing. Mauricio Bucheli, por su constante apoyo, asesoría y acompañamiento durante la formulación y ejecución del presente trabajo de grado.

A la Facultad de Ingeniería Agroindustrial, personal docente, administrativo y personal de planta piloto.

Al personal de Laboratorios Especializados: Juan Pablo Jiménez, David Arturo y Sandra Espinoza por su aporte en análisis de resultados y equipos.

DEDICATORIA

Este es un gran logro pero un pequeño paso hacia adelante, como no querer a la vida si es una aventura de grandes subidas y bajadas, y como no apreciar a las personas que están en esta gran aventura. Es imprescindible para mí agradecer a mis padres y mis hermanos quienes son mis ganas de vivir y mi completa felicidad, porque me han brindado amor verdadero y su apoyo incondicional, a mi hermano mayor por ser siempre mi héroe, a mis más cercanos amigos con quienes he compartido más que simples experiencias, a esa persona que siempre tendré en mi corazón a pesar de todo y por su puesto a Dios por sus infinitas bendiciones y su compañía durante toda mi vida, a Dios gracias por enseñarme que la recompensa se encuentra en el esfuerzo y no en el resultado y que debo ser yo la que aparta la piedra del camino.

Y a todas esas buenas, gratas y no gratas personas en mi vida gracias por hacer parte de ella.

Diana Melisa Chaves Morillo

DEDICATORIA

A Dios, por su infinita sabiduría, por permitir que hoy alcance este triunfo, por haberme puesto en el camino correcto con las personas correctas

A todos aquellos que creyeron en mí y en esta profesión.

A mis padres por su cariño y amor, por regalarme la vida y un hogar.

A mi conciencia por darme su constante apoyo y darme esfuerzos para no desistir de mis propósitos.

A mi tía Martha Dolly por su cariño, comprensión, por tantas noches de desvelos junto a mí, por aguantarme durante tanto tiempo y ser como una madre para mí, por sus consejos, por sus regaños, gracias tía porque me brindaste las fuerzas necesarias para salir adelante y es gracias a ti que hoy alcanzo este triunfo.

A mi Papi Jo, a mi Mami Maura y mis hermanos Migue, Juan, Yanes y Jose por brindarme su amor y estar siempre presentes, acompañándome, guiándome para crecer como persona y como profesional

A mis compañeras y amigas Dianita y Marce por ser mi familia en mi paso por la universidad, por tantas dificultades superadas juntas, por brindarme su apoyo y amistad incondicional.

A mi Amiga y compañera de este trabajo Diana Chaves, por su constante apoyo, por todos los momentos vividos, por permitir mi crecimiento como persona y profesional, por aguantarme durante todo este tiempo y juntas alcanzar este gran triunfo.

A todas aquellas personas que de una u otra manera me permitieron soñar y creer que la persistencia hace de estos sueños una realidad.

Válery Daniela Bolaños Patiño

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN.....	18
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
2. JUSTIFICACIÓN	22
3. OBJETIVOS	24
3.1 OBJETIVO GENERAL	24
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
4. MARCO TEORICO	25
4.1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	25
4.2 PAPA (<i>Solanum tuberosum</i>)	25
4.2.1 Valor nutricional	25
4.2.2 Cultivo, producción y consumo.	26
4.3 ANTIOXIDANTES, RADICALES LIBRES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.....	28
4.3.1 Compuestos fenólicos.....	29
4.4 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN.....	30
4.4.1 Métodos para determinación de fenoles totales y actividad antioxidante..	31
4.5 ANTECEDENTES	32
5. METODOLOGIA	35
5.1 ADQUISICIÓN, RECEPCIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE MATERIA PRIMA.....	35
5.2 EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES DE CÁSCARA DE PAPA (<i>SOLANUM TUBEROSUM</i>), VARIEDAD DIACOL CAPIRO, UTILIZANDO TECNOLOGÍA DE MICROONDAS.....	38
5.2.1 Preparación de la muestra.	38
5.2.2 Procedimiento de extracción	38
5.2.3 Determinación del contenido de fenoles totales en los extractos obtenidos.....	42
5.2.4 Determinación de actividad antioxidante de los extractos obtenidos.	44

5.2.5	Análisis estadístico.....	45
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	46
6.1	ESTUDIO DEL EFECTO DE LA POTENCIA, TIEMPO Y CONCENTRACION DE ETANOL SOBRE EL CONTENIDO DE FENOLES	46
6.1.1	Determinación de fenoles totales	46
6.1.2	Determinación de la actividad antioxidante	52
6.2	EFECTO DEL TAMAÑO DE PARTICULA Y EL TIEMPO SOBRE EL CONTENIDO DE FENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.	57
6.2.1	Determinación de fenoles totales.	58
6.2.2	Determinación de actividad antioxidante.....	68
6.2.3	Comparación entre los resultados de actividad antioxidante de los extractos de cáscara de papa y otras investigaciones	75
6.3	COMPARACIÓN DE LA EFICIENCIA DE EXTRACCIÓN DE LA TECNOLOGÍA DE MICROONDAS CON METODOS CONVENCIONALES.....	76
7.	CONCLUSIONES	79
8.	RECOMENDACIONES	80
	BIBLIOGRAFIA	81

LISTA DE FIGURAS

Pág.

Figura 1.	Oxidación de polifenoles a quinonas promovida por un radical libre. .	30
Figura 2.	Recepción y limpieza de la materia prima	36
Figura 3.	Obtención de la cáscara de papa variedad Diacol capiro.	36
Figura 4.	Secado de cáscara de papa	37
Figura 5.	Molienda de la cascara de papa	37
Figura 6.	Extracción de compuestos antioxidantes utilizando la tecnología de microondas.	38
Figura 7.	Centrífuga Dinamic Velocity 18R	42
Figura 8.	Medición de fenoles totales	42
Figura 9.	Extractos de la cascara de papa.....	43

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Matriz del diseño factorial 2^3	39
Tabla 2. Factores experimentales del diseño factorial 2^3	40
Tabla 3. Variables de respuesta del diseño factorial 2^3	40
Tabla 4. Matriz del diseño factorial 3^2	40
Tabla 5. Factores experimentales del diseño factorial 3^2	41
Tabla 6. Variables de respuesta del diseño factorial 3^2	41
Tabla 7. Cuantificación de fenoles de extractos de papa	46
Tabla 8. Análisis de varianza para el contenido de fenoles totales.....	48
Tabla 9. Respuesta óptima para el contenido de fenoles totales en función de tiempo, solvente y potencia.....	51
Tabla 10. Actividad antioxidante de extractos de papa.....	52
Tabla 11. Análisis de varianza para actividad antioxidante (TEAC).....	53
Tabla 12. Respuesta óptima para el contenido de actividad antioxidante en función de tiempo, solvente y potencia	56
Tabla 13. Contenido de fenoles totales para los extractos de cascara de papa .	58
Tabla 14. Análisis de varianza papa Contenido de Fenoles totales.....	60
Tabla 15. Comportamiento de fenoles totales de la cascara de papa con respecto al tiempo.....	65
Tabla 16. Respuesta óptima para el contenido de fenoles totales en función de tiempo y tamaño de partícula.....	66
Tabla 17. Contenido de actividad antioxidante para los extractos de cascara de papa	69
Tabla 18. Análisis de varianza para la actividad antioxidante expresada en TEAC	70
Tabla 19. Comportamiento de la actividad antioxidante de extractos de la cáscara de papa con respecto al tiempo.	73
Tabla 20. Respuesta óptima para la actividad antioxidante en función de tiempo y tamaño de partícula.	74

Tabla 21. Contenido de fenoles totales y actividad antioxidantes de extractos de cascara de papa.	77
--	----

LISTA DE GRÁFICOS

	Pág.
Gráfico 1. Curva de calibración para la determinación de fenoles totales.....	43
Gráfico 2. Curva de calibración para determinar la actividad antioxidante expresada como TEAC.....	44
Gráfico 3. Contenido de fenoles totales para los extractos de papa evaluados	47
Gráfico 4. Gráfico de pareto para la cuantificación de fenoles con los factores de tiempo, solvente y potencia.....	48
Gráfico 5. Gráfico de medias de LSD de Fisher para el contenido de fenoles totales en relación al solvente.....	49
Gráfico 6. Gráfico de medias de LSD de Fisher para el contenido de fenoles totales en relación al tiempo	49
Gráfico 7. Gráfico de interacciones para el contenido de fenoles totales teniendo en función del tiempo y solvente	50
Gráfico 8. Superficie de respuesta estimada para fenoles totales.....	50
Gráfico 9. Total de actividad antioxidante para los extractos de papa evaluados	53
Gráfico 10. Gráfico de pareto para la actividad antioxidante (TEAC).....	54
Gráfico 11. Gráfico de medias de LSD de Fisher para la actividad antioxidante (TEAC) con relación al tipo de solvente.....	54
Gráfico 12. Gráfico de medias de LSD de Fisher para la actividad antioxidante (TEAC) con relación al tiempo	55
Gráfico 13. Gráfico de interacciones para la actividad antioxidante (TEAC)	55
Gráfico 14. Gráfico de superficie de respuesta para Actividad Antioxidante en TEAC	56
Gráfico 15. Contenido de fenoles totales de los extractos evaluados con respecto al tiempo y tamaño de partícula	59
Gráfico 16. Diagrama de pareto estandarizado para contenido de fenoles totales con los factores tiempo y tamaño de partícula	61
Gráfico 17. Gráfico de medias para el contenido de fenoles totales con relación al tiempo.	62

Gráfico 18.	Gráfico de medias para el contenido de fenoles totales con relación al tamaño de partícula.....	62
Gráfico 19.	Gráfico de efectos principales para el contenido de fenoles totales	63
Gráfico 20.	Superficie de respuesta estimada para fenoles totales teniendo en cuenta tamaño de partícula y tiempo.....	64
Gráfico 22.	Fenoles totales de los extractos evaluados y otros productos.....	68
Gráfico 23.	Actividad antioxidante en TEAC para los extractos evaluados	70
Gráfico 24.	Gráfico de Pareto estandarizado para la actividad antioxidante expresada en TEAC.....	71
Gráfico 25	Gráfico de medias para la actividad antioxidante en TEAC con relación al tamaño de partícula.....	72
Gráfico 26.	Gráfico de medias para la actividad antioxidante TEAC con relación al tiempo.....	72
Gráfico 27.	Gráfico de efectos principales de actividad antioxidante en TEAC..	73
Gráfico 28	Comportamiento de actividad antioxidante TEAC con respecto al tiempo	74
Gráfico 29.	Actividad antioxidante de los extractos evaluados y otros productos	76

LISTA DE ABREVIATURAS

Abs: Absorbancia

ABTS•+ : 2,2 azinobis-(3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfónico)

AGE: Ácido Gálico Equivalente

CV: Coeficiente de variación

DE: Desviación estándar

TP: Tamaño de Partícula

FT: Fenoles Totales

EAM: Extracción asistida por microondas

TEAC: Actividad antioxidante equivalente a trolox

RESUMEN

Actualmente existe un gran interés en el uso de tecnologías emergentes amigables con el medio ambiente que permitan la extracción de sustancias de origen natural con capacidad antioxidante, el uso de nuevas tecnologías para el proceso de extracción de compuestos fenólicos y actividad antioxidante como la técnica asistida por microondas (EAM) permite no solo una mayor eficiencia en el proceso de extracción sino que además reduce el consumo energético.

En esta investigación se ha implementado el uso de esta tecnología para la evaluación de actividad antioxidante en la cascara de papa (*Solanum tuberosum*) de la variedad diacol capiro ya que este ha probado poseer una potente actividad antioxidante al ser una fuente de ácidos fenólicos; se evaluó la actividad antioxidante de extractos de cáscara cultivadas en el Departamento de Nariño y se analizaron los mejores parámetros como tipo de solvente, tamaño de partícula, potencia del microondas y tiempo de contacto para su extracción.

Los extractos de cáscara de papa se obtuvieron por técnicas de extracción con microondas utilizando solventes orgánicos (etanol 96 % y etanol 50%) a temperatura ambiente. Se determinó el contenido de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu, la actividad antioxidante se cuantificó por medio del radical 2,2 azinobis-(3-etilbenzotiazon-6-ácido sulfónico) (ABTS•+).

Los resultados indicaron que los mejores valores de actividad antioxidante y fenoles totales se obtuvo con las variables de etanol al 50%, potencia de 300W, tamaño de partícula de 0,508 mm y tiempo de extracción de 7,8 minutos, siendo los valores óptimos de fenoles totales y actividad antioxidante de 7.632 mg de AGE/g de cascara de papa seca y 0,0984 mmol trolox/ g de cascara de papa seca respectivamente.

ABSTRACT

There is currently a great interest in using emerging technologies friendly to the environment to enable the extraction of natural substances with antioxidant capacity, the use of new technologies for the extraction of phenolic compounds and antioxidant activity as assisted technique microwave (EAM) allows not only greater efficiency in the extraction process but also reduces the consumption enegetico.

This research has implemented the use of this technology for the evaluation of antioxidant capacity in the skin of potato (*Solanum tuberosum*) variety of capiro Diacol as this has proved to possess potent antioxidant activity to be a source of phenolic acids; the antioxidant capacity of extracts of cultured skin in the Department of Nariño was evaluated and the best parameters as type of solvent, particle size, microwave power and contact time for removal were analyzed.

The potato peel extracts obtained by microwave extraction techniques using organic solvents (ethanol 96% and 50% ethanol) at room temperature. The total phenolic content was determined by the Folin-Ciocalteu, the antioxidant activity was quantified by the radical 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazon-6-sulfonic acid) (ABTS • +).

The results indicate that the best values of antioxidant activity and total phenolics were obtained with Variables 50% ethanol, 300W power, particle size of 0.508 mm and extraction time of 7.8 minutes, with optimum values of phenols Total antioxidant activity and AGE 7.632 mg / g of dried potato peel and 0.0984 mmol trolox / g dry peel potatoes respectively.

INTRODUCCIÓN

Las tecnologías relativamente nuevas como el microondas se han desarrollado potencialmente en los últimos años y han tenido diferentes usos en la industria, tanto alimentaria como no alimentaria. Recientemente el método asistido por microondas ha sido utilizado como método alternativo de extracción a escala de laboratorio y ha representado grandes ventajas como ahorro energético, tiempos cortos de proceso, mayor rendimiento, procesos económicos y amigables con el ambiente (Puertas *et al.*, 2013).

La extracción de diferentes compuestos mediante técnicas no convencionales se ha incrementado en los últimos tiempos debido a las ventajas mencionadas anteriormente como mayores rendimientos y menor consumo de solvente en comparación con los métodos tradicionales. El actual interés en los compuestos antioxidantes radica su acción preventiva o retardante de la oxidación celular, por ello es importante la ingesta de estos debido a que el cuerpo no los produce; la importancia de estas moléculas no solo se refleja en el campo alimentario, sino también en la farmacéutica, cosmética, entre otros, es por eso que las investigaciones acerca del tema han puesto la mira en diversas fuentes de origen vegetal para el estudio de sus componentes y actividad antioxidante, además de su aplicación en la industria (Kuskoski *et al.*, 2005)

El presente proyecto plantea evaluar la tecnología emergente Microondas en la extracción de compuestos antioxidantes de la cascara de papa (*Solanum tuberosum*), la cual es un residuo agroindustrial de la cadena productiva de la papa.

La cáscara de papa es una excelente fuente de fibra, y es buena fuente de ácidos fenólicos y otros antioxidantes, de manera que se investiga su uso como aditivo para alimentos con el propósito de mejorar la calidad nutricional o retardar la oxidación lipídica. En Nariño existen investigaciones para la extracción de antioxidantes de cascara de papa, sin embargo hasta el momento no se han reportado investigaciones que apliquen el uso de la tecnología de microondas (EAM) este tipo de residuos

Esta propuesta apunta a la innovación tecnológica para la obtención de componentes de utilidad para la industria bien sea alimentaria o no alimentaria, aprovechando las ventajas que ofrecen las tecnologías emergentes como el microondas, además hacer uso de residuos agroindustriales como la cáscara de papa que actualmente no tienen un uso más allá de alimentación animal, para lo cual se desarrollará procesos de extracción asistida por microondas buscando evaluar la eficiencia de estas tecnologías no convencionales sobre el rendimiento y actividad antioxidante de los compuestos fenólicos de la cáscara de papa que permitirían plantear alternativas para su aprovechamiento industrial en un futuro.

Cabe resaltar que el presente proyecto ha sido avalado por la vicerrectoría de investigaciones, posgrados y relaciones internacionales VIPRI en la convocatoria de proyectos investigación docente 2012 aprobada mediante resolución 076 de julio 16 de 2013.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A nivel mundial la papa (*Solanum tuberosum*) ocupa el cuarto lugar en importancia como producto alimenticio después del trigo, el maíz y el arroz, con cerca de 295 millones de toneladas anuales producidas (Kuskoski et al. 2005). Según la FAO (2008) en todo el mundo se produce papa y hoy en día se cultiva en más de 100 países de clima templado, subtropical y tropical.

De acuerdo con lo reportado por la FAO (2009), los principales productores de papa en el mundo son: China con casi 74 millones de toneladas por año, seguido de la India y la Federación Rusa con cerca de 31 millones de toneladas anuales. Por su parte Colombia ocupa el puesto 31 en la producción de papa mundial, donde el 80% de su producción se concentra en tres departamentos: Cundinamarca (42%), Boyacá (23%) y Nariño (14%), en estos departamentos esta es la actividad rural que más ingresos y empleo genera (Martínez et al. 2006)

En Colombia, el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) es uno de los principales productos agrícolas de las zonas de clima frío, que llegó a ocupar en el 2006 un área sembrada total de 168.000 hectáreas. La papa ocupa un lugar muy importante en la canasta familiar de los colombianos, no sólo en las zonas productoras como Antioquia, el Altiplano Cundiboyacense, Santander y Nariño, sino también en regiones consumidoras como la Costa y los Llanos Orientales logrando desplazar a productos propios de la región como son la yuca y el plátano. (Martínez et al. 2006)

Entre los residuos del procesamiento de la papa (*Solanum tuberosum*) se destacan las cáscaras, las cuales normalmente se desechan como residuo sólido o se utilizan para alimentación animal sin ningún proceso de transformación (Radunz et al. 2003). Las pérdidas causadas por pelado se encuentran entre un 15% a 40% del total del peso de papa, cuando se aplican procedimientos de vapor, abrasión o peladura (Kuskoski *et al.*, 2005). En este mismo Martínez *et al.*, (2006), reporta un promedio de 12% de pérdida por pelado de papa.

De ahí, que la Gobernación de Nariño (2012) en el plan de desarrollo 2012 - 2015, plantea objetivos tales como: Incentivar la investigación y el desarrollo tecnológico aplicado a las actividades productivas de la región, buscando la meta de usar sosteniblemente la biodiversidad y aumentar la productividad de las cadenas productivas en cada subregión, asimismo, se plantea contribuir a elevar el nivel de ingresos de pequeños y medianos productores con base en el mejoramiento de procesos de producción, transformación, comercialización y organización socio empresarial en los diferentes sectores.

En vista de la problemática generada al no dar uso a productos y subproductos (Boucher 1999), plantea que es urgente que se tome conciencia y que se definan

planes de investigación para aprovechar la riqueza de los productos promisorios autóctonos.

Estudios previos realizados por el grupo de investigación Tecnologías Emergentes en Agroindustria (TEA), de la universidad de Nariño, indican la presencia de compuestos antioxidantes en la cascara de la papa variedad diacol capiro, sin embargo, no se han realizado estudios que demuestren eficiencia en la extracción de mencionados componentes haciendo uso de diferentes métodos, debido también al desconocimiento del uso de nuevas tecnologías como lo es la extracción asistida por microondas la cual ha demostrado tener mayor eficiencia que los métodos convencionales (Puertas *et al.*, 2013)

Actualmente se buscan métodos eficientes, económicos y favorables al ambiente para la extracción de diferentes tipos de sustancias, para ello el presente proyecto mediante la extracción de antioxidantes de la cascara de papa variedad diacol capiro utilizando la extracción asistida por microondas, pretende evaluar la eficiencia de esta tecnología emergente en comparación con métodos convencionales.

2. JUSTIFICACIÓN

La extracción de compuestos antioxidantes a partir de la cáscara de papa, sería una innovación agroindustrial para agregar valor a un residuo proveniente de la industria de modo que se encuentren nuevas opciones para el uso racional de los residuos, teniendo en cuenta los beneficios incuestionables para el medio ambiente.

El interés cada vez más creciente por sustancias bioactivas de origen natural para aplicación industrial tanto alimentaria como no alimentaria, impone la necesidad de desarrollar métodos de extracción menos contaminantes y con el máximo rendimiento de sustancias de interés (Casazza *et al.*, 2010), ventajas que son ofrecidas por tecnologías emergentes como microondas; que además de ser más eficientes, son métodos más económicos y sencillos que los métodos de extracción tradicionales, por lo cual se comprueba su viabilidad industrial (Vargas 2007; Pan *et al.*, 2008)

Es por eso que se hace necesaria la incursión de nuevas tecnologías que vuelvan el proceso más eficiente, una de estas tecnologías la constituye la extracción asistida por microondas (EAM)

La técnica EAM puede ser usada como método alternativo para una valoración rápida, eficiente y eficaz del contenido de sustancias bioactivas en diferentes matrices biológicas, y podría ser utilizada de manera preliminar para la búsqueda biodirigida de diferentes compuestos activos, sin invertir grandes cantidades de dinero en equipos de alto costo.(Puertas *et al.*, 2013)

Es así como el método de extracción asistida por microondas ha tenido grandes resultados dentro del campo industrial en la extracción de distintos compuestos bioactivos y aceites esenciales a partir de las hojas de romero y menta (Bousbia *et al.*, 2009; Dai *et al.*, 2010) además se ha informado de que EAM es muy adecuado para la extracción de los fenoles aunque se realiza a temperaturas relativamente altas (110-150 ° C), una característica crítica para manejar antioxidantes sin degradación (Grigonis *et al.*, 2005).

Según Puertas *et al.*, (2013), en el proceso de preparación de la muestra siempre se busca un método que permita facilitar el análisis instrumental y la cuantificación de los componentes de interés. Una de las técnicas de preparación de muestras desarrollada en las últimas décadas y ampliamente utilizada para muchos tipos de matrices, es la extracción asistida por la radiación de microondas (EAM, por sus siglas en inglés). El calentamiento por la radiación de microondas fue usado inicialmente en procesos de digestión ácida en condiciones atmosféricas, reduciendo el tiempo de la preparación de la muestra de 2 h a menos de 15 min. (LeBlanc 1999) El calentamiento con microondas difiere de los métodos conductivos, porque en estos últimos el calentamiento es independiente de la

muestra, mientras que el calentamiento por microondas está relacionado directamente con las características absorbentes de la muestra, que permite calentar un gran número de estas en cortos períodos de tiempo (Ganzler *et al.*, 1986)

Además de la incursión de esta tecnología emergente en la extracción de compuestos antioxidantes de la cascara de papa se lograría un aprovechamiento cada vez más integral de las materias primas de las que se dispone en una región y así obtener compuestos naturales que sustituyan aditivos de carácter sintético puesto que el uso de antioxidantes de origen vegetal, tales como los ácidos fenólicos, flavonoides, tocoferoles en la industria alimentaria, cobra cada día mayor importancia debido al efecto anticarcinogénico y otros beneficios para la salud humana (Choi *et al.*, 2007; Fan *et al.*, 2007; Iqbal & Bhanger 2007)

El conocimiento de la eficiencia de la extracción de compuestos antioxidantes de la cascara de papa (*Solanum Tuberosum*) de la variedad diacol capiro permitiría dar valor agregado a un subproducto hasta el momento poco utilizado generando beneficios de tipo social, económico y minimizando el impacto ambiental en comparación con los métodos convencionales de extracción

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la tecnología emergente “microondas” para la extracción de compuestos antioxidantes de cáscara de papa (*Solanum tuberosum*) de la variedad diacol capiro.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar una evaluación de la extracción de compuestos fenólicos de la cascara de papa (*Solanum tuberosum*) de la variedad diacol capiro utilizando extracción asistida por microondas con respecto a métodos convencionales de extracción solido-liquido.
- Determinar la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos extraído de la cáscara de papa (*Solanum tuberosum*) de la variedad diacol capiro utilizando extracción asistida por microondas con respecto a métodos convencionales de extracción solido-liquido.

4. MARCO TEORICO

4.1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Recientemente, el interés en las técnicas del medio ambiente y eficacia en la valoración de los productos ha aumentado de manera exponencial. Una de las técnicas de interés es la extracción asistida por microondas (EAM). Esta técnica de extracción se produce al calentar el interior y el exterior de la matriz sólida, realizada por pulsos de microondas. De este modo, se forma un gradiente térmico, lo que conduce a una extracción de los compuestos de interés de manera más eficiente y selectiva. Isabelle et al. (2010) además son métodos más económicos y sencillos que los métodos de extracción tradicionales, por lo cual se comprueba su viabilidad industrial (Vargas 2007; Pan et al. 2008).

La técnica EAM ha sido usada como método alternativo para una valoración rápida, eficiente y eficaz del contenido de sustancias bioactivas en diferentes matrices biológicas, y podría ser utilizada de manera preliminar para la búsqueda biodirigida de diferentes compuestos activos, sin invertir grandes cantidades de dinero en equipos de alto costo (Puertas et al. 2013).

4.2 PAPA (*Solanum tuberosum*)

La papa es una planta de regiones frías o montañosas, originaria de América del Sur, perteneciente a la familia de las Solanáceas de interés industrial y alimenticio debido a sus tubérculos comestibles (OCDE 1997). Es herbácea puede llegar a medir 1 m de altura tiene un tallo aéreo en el cual se disponen las hojas compuestas y dos tipos de tallos subterráneos: rizomas y tubérculos; este último funciona como órgano de almacenamiento de nutrientes, sus hojas son grandes, alternas, profundamente partidas y llenas de pelillos, su flor es pequeña y blanca/morada (OCDE 1997; Fedepapa 2004)

4.2.1 Valor nutricional. Su valor nutricional es alto produce mayor cantidad de materia seca y proteína por unidad de superficie sembrada en comparación con los cereales y a la vez, contenido insignificante de grasa y baja densidad de energía similar a las legumbres (Fedepapa 2012) El almidón, es el carbohidrato predominante; en una papa cultivada varía entre 11.0 y 30.4% con base en el peso fresco (lo que significa 18,8%), en especies silvestres varía desde 3,8 hasta 39,6 con una media de 18,1%, sin tener en cuenta la madurez (CEVIPAPA 2012).

La proteína de papa oscila entre 1-1.5% del peso del tubérculo fresco, en comparación con otras fuentes de vegetales crudos, las papas no se consideran una buena fuente de proteína, sin embargo, la proteína de la papa tiene un excelente valor biológico (BV), de 90-100 comparado con el del huevo entero (100), soya (84) y frijoles (73), los lípidos constituyen sólo una pequeña fracción del peso de la papa, unos 0,15 g/150 g de peso fresco, menos que el arroz (1,95 g) o la pasta (0,5 g) (Fedepapa 2012).

La fibra es aportada por las paredes celulares, especialmente de la cáscara (hollejo), que representa el 1-2% del tubérculo y puede jugar papel importante en la reducción del colesterol, en cuanto a minerales los que están en mayor concentración son (mg/g de peso fresco): potasio (564), fósforo (30-60) y calcio (6-18), la dosis diaria recomendada para estos minerales es 22, 6, y 6%, respectivamente (Fedepapa 2012).

Consumir las papas con piel aporta una buena fuente de potasio. La vitamina predominante en las papas es la C (ácido ascórbico): su contenido oscila entre 84 a 145 mg por 100 g peso seco, dependiendo del cultivar, el sitio del cultivo y las condiciones de almacenamiento. La vitamina C es importante para la disponibilidad del hierro, mineral que parece ser limitado en el hombre, la papa es una importante fuente de vitamina C en muchas regiones del mundo. También son importantes las vitaminas B: ácido fólico, niacina, piridoxina, riboflavina, y tiamina y pueden considerarse una buena fuente de vitamina B6 (Fedepapa 2012)

4.2.2 Cultivo, producción y consumo. La papa es un cultivo de carácter transitorio del que se obtienen dos cosechas al año; en Colombia la producción comercial se realiza entre los 2.000 y 3.000 m.s.n.m, las zonas de producción óptima en función de la calidad y cantidad del producto pertenecen a fincas localizadas entre los 2.500 y los 3.000 m.s.n.m (Fedepapa 2012)

La cuna de la papa está en América del Sur, pero esta región tiene el nivel más bajo de producción de papa, de menos de 16 millones de toneladas en 2007. Para la mayoría de los pequeños campesinos de la región andina la papa sigue siendo un cultivo tradicional, y se cultiva con otras especies de papa desconocidas en el resto del mundo. En otros países, como Argentina, Brasil, Colombia y México, está aumentando la producción comercial a gran escala de *Solanum tuberosum* (Fedepapa 2004).

En Colombia el cultivo de papa en los departamentos de Cundinamarca, Boyacá y Nariño es la actividad agropecuaria que más empleo e ingresos genera, constituyéndose en eje fundamental de la economía regional en estos departamentos (Huertas & Ligarreto 2001) esta es la principal actividad agrícola de clima frío, dispersa en unos 250 municipios con predominio de agricultores minifundistas quienes, en general, tienen un limitado acceso a los factores de

producción, servicios públicos, educación, salud, asistencia técnica agrícola, obras de infraestructura y recreación; para el año 2005 alrededor de 90.000 familias se encontraban vinculadas con la explotación directa de este cultivo generando cerca de 20 millones de jornales al año; generando unos 104.456 empleos directos(Fedepapa 2012). En el Departamento de Nariño el cultivo de la papa involucra a 25 mil familias, de la cual se derivan 3.600.000 jornales anuales y 350 mil empleos indirectos. Es el mayor empleador del sector rural por el alto requerimiento de mano de obra y mayor participación de todos sus integrantes de la familia. El cultivo de la papa en Nariño es un sistema de producción de economía campesina minifundista. El 80% de los productores posee explotaciones de 0.5 a 3.0 hectáreas localizadas en un 70% en zonas de laderas(Gobernacion de Nariño 2012).

En Colombia, se calcula que aproximadamente el 10% de la producción nacional de papa es demandada por la industria. Según (Fedepapa 2012) , las industrias más grandes en Colombia procesan diariamente alrededor de 250 Tm. de papa, las medianas entre 60 Tm. y 150 Tm. y las pequeñas industrias, un promedio de 15 Tm al día. Las industrias de nivel casero o semi-industrial procesan por su parte menos de 6 Tm. diarias.

Alrededor de 15 empresas, entre grandes y medianas, controlan más del 95% del mercado de producto procesado, particularmente en la línea de los denominados "chips" de papa y papa a la francesa prefrita congelada(Fedepapa 2012). Son industrias que en su mayor parte operan con grandes escalas y tecnología de producción avanzada; la mayor parte de la industria se encuentra ubicada en Bogotá y las demás se localizan en Medellín, Cali y Bucaramanga y regiones como el eje cafetero y el oriente del país. El resto de las empresas son pequeñas industrias (microempresas) de tipo casero dedicadas en su mayoría a lo que se denomina "cóctel de fritos" y orientadas a suplir una demanda proveniente de tiendas, pequeños supermercados y mercados informales (FINAGRO 2012)

En Nariño del área de papa cultivada el 85% se consume en fresco, el 15% se dedica a la industria, la preferencia del producto en el departamento es de un 95% de tipo Capira o Parda Pastusa en presentación fresca y sin lavar en bultos de 50 kg y el 5% del volumen consumido es de papa seleccionada lavada o frita en diferentes presentaciones. Actualmente el gobierno departamental mediante su programa de desarrollo productivo, pretende apoyar los esfuerzos de los pequeños y medianos productores para el fortalecimiento de la cadena de la papa en los procesos de producción , transformación y comercialización, y así gestionar la protección y salvaguardas de los productores del departamento frente a los efectos de los TLC con la Unión Europea, Estados Unidos, Canadá, Mercosur y otros países (Gobernacion de Nariño 2012)

4.3 ANTIOXIDANTES, RADICALES LIBRES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Los antioxidantes fueron comunes en la industria química y de alimentos durante los siglos XIX y XX. En la industria química se habían estudiado los antioxidantes, un grupo de compuestos caracterizados por su capacidad de oxidarse en lugar de otras sustancias presentes en el medio de reacción. Su uso vario, pasando de aditivos en la vulcanización del caucho hasta conservantes de alimentos. Sin embargo, fue solo hasta los años 60 cuando algunos estudios revelaron la importancia de los antioxidantes en la salud, con publicaciones acerca del efecto de los flavonoides, el ácido ascórbico y el estrés oxidativo en el cáncer (Cameron & Pauling 1978).

La actividad antioxidante es la capacidad de una sustancia para inhibir la degradación oxidativa (por ejemplo, la peroxidación lipídica), de tal manera que un antioxidante actúa, principalmente, gracias a su capacidad para reaccionar con radicales libres y, por lo tanto, recibe el nombre de antioxidante terminador de cadena (Londoño 2010).

Un radical libre es cualquier molécula independiente que contiene en su capa superficial uno o más electrones sin aparear. Estos electrones hacen que los radicales libres sean muy reactivos por lo que buscan otros electrones con los cuales aparearse, robando electrones de la molécula donante en el proceso, llevando así una reacción en cadena formando especies reactivas oxigenadas, que son los que producen los efectos nocivos. Los radicales libres más conocidos son el oxígeno, el superóxido, los radicales de hidroxilo, el peróxido de hidrógeno y los metales de transición (Buenger et al. 2006).

Sin embargo, es necesario distinguir también entre actividad estabilizadora de radicales libres o antiradicalaria (en inglés, scavenger) y actividad antioxidante. La primera está determinada completamente por la reactividad de un antioxidante frente a radicales libres, lo cual puede ser caracterizado por la velocidad de esa reacción. Por su parte, la segunda mide la capacidad para retardar la degradación oxidativa (Willet & MacMahon 1984). Por lo tanto, una alta actividad antiradicalaria no siempre correlaciona con una alta actividad antioxidante; en particular, algunos compuestos fenólicos sintéticos presentan alta reactividad frente a radicales libres, pero muestran moderada actividad antioxidante. De hecho, hasta ahora, no existen métodos mundialmente unificados para medir actividad antioxidante, en parte, debido a la disparidad de condiciones en las cuales se desarrollan estas metodologías, además de la complejidad de los sistemas y de la diversidad de matrices que necesitan ser evaluadas (Londoño 2010).

Los antioxidantes pueden ser exógenos o endógenos, los primeros son aportados principalmente por los alimentos, por su parte, los endógenos son producidos por el mismo organismo como un mecanismo de defensa intrínseco (Gordillo et al.

2012). Entre los antioxidantes endógenos se pueden mencionar las enzimas y coenzimas súperoxido, catalasa, peroxidasas GSH y el ácido úrico. Por su parte, los antioxidantes exógenos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza(Scalzo et al. 2005).

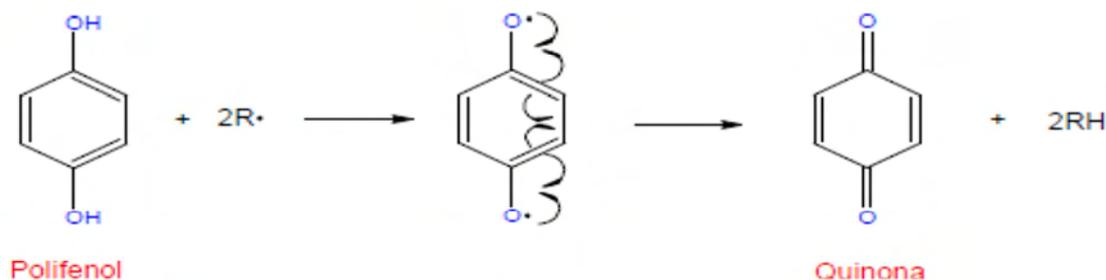
4.3.1 Compuestos fenólicos. Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, con diferentes estructuras y propiedades químicas y actividad biológica, englobando más de 8.000 compuestos distintos. Químicamente, los compuestos fenólicos son sustancias que poseen un anillo aromático, con uno o más grupos hidróxidos(Gutierrez et al. 2008).

Los compuestos fenólicos o polifenólicos constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, considerados metabolitos secundarios de las plantas, con diferentes estructuras químicas y funciones fisiológicas. Su estructura química más frecuente es la de polímeros o ligninas insolubles(Singh et al. 2011; Hayat et al. 2009; Contreras-Calderón et al. 2011). La distribución de los compuestos fenólicos en los tejidos y células vegetales varía considerablemente de acuerdo al tipo de compuesto químico del que se trate, situándose en el interior de las células (vacuolas) o en la pared celular. Sus principales funciones en las células vegetales son las de actuar como metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas, además de ser reconocidos agentes protectores frente a la acción de patógenos, siendo sintetizados como mecanismo de defensa (Casazza et al. 2010)

Los compuestos polifenólicos son los antioxidantes más abundantes en la naturaleza, comprenden flavonoides y ácidos fenólicos; se encuentran ampliamente distribuidas en los alimentos de origen vegetal, lo cual constituye la mayor fuente de ingesta de antioxidantes naturales (Ali et al. 2008; Senevirathne et al. 2009). Los ácidos fenólicos forman aproximadamente un tercio de los compuestos fenólicos en alimentos vegetales y son los derivados del ácido hidroxicinámico e hidroxibenzoico.

La actividad antioxidante de los compuestos polifenólicos ha sido asociada a sus características químicas estructurales como la capacidad de donación de protones del hidroxilo fenólico, la capacidad de deslocalizar y estabilizar electrones desapareados por resonancia en el anillo aromático (figura 1) bajo potencial de oxidación (alto potencial de reducción), alta capacidad de quelacion de metales que estos tienen e interacción con otras moléculas fácilmente oxidables (Brown 2005; Scalzo et al. 2005).

Figura 1. Oxidación de polifenoles a quinonas promovida por un radical libre.



Fuente. Este estudio

Los compuestos polifenólicos se encuentran en los tejidos vegetales y son importantes para el crecimiento y desarrollo de la planta, ya que proporcionan un mecanismo de defensa contra la infección y las lesiones (Ballard et al. 2010). Se supone que muchos compuestos fenólicos antioxidantes en las plantas se presentan unidos covalentemente (Balasundram et al. 2006). Por lo tanto, los métodos fiables y prácticos para la separación, identificación y análisis cuantitativo de compuestos fenólicos son de considerable interés (Hayat et al. 2009).

4.4 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

Los compuestos antioxidantes de los alimentos se extraen con disolventes de diferentes polaridades de acuerdo con el carácter hidrofílico o lipofílico de los compuestos que se desean evaluar. El disolvente más comúnmente utilizado en la obtención de extractos lipofílicos es el hexano. También se han utilizado el éter dietílico y cloruro de metileno entre otros (Pérez 2003).

Convencionalmente, los antioxidantes se extraen mediante los métodos tradicionales como el reflujo de calor, percolación y Soxhlet se han usado para aislar los antioxidantes de las plantas (Rodríguez et al. 1994), sin embargo ninguno de ellos puede ser considerado como un método óptimo para este propósito, además de presentar algunas desventajas asociadas como tiempos de extracción más largos, alto consumo de solvente y aumento del riesgo de la degradación de los componentes termolábiles (Grigonis et al. 2005)

En los últimos años se ha visto una demanda creciente de nuevas técnicas de extracción que permiten la automatización, acortar los tiempos de extracción y reducción del consumo de disolvente orgánico. Entre las técnicas de extracción más eficaces están la extracción asistida por microondas, la extracción con

ultrasonido, la extracción con fluidos supercríticos y la extracción por solvente acelerado (Vian et al. 2011; Zill-E-Huma et al. 2009; Ballard et al. 2010)

Recientemente, el método asistido por microondas se ha utilizado como una alternativa amigable con el ambiente, para la extracción de compuestos de interés a escala de laboratorio, resultó ser considerablemente más eficaz y económico que otros métodos anteriormente mencionados. Tiene mayores rendimientos, requiere menos tiempo y el consumo de solvente es menor en comparación con la extracción convencional (Martino et al. 2006).

Las microondas son ondas electromagnéticas de alta energía. Su principal actuación consiste en su capacidad de producir cambios en la rotación molecular y en la movilidad iónica del medio sin alterar la muestra (García et al. 2000)

Las microondas producen dos interacciones básicas:

Disipación de energía por conductividad térmica: Al atravesar una onda electromagnética en un fluido, los iones presentes en esta se ven afectados por su paso ejerciendo una fuerza que hace migrar los iones en función del campo eléctrico. Esta migración iónica lleva asociada una resistencia del fluido al movimiento de iones. De este modo esa resistencia produce un calentamiento generalizado de la muestra ya que los iones están en todas partes del fluido (Grigonis et al. 2005; Martino et al. 2006; Isabelle et al. 2010).

Disipación de energía por rotación de dipolos: En moléculas con dipolos eléctricos el campo eléctrico asociado a la radiación electromagnética produce un alineamiento de los mismos con el campo. De este modo cuando pasa la onda los dipolos se encuentran ordenados perfectamente en la dirección del campo pero cuando este cesa las moléculas se reorganizan anárquicamente produciéndose fricción con el disolvente y, por lo tanto, calor (Sosa & Garcia 2010; Contreras-Calderón et al. 2011; García et al. 2000).

Ambos fenómenos ocurren en todos los lugares de la disolución por igual, de este modo es mucho más eficaz que el calentamiento con mantas que primero calienta el recipiente y luego es éste el que calienta la muestra (García et al. 2000)

4.4.1 Métodos para determinación de fenoles totales y actividad antioxidante.

Los métodos de determinación de la actividad antioxidante se basan en distintos sistemas generadores de radicales libres. Dichos radicales reaccionarían con la muestra y en virtud de la capacidad antioxidante de esta se inhibiría la generación de los primeros. Así, lo que se determina realmente es el efecto antioxidante ya que la actividad antioxidante no se puede medir de forma directa. Las medidas de la actividad antirradicalaria se pueden realizar mediante dos estrategias distintas, en función de la información que se desea obtener (Sánchez 2002).

Determinación directa: El radical se emplea como un factor de cuantificación (produce una señal analítica). La adición del antioxidante, antes o después de la generación del radical, provoca una disminución de la señal. En el ensayo de postadición se forma el radical en ausencia de la muestra y así, cuando se añade la sustancia antioxidante se produce un descenso en la señal debido a la disminución de la concentración del radical. En ensayos de inhibición, la muestra se añade a los sustratos de oxidación antes que sea generado el radical, La reacción comienza con la adición del oxidante (ABTS, DPPH, etc).

Determinación indirecta: La presencia de radicales libres produce la pérdida o aparición de un reactivo, y por tanto, en presencia de un antioxidante se provoca el aumento o disminución de la señal (métodos, ORAC, FRAP, etc).

Método DPPH: Cuando el radical libre reacciona con el compuesto antioxidante, este último le dona un protón y produce una decoloración que puede medirse a través del tiempo por medio de la absorbancia de la mezcla (Aruoma 2003). La decoloración de la mezcla se debe a la aparición de la forma reducida del radical, cambiándolo así, de un color violeta a un amarillo con el transcurso del tiempo (Molyneux 2004).

Con los datos de absorbancia y utilizando diferentes concentraciones de antioxidante, se puede calcular la concentración del radical en el medio de reacción y también el porcentaje de DPPH remanente. Estos resultados y las diferentes concentraciones permiten encontrar el parámetro EC50 el cual indica la cantidad de antioxidante necesaria para disminuir la concentración de radical inicial a la mitad y el T EC50, es decir el tiempo que tarda el EC50 para alcanzar el estado estacionario (Jimenez & Villarreal 2008).

4.5 ANTECEDENTES

Pinelo et al. 2004 afirman que la extracción de compuestos antioxidantes (fenólicos) se ha convertido en un tema de gran interés. La extracción es indispensable para el aislamiento, identificación y uso de compuestos fenólicos, sin que exista actualmente un método estándar.

Casazza et al. 2010 afirman que se obtienen mayores rendimientos y compuestos con mayor actividad antioxidante con los métodos de microondas y ultrasonido; en un estudio fenomenológico, se supo que la extracción asistida por microondas permite una mayor recuperación de polifenoles en comparación con la técnica convencional, sin alterar el potencial antioxidante de los extractos (Pan et al. 2008), siendo esta una característica importante que denota una ventaja para impulsar la utilización de estas tecnologías emergentes.

La extracción sólido-líquido es ampliamente usada para recuperar componentes sin embargo, existen factores que afectan la concentración de los componentes deseados en el extracto líquido-sólido, como la temperatura, tasa de flujo y tamaño de las partículas; además de variables significativas como el tiempo de contacto y la relación líquido-sólido (Pinelo et al. 2004)

Este método libera de forma sistemática los compuestos fenólicos en forma de ácidos fenólicos mediante el uso de una solución acuosa orgánica con el objetivo de extraer ácidos fenólicos solubles (libres de ésteres y glucósidos solubles). (Escarpa et al. 2002; Mattila & Jarkko 2006; Russell et al. 2009). El solvente con más exactitud las soluciones acuosas (solvente-agua) juegan un papel fundamental en la extracción, Martínez *et al.*, 2010 en su investigación extracción de polifenoles asistida por microondas a partir de *Punica granatum* L. encontraron que hay una mejor eficiencia cuando se utiliza etanol hidratado a concentración del 60% que al utilizar concentraciones de 20%. En el caso de la diferencia observada en la concentración de etanol al 20 % se debe a que solubiliza en menor proporción los compuestos fenólicos que el etanol que se encuentra en concentraciones de 0 y 60%. No se observa una diferencia significativa entre el empleo de etanol 60%

Llanos (2009), determinó la capacidad antioxidante de tres variedades de papa (*Solanum tuberosum*) blanca, amarilla y rosada, con y sin cáscara. Las tres variedades se adquirieron del centro del Perú, Obteniéndose de cada una el extracto acuoso y utilizando el método de reducción del radical para la cuantificación de compuestos antioxidantes. Los resultados mostraron una mayor actividad antioxidante para la variedad blanca con una inhibición de los radicales libres del 46%. Los autores concluyen que la papa blanca con cáscara y la papa amarilla sin cáscara presentaron una mayor actividad antioxidante frente al sistema generador de radicales libre.

(Koduvayur et al. 2010) comparó la actividad antioxidante de los extractos (acuoso y etanólico) de 2 variedades de papa de Dinamarca sobre la estabilidad de emulsiones aceite en agua. Al final de la investigación encontraron que el mayor contenido de compuestos fenólicos totales se presentaba en el extracto etanólico, que fue el que alcanzó mayor actividad antioxidante.

Mattila & Hellström (2007) estudiaron el contenido de ácidos fenólicos totales en 14 muestras de papa y 45 muestras de otros vegetales. Los resultados muestran los contenidos más altos en papas crudas y cocinadas respecto a las otras muestras evaluadas.

Londoño et al. 2010 optimizaron la extracción acuosa asistida por ultrasonido, como una tecnología limpia, de antioxidantes flavonoides de cáscaras de cítricos. El contenido fenólico total fue de 74.80 ± 1.90 , 66.36 ± 0.75 y 58.68 ± 4.01 mg equivalente de ácido gálico/g, para lima, naranja y mandarina, respectivamente.

Sun et al. (2011) estudió el efecto de diferentes factores para la extracción asistida por ultrasonido de trans-carotenos de cáscara de naranja. Se encontró que el rendimiento se ve afectado significativamente por el tamaño de partícula del material que se va a someter a extracción (a menor tamaño, mayor rendimiento). El solvente etanol mostró un mayor rendimiento en comparación con la extracción clásica. El pico de mayor rendimiento de extracción se alcanzó a los 25°C. La mejor relación sólido-solvente fue 1:10.

Cerón & López (2013) estudiaron la Extracción y cuantificación de compuestos con actividad antioxidante a partir de cáscaras de tres variedades de papa (*Solanum tuberosum*) en el departamento de Nariño, Diacol capiro, Parda y Roja; midiendo factores como tipo de solvente, tamaño de partícula y tiempo de extracción. Obteniendo como mejor resultado el tratamiento en el cual se utilizó papa de la variedad Diacol capiro, y solvente metanol con un contenido de fenoles de 0.0934 ± 0.00012

5. METODOLOGIA

Este trabajo se llevó a cabo utilizando cáscara de papa (*Solanum tuberosum*) de la variedad diacol capiro, que en análisis previos, utilizando extracción convencional, dicha variedad ha arrojado los mejores resultados en contenido de fenoles totales y actividad antioxidante (Cerón & López 2013), esta información, sirvió como base para el establecimiento de la metodología para la extracción convencional de los compuestos antioxidantes de manera que se pueda establecer parámetros de comparación claros entre la técnica convencional y una tecnología emergente como lo es la extracción asistida por microondas.

La investigación se llevó a cabo a nivel experimental en la Planta Piloto de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial y el laboratorio de evaluación y conservación de la calidad de alimentos de la Universidad de Nariño sede Torobajo Pasto (Nariño). Altura 2527 m.s.n.m.

La metodología para desarrollar los objetivos propuestos se describe a continuación:

5.1 ADQUISICIÓN, RECEPCIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE MATERIA PRIMA.

Se utilizó papa (*Solanum tuberosum*) de la variedad Diacol Capiro, proporcionada por empresas dedicadas a la venta del tubérculo en el municipio de Pasto, departamento de Nariño, a las cuales se le compró la cantidad necesaria para los diferentes tratamientos, este residuo fue transportado hacia la Universidad de Nariño, donde se realizó un proceso de acondicionamiento así:

- Limpieza y selección: se realizó una limpieza húmeda, se eliminó sustancias sólidas presentes como residuos de tierra, palos, fibras, mediante operaciones de que incluyen lavado y cepillado (Figura 2), para la selección se tomó como referencia la norma técnica colombiana NTC 341 (Industrias alimentarias. Papa para consumo).

Figura 2.Recepción y limpieza de la materia prima



Fuente. Este estudio

Obtención de la cáscara: se realizó mecánicamente utilizando la peladora de tubérculos (Indumatic) (ver Figura 3).

Figura 3. Obtención de la cáscara de papa variedad Diacol capiro.



Fuente. Este estudio

-Secado de las cáscaras: con aire caliente en secador de bandejas (Industrias FIQ LTDA) a 55°C hasta peso constante aproximadamente durante 24 horas (ver Figura 4).

Reducción de tamaño: se utilizó un molino de cuchillos (IKA WORKS INC- M20) para reducir tamaño y luego se tamizó el material (ver Figura 5), utilizando la serie de tamices 40, 60 y 80 (A.S.T.M.E), el material retenido sobre cada tamiz fue el utilizado para las diferentes experimentaciones.

Figura 4. Secado de cáscara de papa



Fuente. Este estudio

Figura 5. Molienda de la cascara de papa



Fuente. Este estudio

Empaque y almacenamiento: El material obtenido se empacó en bolsas resellables de plástico y se almacenaron en un lugar oscuro a temperatura ambiente hasta la experimentación.

5.2 EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES DE CÁSCARA DE PAPA (*SOLANUM TUBEROSUM*), VARIEDAD DIACOL CAPIRO, UTILIZANDO TECNOLOGÍA DE MICROONDAS.

5.2.1 Preparación de la muestra. En un erlenmeyer se pesaron 2 g de muestra seca de cáscara de papa y se le adicionó el solvente en relación 1:20 (cáscara:solvente). Para esta investigación, y basándose en pruebas preliminares realizadas en el laboratorio para escoger el solvente, se determinó que se obtienen mejores resultados utilizando etanol (96%) y etanol (50%) (ver Figura 6).

Figura 6. Extracción de compuestos antioxidantes utilizando la tecnología de microondas.



Fuente. Este estudio

5.2.2 Procedimiento de extracción. La extracción asistida con microondas se llevó a cabo teniendo en cuenta inicialmente los factores de potencia, tiempo y solvente para lo cual se planteó un diseño experimental 2^3 el cual se llevó a cabo por triplicado, con los cuales se buscó, no solamente determinar rendimientos de extracción, sino también, la relación de estas variables con la extracción utilizando microondas, la (ver tabla 1, tabla 2 y tabla 3).

Tabla 1. Matriz del diseño factorial 2³

Repetición	Solvente	Tiempo (minutos)	Potencia (W)
1	Etanol 50%	3	300
1	Etanol 50%	6	300
1	Etanol 50%	3	600
1	Etanol 50%	6	600
1	Etanol 96%	3	300
1	Etanol 96%	6	300
1	Etanol 96%	3	600
1	Etanol 96%	6	600
2	Etanol 50%	3	300
2	Etanol 50%	6	300
2	Etanol 50%	3	600
2	Etanol 50%	6	600
2	Etanol 96%	3	300
2	Etanol 96%	6	300
2	Etanol 96%	3	600
2	Etanol 96%	6	600
3	Etanol 50%	3	300
3	Etanol 50%	6	300
3	Etanol 50%	3	600
3	Etanol 50%	6	600
3	Etanol 96%	3	300
3	Etanol 96%	6	300
3	Etanol 96%	3	600
3	Etanol 96%	6	600

Los atributos del factorial 2³ son los siguientes:

Número de factores experimentales: 3

Número de bloques: 3

Número de respuestas: 2

Número de corridas: 24

Aleatorizado: No

Fuente. Este estudio

Tabla 2. Factores experimentales del diseño factorial 2³

Factor	Niveles
Solvente	2
Tiempo	2
Potencia	2

Fuente. Este estudio

Tabla 3. Variables de respuesta del diseño factorial 2³

Variable respuesta	Unidades
Fenoles Totales	mg AGE/g de cascara seca
TEAC	mM trolox/g de cascara seca

Fuente. Este estudio

Una vez establecida la incidencia de los factores iniciales se realizó una evaluación del tamaño de partícula y el factor tiempo, se utilizaron los tamaños de partícula obtenidos de la fracción retenida sobre los tamices 40, 60 y 80 de la serie A.S.T.M.E, y tiempos de 3, 6 y 9 minutos, el diseño establecido con estos niveles fue un diseño factorial 3², con lo cual se busca encontrar si estos factores influyen sobre la variable de respuesta y de esta manera encontrar el punto óptimo de extracción.

Tabla 4. Matriz del diseño factorial 3²

Repetición	Tiempo (min)	TP ¹ (mm)	Repetición	Tiempo (min)	TP (mm)	Repetición	Tiempo (min)	TP (mm)
1	3	0.214	2	3	0.214	3	3	0.214
1	6	0.214	2	6	0.214	3	6	0.214
1	9	0.214	2	9	0.214	3	9	0.214
1	3	0.335	2	3	0.335	3	3	0.335
1	6	0.335	2	6	0.335	3	6	0.335
1	9	0.335	2	9	0.335	3	9	0.335
1	3	0.508	2	3	0.508	3	3	0.508
1	6	0.508	2	6	0.508	3	6	0.508
1	9	0.508	2	9	0.508	3	9	0.508

1: Tamaño de Partícula

Los atributos del factorial 3² son los siguientes:
Número de factores experimentales: 2

Número de bloques: 3
Número de respuestas: 2
Número de corridas: 27
Aleatorizado: No

Fuente. Este estudio

Tabla 5. Factores experimentales del diseño factorial 3²

Factor	Niveles
Tiempo	3
Tamaño de partícula	3

Fuente. Este estudio

Tabla 6. Variables de respuesta del diseño factorial 3²

Variable respuesta	Unidades
Fenoles Totales	mg AGE/g de cascara seca
TEAC	mM trolox/g de cascara seca

Fuente. Este estudio

Al terminar la extracción (según las condiciones de experimentación), se procedió a pasar las muestras a tubos para llevar a centrifugación (3000 rpm) por 10 minutos y se retiró el sobrenadante en una centrifuga Dinamic Velocity 18R (ver Figura 7). Finalmente, los extractos obtenidos, se almacenaron en viales de color ámbar en refrigeración hasta el momento de realizar los análisis propuestos (Ver Figura 9).

Figura 7. Centrífuga Dinamic Velocity 18R



Fuente. Este estudio

5.2.3 Determinación del contenido de fenoles totales en los extractos obtenidos. Se utilizó la metodología de Folin Ciocalteu empleada por Koduvayur Habeebullah *et al.*, (2010). Se tomó una alícuota de 100 μ L de extracto y se mezcló con 500 μ L del reactivo de Folin Ciocalteu (dilución 1:10). Se adicionó una solución de carbonato de sodio (10%) y se dejó reposar por un tiempo de dos horas a temperatura ambiente (ver Figura 8). Se realizó la lectura de absorbancia frente a un blanco de ácido gálico a 765 nm utilizando un espectrofotómetro Génesis 10UV-Vis Scanning Thermo Fisher Scientific.

Figura 8. Medición de fenoles totales



Fuente: este estudio

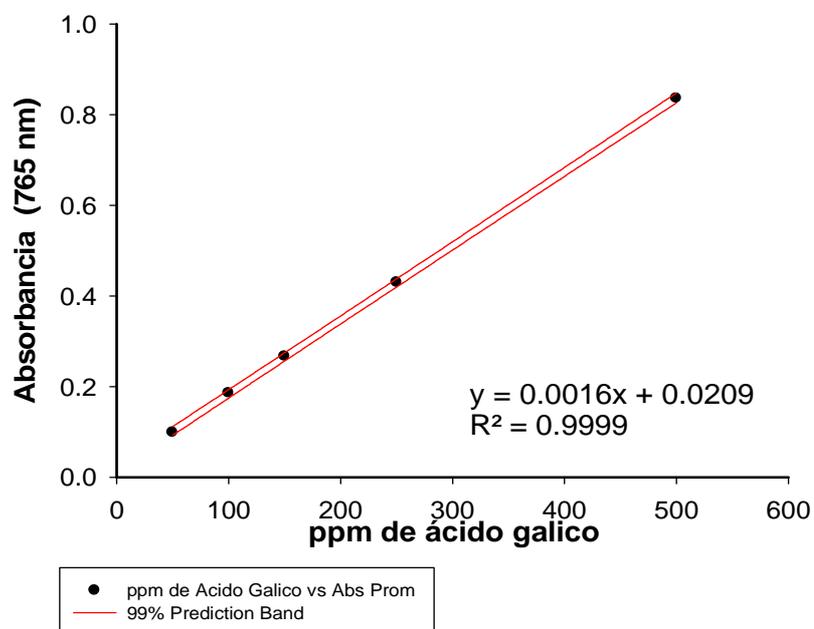
Figura 9. Extractos de la cascara de papa.



Fuente. Este estudio

Para el presente estudio se tomó la curva de calibración realizada por Cerón & López (2013), de la cual se obtuvo la siguiente ecuación: $y = 0,0016x + 0,0209$ ($R^2 = 0,999$) (Gráfico 1).

Gráfico 1. Curva de calibración para la determinación de fenoles totales



Fuente: Cerón y López (2013)

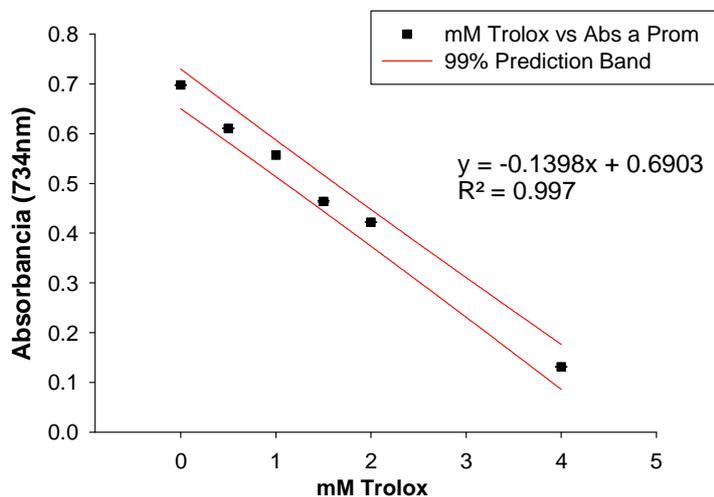
5.2.4 Determinación de actividad antioxidante de los extractos obtenidos.

ABTS: Se siguió la metodología reportada por Jimenez & Villarreal (2008). Para la determinación de la actividad antioxidante TEAC, se utilizó Trolox como antioxidante de referencia y un radical coloreado, ABTS, en forma de sal diamónica y persulfato de potasio para la preparación del catión radical. Se genera el radical ABTS, tras la reacción de ABTS 7 mM con persulfato potásico 2,45 mM. Se dejó a temperatura ambiente y en oscuridad durante 16 h. Una vez formado el radical ABTS, se diluye con metanol hasta obtener un valor de absorbancia de 0.7 ± 0.2 en longitud de onda de máxima absorbancia (734 nm).

Para la reacción se tomó 3 mL de la solución de ABTS y se agregó 30 μ L de la solución bajo estudio, se agitó constantemente durante 1 minuto y después de 6 minutos de reposo se tomó la lectura de absorbancia a 734 nm en un espectrofotómetro Génesis 10 UV-Vis Scanning Thermo Fisher Scientific.

Se utilizó la curva de calibración con soluciones Trolox a concentraciones de 0.5; 1.5 y 2 mM para expresar los resultados en mol o en mmol de trolox/g de extracto reportado por Cerón & López (2013), de la cual se encontró la siguiente ecuación (Gráfico 2): $y = -0,1398x + 0,6903$ ($R^2 = 0,9997$).

Gráfico 2. Curva de calibración para determinar la actividad antioxidante expresada como TEAC



Fuente: (Cerón & López 2013)

5.2.5 Análisis estadístico. El análisis de resultados para los diseños experimentales propuestos, se desarrollaron el programa Statgraphics centurión© Plus XV.I, mediante el cual se realizó el análisis de varianza multifactorial, diagrama de pareto, prueba de comparación LSD de Fisher a un 5% de nivel de significancia, gráficos de efectos principales, gráficos de interacciones, superficies de respuesta y respuesta optima con el fin de determinar con qué relación de las variables tenidas en cuenta en la experimentación (potencia/tiempo/solvente-tamaño de partícula/tiempo) se obtiene un mayor rendimiento.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 ESTUDIO DEL EFECTO DE LA POTENCIA, TIEMPO Y CONCENTRACION DE ETANOL SOBRE EL CONTENIDO DE FENOLES

6.1.1 Determinación de fenoles totales. En la tabla 7 se consignan los resultados obtenidos de la cuantificación de los fenoles totales de los extractos evaluados, los superíndices a, b c y d, indican diferencia significativa entre las diferentes corridas de la experimentación.

Los mayores valores de fenoles totales obtenidos fueron de 6,88 mg de AGE/g de cascara seca y 6,819 mg de AGE/g de cascara seca, obtenidos en las corridas 6 y 8 respectivamente, entre las cuales no hubo diferencia significativa, esto se refleja en los valores cercanos de los resultados conseguidos con estas corridas. Los niveles de los factores de extracción de las corridas 6 y 8 fueron iguales (Solvente: etanol 50%, Tiempo: 6 minutos) a excepción de la potencia, siendo el nivel de 300W para la corrida 6 y 600W para la corrida 8. En los resultados de la tabla 7 se observa que las corridas entre las cuales no hay diferencia significativa, los niveles de los factores solvente y tiempo son iguales, y solo difieren en la potencia. En el Grafico 3 se aprecia con más claridad que los valores de FT no difieren entre corridas con diferente nivel de potencia, mas sin embargo si se observa una mayor eficiencia de extracción cuando se utiliza etanol hidratado, que cuando se utiliza etanol absoluto, así mismo se puede apreciar que se obtiene mayor cantidad de fenoles cuando aumenta el tiempo de 3 a 6 minutos.

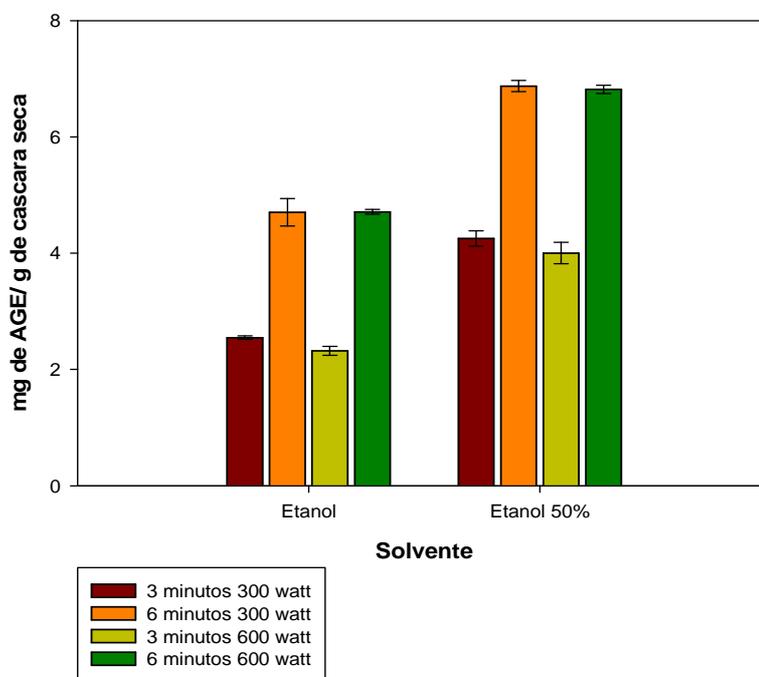
Tabla 7. Cuantificación de fenoles de extractos de papa

Corridas	Factores			Respuestas		
	Solvente	Tiempo (min)	Potencia (W)	Ppm de A.Galico	F.T. (mg de AGE/mg de cascara de papa seca)	F.T. (mg de AGE/g de cascara de papa seca)
1	Etanol	3	300	127,42±1.56	254,84±3,13	2,548±0,03 ^d
2	Etanol	6	300	235,34±20,22	470,7±40,43	4,707±0,4 ^c
3	Etanol	3	600	116,1±3,82	232,2±7,64	2,32±0,076 ^d
4	Etanol	6	600	235,6±20,05	471,2±40,1	4,712±0,40 ^c
5	Etanol 50%	3	300	212,7±6,503	425,4±13,01	4,254±0,13 ^b
6	Etanol 50%	6	300	343,81±4,81	687,62±9,61	6,88±0,096^a
7	Etanol 50%	3	600	200,13±9,19	400,26±18,4	4,003±0,18 ^b
8	Etanol 50%	6	600	340,9±3,622	681,93±7,25	6,819±0,07^a

Nota: Los valores de las respuestas son la media de tres replicas ±DE, FT: Fenoles Totales, resultados con letras diferentes (a,b c y d) indican diferencias estadísticamente significativas en un nivel de 5%.

Fuente. Este estudio

Gráfico 3. Contenido de fenoles totales para los extractos de papa evaluados



Fuente. Este estudio

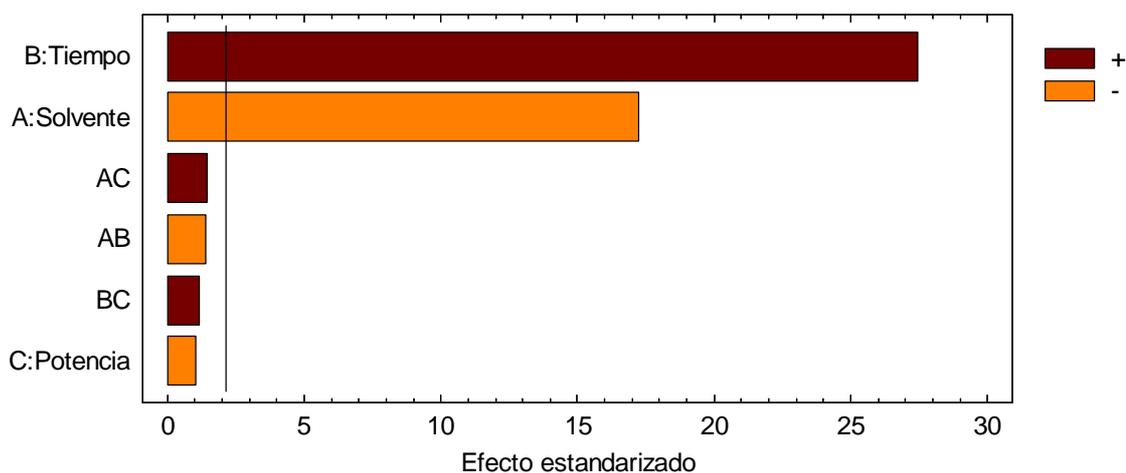
Se realizó un análisis de varianza (Tabla 8) para evaluar la significancia estadística de los factores (potencia, tiempo y solvente) sobre la variable respuesta (fenoles totales), obteniendo que el solvente (A) y el tiempo (B) en los niveles evaluados causan un efecto estadísticamente significativo sobre el contenido de fenoles totales con un p-valor <0.05, por otro lado la potencia (C) no tiene ningún efecto sobre la variable respuesta, así mismo en el gráfico estandarizado de pareto (grafico 4), muestra en orden los factores más significativos sobre el contenido de fenoles totales, siendo el más influyente el tiempo seguido del solvente, de la misma manera muestra como ninguna interacción, ni la potencia son significativos sobre la variable respuesta, esta última se aprecia claramente en el gráfico 3, donde se evidencia como en los tratamientos donde solo se diferencia el nivel de potencia hay una cantidad similar de fenoles totales.

Tabla 8. Análisis de varianza para el contenido de fenoles totales

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>GL</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razon F</i>	<i>P-valor</i>
Efectos principales					
A:Solvente	20.0978	1	20.0978	276.62	0.0000
B:Tiempo	50.8841	1	50.8841	700.34	0.0000
C:Potencia	0.0699768	1	0.0699768	0.96	0.3381
Residuo	1.45312	20	0.0726558		
TOTAL (corregido)	72.505	23			

Fuente. Este estudio

Gráfico 4. Gráfico de pareto para la cuantificación de fenoles con los factores de tiempo, solvente y potencia

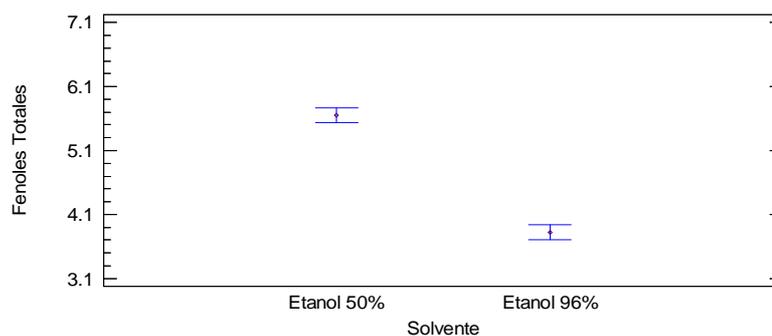


Fuente. Este estudio

Los resultados de la investigación indican que la eficiencia del proceso de extracción, depende del solvente, el tiempo de irradiación de microondas, mientras que el nivel de potencia aplicado, no incide de manera significativa. En estudios se observó que la concentración de solvente y el tiempo influyen significativamente en el contenido total de compuestos fenólicos, mientras que la potencia de microondas, ni cualquier interacción tuvieron algún efecto (Singh *et al.*, 2011). La Potencia en la mayoría de los casos no influye sobre la variable respuesta, pues así sea a altos o bajos valores de esta en lo único que diferencia es en el aumento de la temperatura generada por las microondas, a mayores valores de potencia hay un calentamiento súbito del solvente y debido a que la temperatura es una variable que siempre se debe controlar, la potencia no tiene

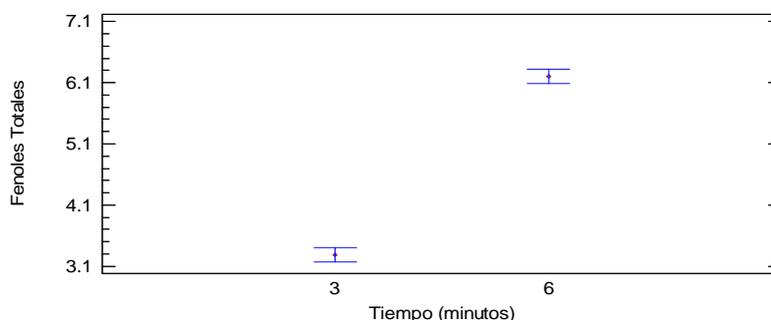
mayor incidencia sobre la variable respuesta (Wang *et al.*, 2006). En su mayoría los estudios muestran que a pesar de la no significancia de la potencia sobre la variable respuesta es recomendable tomar el valor mas bajo para que el calentamiento por microondas no se presente de manera subita y desnaturalice los compuestos de interes (Wang *et al.*, 2006; Singh *et al.*, 2011; Balasundram *et al.*, 2006). Para determinar como influyen los niveles de los diferentes factores en el contenido de fenoles totales de los extractos de la cascara de papa, fue necesario realizar una prueba de la minima diferencia significativa (grafico 5 y 6), se encontro que tanto para el solvente como para el tiempo existe una diferencia significativa entre los dos niveles evaluados para cada factor, obteniendo la mayor cantidad de fenoles totales con los niveles de Etanol hidratado (50%) para solvente y 6 minutos para tiempo.

Gráfico 5. Gráfico de medias de LSD de Fisher para el contenido de fenoles totales en relación al solvente



Fuente. Este estudio

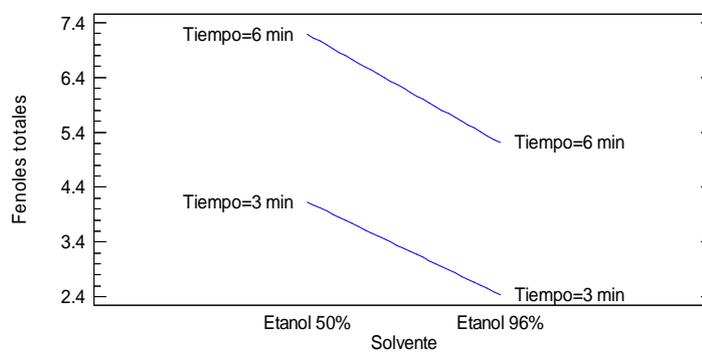
Gráfico 6. Gráfico de medias de LSD de Fisher para el contenido de fenoles totales en relación al tiempo



Fuente. Este estudio

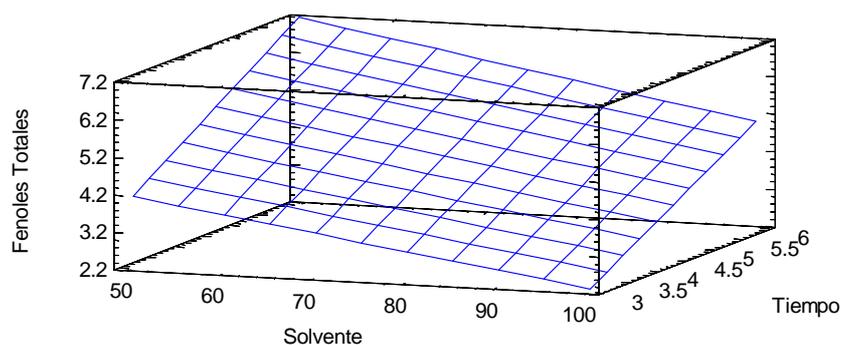
La interacción entre los dos factores evaluados frente al contenido de fenoles totales se puede observar en el gráfico 7, en donde el mayor contenido de fenoles totales se obtuvo cuando el etanol está mezclado con agua en un 50% y con un tiempo de 6 minutos, lo cual también se evidencia en el gráfico 8, en donde se aprecia que en el factor tiempo hay un comportamiento creciente sobre la variable de respuesta cuando se pasa del nivel más bajo hasta el más alto, mientras con el solvente sucede lo contrario es decir tiene un comportamiento decreciente, se obtienen valores más altos de fenoles totales con el nivel más bajo evaluado.

Gráfico 7. Gráfico de interacciones para el contenido de fenoles totales teniendo en función del tiempo y solvente



Fuente: este estudio

Gráfico 8. Superficie de respuesta estimada para fenoles totales



Fuente. Este estudio

Li *et al.*, (2012) reportan que la concentración de etanol como solvente incide de una manera inversamente proporcional a la variable respuesta, es decir que a mayor concentración de etanol menores resultados de fenoles totales se obtienen, sin embargo existe un punto óptimo para la concentración etanol agua que va desde un 35% a 65% en el cual la extracción alcanza un valor máximo (Pavlović *et*

al., 2013). Esto puede deberse a que el etanol al ser un solvente polar puede extraer todos los compuestos afines a este; a medida que aumenta la concentración de etanol, cambia la polaridad del solvente, lo que extrae más impurezas que resulta en un rendimiento bajo de los ácidos fenólicos. También el aumento de la resistencia a la difusión debido a la coagulación de las proteínas puede resultar en un bajo valor de extracción (Li *et al.*, 2012). Por otro lado, la presencia de una cantidad de agua adecuada en un disolvente podría facilitar un aumento en los rendimientos de extracción ya que el agua gracias a su tensión superficial es útil para generar una hinchazón de los tejidos del material utilizado, lo cual es favorable para aumentar el área de superficie de contacto entre la matriz vegetal y el solvente, dando como resultado aumento del rendimiento de extracción (Huang *et al.*, 2009). Algunos investigadores han observado que el agua extrae selectivamente polifenoles y melanoidinas de bajo peso molecular a partir de materiales de plantas, mientras que el etanol precipita melanoidinas de alto peso molecular y luego estos compuestos, junto con los compuestos fenólicos delimitadas por estos, no se pueden extraer (Bravo *et al.*, 2013). Melanoidinas de bajo peso molecular tienen más compuestos fenólicos asociados a su núcleo que las melanoidinas de alto peso molecular (Pavlović *et al.*, 2013).

El punto óptimo que logra una mayor extracción de fenoles totales lo muestra la tabla 9, en la cual muestra los factores en los niveles en los que se presentaron mejores resultados. Es así como se alcanza el punto óptimo con etanol al 50%, tiempo de 6 minutos y la potencia de 300 W, lo cual corresponde a la corrida 6 (ver Tabla 7).

Tabla 9. Respuesta óptima para el contenido de fenoles totales en función de tiempo, solvente y potencia

Factor	Bajo	alto	Optimo
Solvente	Etanol 50%	Etanol 96%	Etanol 50%
Tiempo	3 min	6 min	6 min
Potencia	300 W	600 W	300 W

Meta: Maximizar Fenoles Totales

Valor Optimo = 6.876 g AGE/g de cáscara de papa seca

Fuente. Este estudio

6.1.2 Determinación de la actividad antioxidante. En la tabla 10 se consignan los resultados obtenidos de la cuantificación de la actividad antioxidante de los extractos evaluados registrada como TEAC (mmol de trolox/ g de cascara seca).

Lo resultados muestran que hay diferencia significativa entre las diferentes corridas, obteniéndose los mayores valores de actividad antioxidante (0,09837 mmol de trolox/ g de cascara seca y 0,09818 mmol de trolox/ g de cascara seca), con las corridas 6 y 8, las cuales tuvieron como condiciones de extracción tiempos de 6 minutos, con etanol hidratado al 50% y potencia de 300 W y de 600 W respectivamente, cabe destacar que esto coincide con las corridas en las cuales se obtuvieron los mejores valores de fenoles totales (ver literal 6.1.1), entre las cuales no hubo diferencia significativa al igual que los resultados obtenidos en esta parte de la experimentación.

En el Grafico 9 se aprecia con más claridad los dos mejores resultados de actividad antioxidante se obtienen con Etanol hidratado (50%), tiempo de 6 minutos y potencia tanto de 300 W como de 600 W, con lo que se puede predecir que la potencia no influye en la extracción y lo cual se evidencia en la Tabla 11 y gráfico 10, esto coincide con la determinación de fenoles totales de la sección anterior (Literal 6.1.1.).

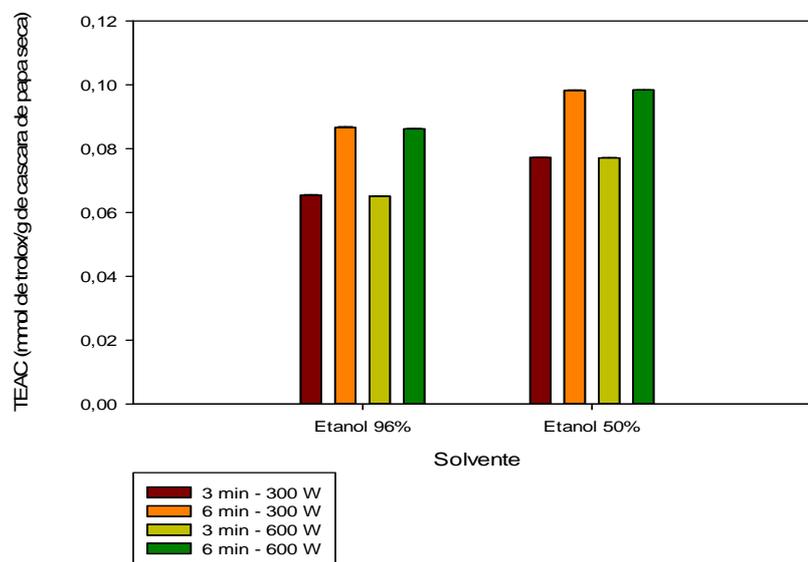
Tabla 10. Actividad antioxidante de extractos de papa

Corridas	Factores			Respuesta
	Solvente*	Tiempo (min)	Potencia (W)	TEAC (mmol de trolox/g de Cascara seca)
1	Etanol	3	300	0,06542±0,0002 ^d
2	Etanol	6	300	0,08655±0,0003 ^b
3	Etanol	3	600	0,06509±8,66E-05 ^d
4	Etanol	6	600	0,08626±8,08E-05 ^b
5	Etanol 50%	3	300	0,0772±8,66E-05 ^c
6	Etanol 50%	6	300	0,09818±0,0002^a
7	Etanol 50%	3	600	0,07711±8,08E-05 ^c
8	Etanol 50%	6	600	0,09837±8,08E-05^a

Nota: La respuesta es la media de tres replicas ±DE, resultados con letras diferentes (a,b c y d) indican diferencias estadísticamente significativas en un nivel de 5%.

Fuente: este estudio

Gráfico 9. Total de actividad antioxidante para los extractos de papa evaluados



Fuente: este estudio

En la tabla 11 se puede observar el análisis de varianza (ANOVA), para la actividad antioxidante, de esta manera se observa que los factores evaluados: Tipo de solvente (A) y tiempo empleado para la extracción (B), además de la interacción de estos dos factores tipo de solvente-tiempo de extracción, (AB), causan un efecto estadísticamente significativo sobre la actividad antioxidante, pues su p-valor es menor a 0,05; por lo cual son considerados como los factores más influyentes en el proceso, con un intervalo de confianza del 95%.

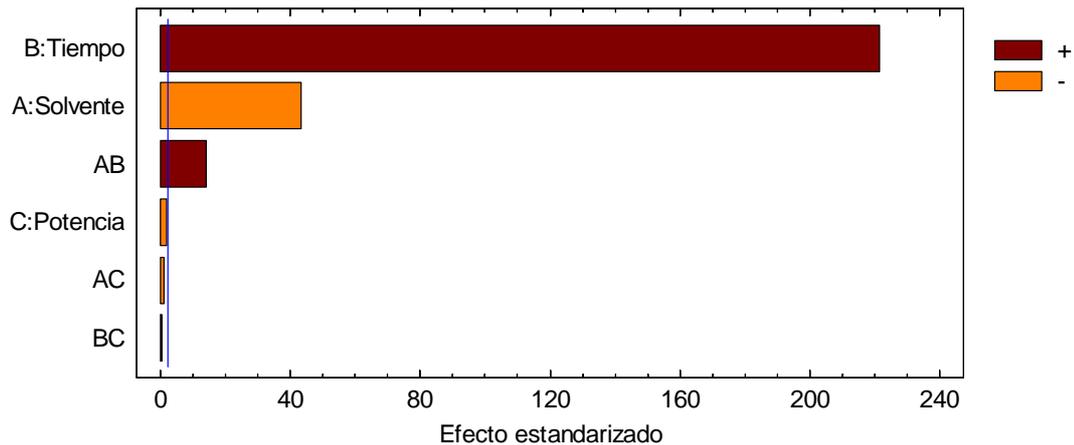
Tabla 11. Análisis de varianza para actividad antioxidante (TEAC)

Fuente	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	Razón-F	p-valor
A: Potencia	2,56343E-7	1	2,56343E-7	0,37	0,5498
B: Solvente	0,000118344	1	0,000118344	170,84	0,0000
C: Tiempo	0,0030855	1	0,0030855	4454,26	0,0000
Residuos	0,0000138542	20	6,92708E-7		
Total corregido	0,00321795	23			

Fuente: Este estudio

En el gráfico 10 se puede observar que los factores que más relevancia tienen en la actividad antioxidante son el tiempo de extracción y el tipo de solvente utilizados.

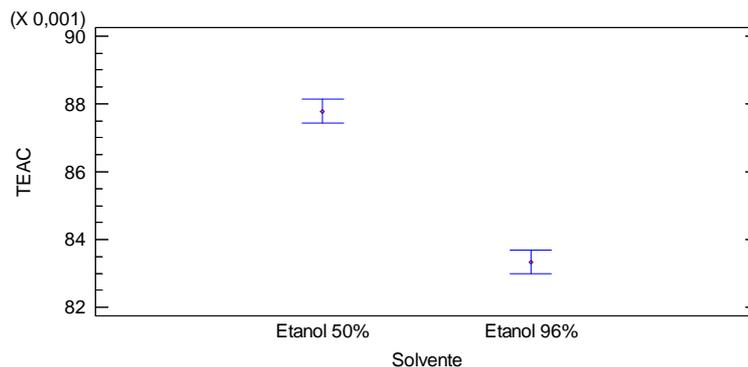
Gráfico 10. Gráfico de pareto para la actividad antioxidante (TEAC)



Fuente: Este estudio

Con relación al tipo de solvente (Gráfico 11), se puede observar que se presenta una diferencia estadísticamente significativa con relación a los dos solventes empleados y que se obtiene una mayor actividad antioxidante expresada como TEAC cuando se emplea etanol a una concentración de 50% como solvente para la extracción.

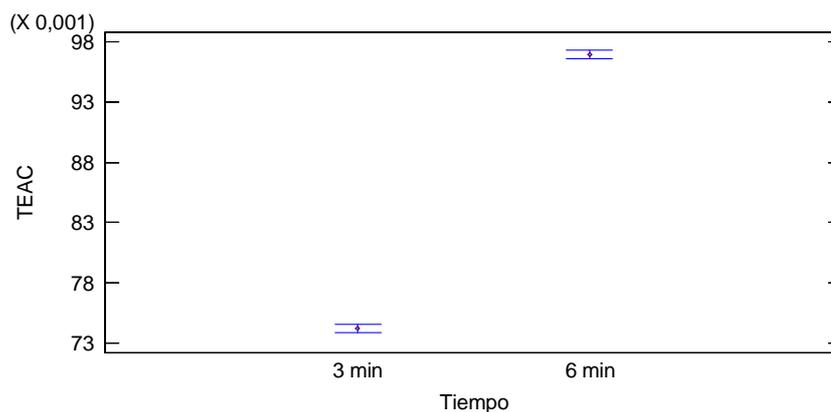
Gráfico 11. Gráfico de medias de LSD de Fisher para la actividad antioxidante (TEAC) con relación al tipo de solvente



Fuente: Este estudio

Con relación al tiempo de extracción (Gráfico 12), se puede observar que se presenta una diferencia estadísticamente significativa con relación a los dos tiempos empleados y que se obtiene una mayor actividad antioxidante expresada como TEAC cuando se emplea un tiempo de extracción de 6 minutos.

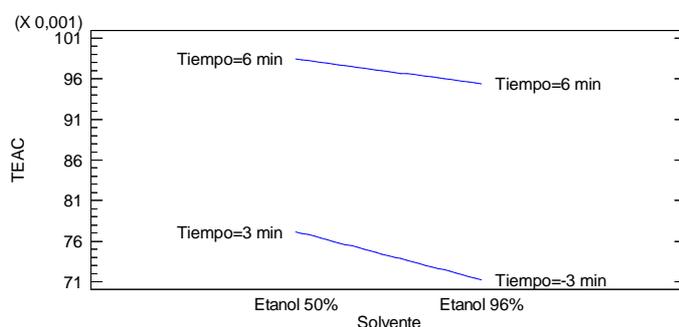
Gráfico 12. Gráfico de medias de LSD de Fisher para la actividad antioxidante (TEAC) con relación al tiempo



Fuente: Este estudio

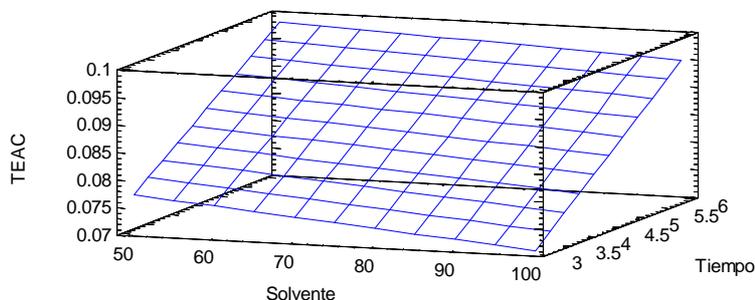
En el gráfico 13 se puede observar la interacción de los dos factores evaluados frente a la actividad antioxidante expresada como TEAC, en donde el mayor valor se obtuvo al emplear como solvente etanol al 50% y tiempo de 6 minutos en el microondas para la extracción, de igual manera la pendiente de la línea inferior nos indica que el menor valor de extracción de actividad antioxidante se obtuvo con etanol 96% como solvente y tiempo de 3 minutos.

Gráfico 13. Gráfico de interacciones para la actividad antioxidante (TEAC)



Fuente: Este estudio

Gráfico 14. Gráfico de superficie de respuesta para Actividad Antioxidante en TEAC



Fuente: Este estudio

Tabla 12. Respuesta óptima para el contenido de actividad antioxidante en función de tiempo, solvente y potencia

Factor	Bajo	alto	Optimo
Solvente	Etanol 50%	Etanol 96%	Etanol 50%
Tiempo	3 min	6 min	6 min
Potencia	300 W	600 W	300 W

Meta: Maximizar actividad antioxidante

Valor Optimo = 0,0984 TEAC (mmol de trolox/g de cáscara de papa seca)

Fuente: Este estudio

Los resultados obtenidos se ven afectados por la polaridad de los solventes empleados, la combinación de las polaridades de agua y etanol hacen que la energía electromagnética se convierta en energía cinética que posteriormente se pierde en calor por fricción de las moléculas. Lo anterior permite una mayor liberación de los compuestos fenólicos y por ende de su actividad antioxidante (Martínez *et al.*, 2010)

(Weshahy & Rao 2009) en su investigación reportan resultados en el rango de 0.28 a 0.55 mmol de trolox/ g de cáscara de papa seca, para seis variedades de papa, las diferencias en la actividad antioxidante reportada son debido a la variedad de papa las cuales manifiestan poseer grandes contenidos de antiocianinas.

La actividad antioxidante es dependiente de la concentración del extracto (Kim *et al.*, 2002), a pesar de esto los valores actividad antioxidante pueden depender del tiempo escogido para efectuar la medida. La absorbancia medida por el método ABTS se determinada a los 1 y 7 minutos; los resultados obtenidos por algunos investigadores indican que la reacción con el radical ABTS•+ no se completa hasta pasado 1 minuto, y según García *et al.*, (2000) el tiempo de 4 minutos es el más apropiado. No obstante, Sellapan *et al.*, (2002) sugieren tiempos de medida de 6 minutos para los patrones de referencia y de 7 minutos para los compuestos puros, extractos de plantas o de alimentos.

Por su parte Kowalczewski *et al* (2012) reporta para el jugo de papa una actividad antioxidante de 0.070 mmol de trolox/g de muestra seca, similar a la encontrada para el extracto PM con una actividad antioxidante de 0.0796 070 mmol de trolox/g de cáscara de papa seca

(Jimenez & Villarreal 2008) para la evaluación del contenido de compuestos con actividad antioxidante en frutos de motilón, reportan que la mayor actividad antioxidante en extractos MPX (extracto de pulpa rico en antocianinas) fue de 1,734 mmol de trolox/g de extracto y un contenido fenólico de 3895,385 mg de ácido gálico/100 mg de extracto. Estos resultados aunque superiores a los de los extractos de cáscaras de papa presentan un comportamiento similar en cuanto la relación fenoles/TEAC, debido a que los procedimientos realizados para la cuantificación de antioxidante fue realizada de acuerdo a la metodología de los autores.

6.2 EFECTO DEL TAMAÑO DE PARTICULA Y EL TIEMPO SOBRE EL CONTENIDO DE FENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.

Teniendo en cuenta la respuesta óptima obtenida, se decidió trabajar con diferentes tamaños de partícula y tiempos para evaluar la influencia de estos factores en la extracción de compuestos antioxidantes. A pesar que el tiempo es un factor que ya ha sido evaluado, aun no queda claro el comportamiento de la extracción de los compuestos fenólicos a medida que se aumenta el tiempo, pues anteriormente solo se trabajó con dos niveles, es así como en esta parte de la experimentación se trabajó con 3 niveles de tiempo (3, 6 y 9 minutos) y 3 niveles para el tamaño de partícula. Para el tamaño de partícula se trabajó con los tamices 40, 60 y 80 de la serie ASTM, correspondiente a los tamaños medios de partícula de 0.508mm, 0.335mm y 0.214mm respectivamente, de esta manera la experimentación se realizó de acuerdo a la combinación de los diferentes niveles de los dos factores evaluados de la matriz de diseño experimental propuesta en la metodología (Tabla 4).

6.2.1 Determinación de fenoles totales. La tabla 13 muestra la cantidad de fenoles totales de cada ensayo realizado con los factores evaluados (tiempo y tamaño de partícula), utilizando etanol al 50% como solvente y potencia de 300 W.

Los diferentes superíndices con las letras a, b, c y d en los resultados de Fenoles totales indican que existe diferencia significativa entre algunas corridas experimentales, obteniéndose los mejores resultados de fenoles totales con las corridas 4 y 7, entre las cuales no hubo diferencia significativa, lo cual se evidencia en los valores cercanos que toma la variable respuesta con estas corridas (7.632 mg de AGE/g de cáscara seca y 7.63 mg de AGE/g de cáscara seca). En el gráfico 15 se observa con más facilidad que los mejores resultados de fenoles totales se obtienen con los niveles de 0.508 mm para tamaño de partícula y tanto 6 como 9 minutos para el factor tiempo; niveles que corresponden a las corridas 4 y 7 respectivamente.

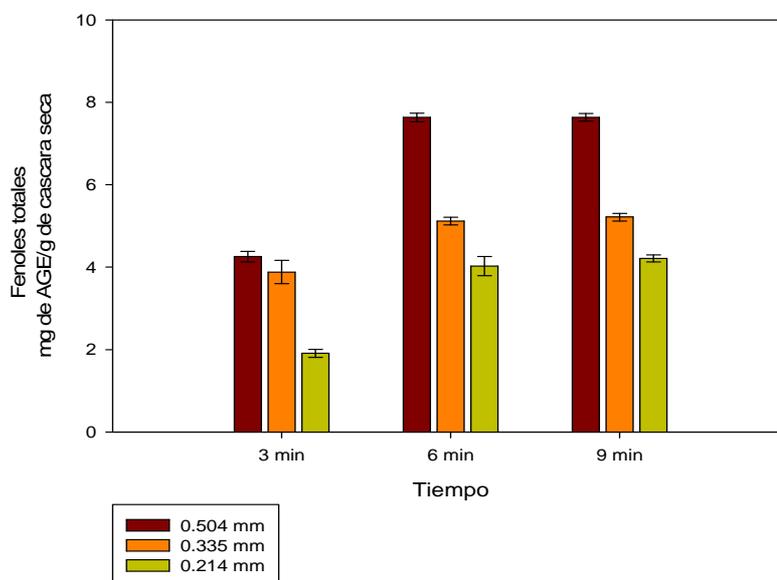
Tabla 13. Contenido de fenoles totales para los extractos de cascara de papa

Corridas	FACTORES		RESPUESTA
	Tiempo (minutos)	Tamaño de partícula (mm)	Fenoles totales (mg de AGE/g de cascara seca) (±DE)
1	3	0.508	4.653±0.130 ^b
2	3	0.335	2.862±0.280 ^c
3	3	0.214	1.067±0.094 ^d
4	6	0.508	7.630±0.102^a
5	6	0.335	4.941±0.09 ^b
6	6	0.214	2.883±0.232 ^c
7	9	0.508	7.632±0.096^a
8	9	0.335	4.931±0.092 ^b
9	9	0.214	2.9606±0.087 ^c

Nota: La respuesta es la media de tres replicas ± DE, resultados con letras diferentes (a,b c y d) indican diferencias estadísticamente significativas en un nivel de 5%.

Fuente: este estudio

Gráfico 15. Contenido de fenoles totales de los extractos evaluados con respecto al tiempo y tamaño de partícula



Fuente: este estudio

Para evaluar la significancia estadística de los factores en la experimentación se realizó un análisis de varianza (tabla 14) con un nivel de confianza del 95% y con valor-P encontrado de 0.9185, se puede establecer que el modelo empleado, es adecuado para describir los datos de fenoles totales encontrados. Encontrando que los factores que presentaron un efecto estadísticamente significativo ($P < 0.05$) fueron: Tamaño de partícula (B), tiempo (A), interacción tiempo-tiempo (AA) y la interacción Tiempo-Tamaño de partícula (AB), la interacción tamaño de partícula-tamaño de partícula no tuvo (BB) efecto significativo sobre la variable respuesta.

Tabla 14. Análisis de varianza papa Contenido de Fenoles totales

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>GL</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razon F</i>	<i>P-Valor</i>
A:Tiempo	11.8138	1	11.8138	437.91	0.0000
B:Tamaño de partícula	14.9403	1	14.9403	553.80	0.0000
AA	7.7044	1	7.7044	285.58	0.0000
AB	0.94539	1	0.94539	35.04	0.0000
BB	0.148836	1	0.148836	5.52	0.0298
bloques	0.000636222	2	0.000318111	0.01	0.9883
Error Total	0.512576	19	0.0269777		
Total	118.117	26			

(correlación)

Fuente. Este estudio

R-cuadrado = 95.566%

R-cuadrado (ajustado por GL) = 95.4627%

Estadístico Durbin-Watson = 2.79299 (P=0.9185)

Autocorrelación residual de Lag 1 = -0.410452

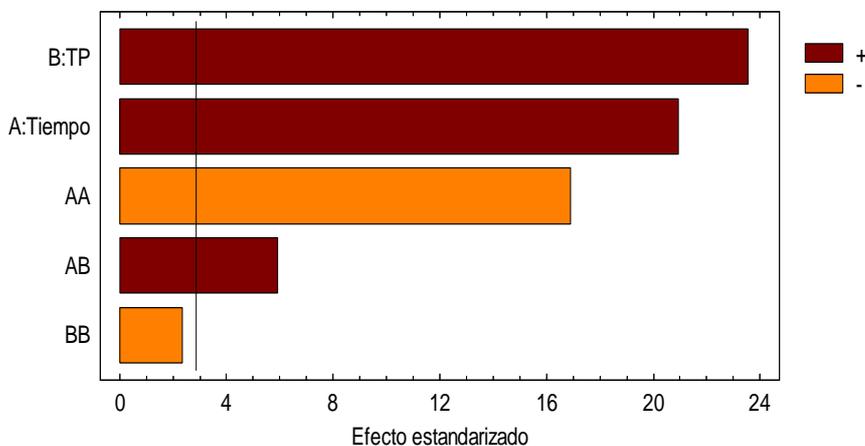
El R-cuadrado de 95.566% indica que el diseño tiene un buen ajuste y explica en este porcentaje la variabilidad del contenido de fenoles totales, es decir que se puede hacer análisis confiable sobre los valores implicados en la variable respuesta. Por otro lado el Valor-p encontrado es mayor al 5% por lo tanto la experimentación realizada aleatoriamente fue adecuada y por ello no hay una autocorrelación serial en los residuos de los datos

El siguiente modelo matemático se encontró para estimar el contenido de fenoles totales en función del tiempo, tamaño de partícula y sus interacciones:

Fenoles Totales = $-6.42645 + 1.67356 \cdot \text{Tiempo} + 16.4045 \cdot \text{Tamaño de Partícula} - 0.125907 \cdot \text{Tiempo}^2 + 0.633175 \cdot \text{Tiempo} \cdot \text{Tamaño de Partícula}$.

Con esta ecuación se puede modelar posteriores experimentaciones con las mismas condiciones trabajadas, es decir con los niveles establecidos de los factores estudiados en la presente investigación.

Gráfico 16. Diagrama de Pareto estandarizado para contenido de fenoles totales con los factores tiempo y tamaño de partícula

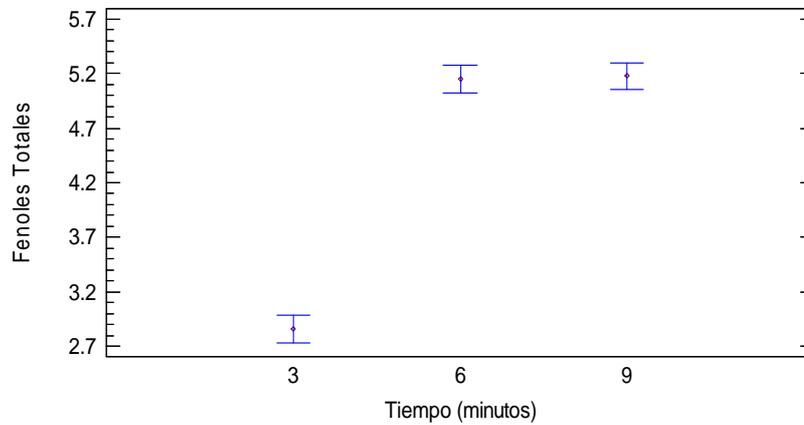


Fuente. Este estudio

El gráfico 16 muestra el diagrama de Pareto estandarizado, en el cual se observa en orden, los factores más influyentes sobre la variable respuesta, la línea vertical del diagrama indica el nivel de confianza determinado en el análisis de varianza (95%) siendo significativos los factores que sobrepasen esta línea para el proceso de extracción de fenoles, es así como los factores más influyentes en orden son tamaño de partícula (B) y tiempo (A), los dos con efecto positivo (+), por lo cual se podría decir que son directamente proporcionales al contenido de fenoles totales, es decir la variable de respuesta aumenta a medida que aumenta el tamaño de partícula y el tiempo de extracción bajo los niveles evaluados, sin embargo para que esta afirmación sea válida es necesario observar el comportamiento de cada factor sobre la variable respuesta. Para conocer el efecto de los niveles de cada factor, se realizó el análisis de diferencias mínimas, en el gráfico 17 se observa que hay una diferencia significativa entre los niveles 3 y 6 minutos, sin embargo no hay diferencia entre los niveles 6 y 9, tiempos en los cuales se obtuvo mayor contenido de fenoles totales. El gráfico 18 muestra que hay diferencia significativa entre los tres niveles de Tamaño de partícula, siendo 0.508mm el nivel en el cual hay mayores rendimientos de extracción de fenoles totales, por ende, teniendo en cuenta lo anterior es posible afirmar que a medida que aumenta el tamaño de partícula aumenta el contenido de fenoles totales, sin embargo con respecto al tiempo no se puede realizar esta afirmación, pues no hay diferencia entre dos de los niveles de este factor en donde los fenoles totales tienden a tomar un valor similar.

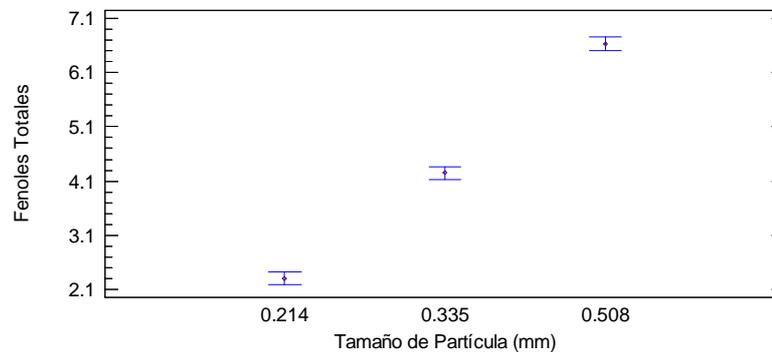
De la misma manera la interacción Tiempo-tamaño de partícula (AB) y Tiempo-tiempo (AA) son significativas sin embargo la primera tiene un efecto positivo (+) y la segunda un efecto negativo(-), lo cual es también reportado en los estudios de Pan *et al.*, (2008).

Gráfico 17. Gráfico de medias para el contenido de fenoles totales con relación al tiempo.



Fuente. Este estudio

Gráfico 18. Gráfico de medias para el contenido de fenoles totales con relación al tamaño de partícula.

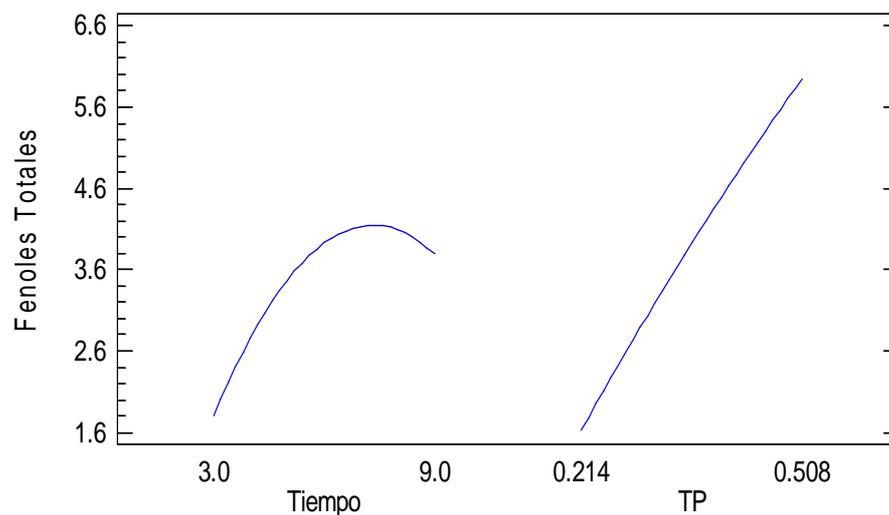


Fuente. Este estudio

El gráfico de efectos principales (gráfico 19), muestra el efecto particular de cada factor sobre la variable respuesta, es así como el Tamaño de partícula tiene una pendiente más pronunciada que la pendiente del factor tiempo, esto indica que un cambio en el primer factor representará un gran aumento o disminución en la extracción de compuestos fenólicos. A pesar que la pendiente del tiempo es similar a la pendiente de tamaño de partícula, muestra al final una curvatura de lo cual y teniendo en cuenta el gráfico 17 se puede predecir que el contenido de fenoles totales de la cascara de papa variedad diacol capiro aumenta a medida que aumenta el tiempo hasta cierto punto en donde los valores de fenoles totales se pueden volver constantes o pueden decrecer. La extracción de antioxidantes depende de diferentes factores entre estos el tamaño de partícula y por supuesto

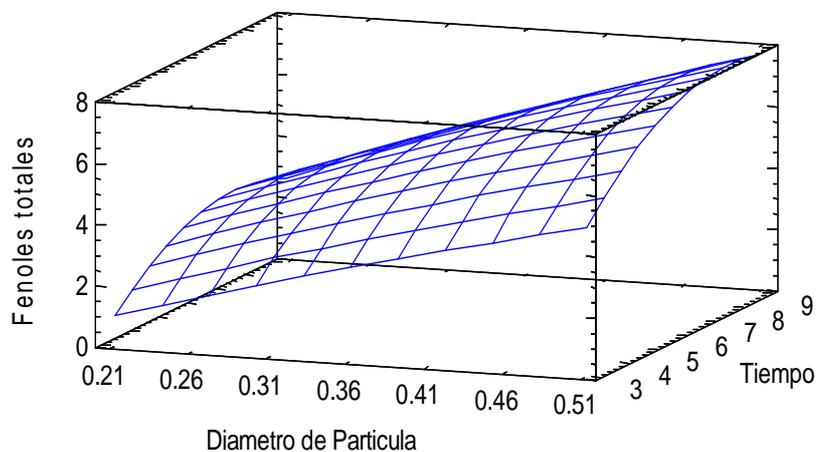
el tiempo, la investigación de Cerón & López (2013), muestran resultados similares en cuanto al primer factor mencionado, siendo al igual que en este estudio el más influyente sobre la variable respuesta y con una significancia positiva, es decir que a mayor tamaño de partícula mayor es la extracción de fenoles totales en el rango evaluado, la interacción de Tiempo-tamaño de partícula, igualmente es significativa y positiva, en el gráfico 20 se observa como estos dos factores a medida que aumentan, aumenta la variable respuesta y sin embargo en cuanto al factor tiempo se da una curvatura al final de los nueve minutos, así como también lo muestra el gráfico 19. Los resultados de la investigación de Cerón & López (2013) también muestran un comportamiento similar, pues la diferencia de la cantidad de fenoles totales a las 20 y 24 horas de extracción, fue mínima.

Gráfico 19. Gráfico de efectos principales para el contenido de fenoles totales



Fuente. Este estudio

Gráfico 20. Superficie de respuesta estimada para fenoles totales teniendo en cuenta tamaño de partícula y tiempo.



Fuente. Este estudio

Comportamiento de contenido de fenoles totales con respecto al tiempo

En la sección anterior se observó como en los niveles de 6 minutos y 9 minutos no hay diferencia significativa es decir que los valores de fenoles totales extraídos en estos tiempos fueron similares (ver Gráfico 15, Gráfico 17 y Gráfico 19), con estos resultados se podría estimar que los valores de fenoles totales se tienden a volver constantes a partir de los 6 minutos, sin embargo aún no se puede aseverar pues no se tienen los suficientes datos para esto. Por eso para determinar el comportamiento de la variable respuesta en un tiempo más largo se realizó un seguimiento minuto a minuto de la extracción de compuestos fenólicos durante 15 minutos. En el grafico 21 se detalla el comportamiento de la variable respuesta con respecto al tiempo de extracción, en la cual se evidencia que los fenoles totales aumentan hasta el minuto 6, en donde los valores se tienden a volver constantes, en la tabla 15 se muestra que existe un aumento desde el minuto uno, y a partir del minuto 6 los valores que toman los fenoles totales se diferencian apenas por centésimas.

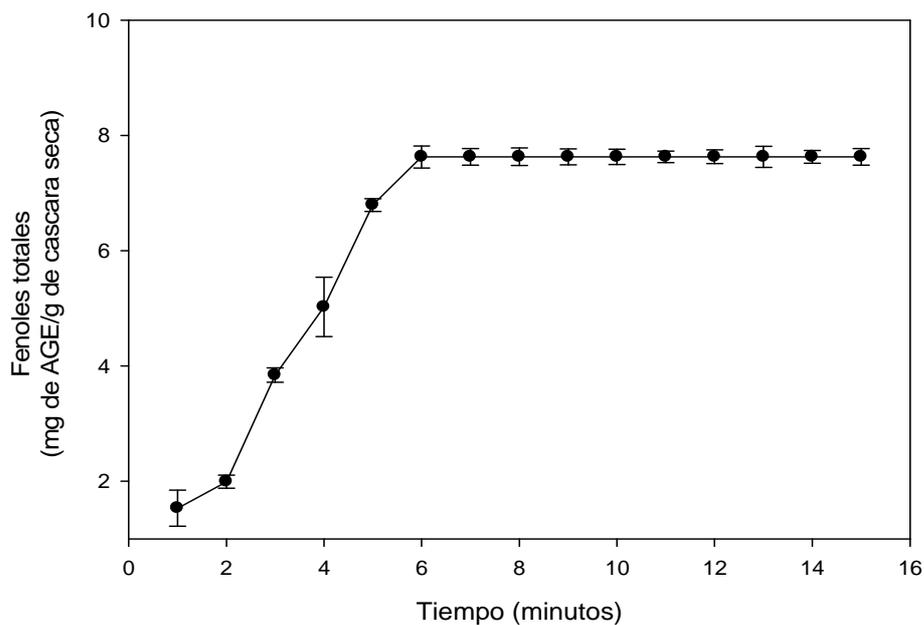
Tabla 15. Comportamiento de fenoles totales de la cascara de papa con respecto al tiempo.

FT ^a		FT		FT	
Minutos	mgAGE/g cascara seca	Minutos	mgAGE/g cascara seca	Minutos	mgAGE/g cascara seca
1	1.532±0.314	6	7.6283±0.1920	11	7.6285±0.0980
2	1.993±0.115	7	7.629±0.1420	12	7.6281±0.1200
3	3.8420±0.1250	8	7.6283±0.1530	13	7.6282±0.1830
4	5.0234±0.5150	9	7.6281±0.1370	14	7.6278±0.111
5	6.7923±0.1110	10	7.6283±0.1320	15	7.6281±0.1420

Nota: los resultados son la media de tres replicas ± DE

Fuente: Esta investigación

Gráfico 21. Comportamiento de Contenido de fenoles totales con respecto al tiempo



Fuente. Este estudio

Estudios realizados revelan que tal como los resultados obtenidos en esta investigación el tiempo tiene un efecto positivo sobre la extracción, mas sin embargo no es un factor directamente proporcional a la variable respuesta (fenoles totales), es así como los compuestos antioxidantes independientemente de la matriz de extracción, muestran un comportamiento común con respecto a la

variable tiempo, en cuyas graficas es posible observar tres fases, siendo la primera un aumento en los fenoles totales, la segunda una fase constante y la tercera una fase de decrecimiento (Pavlović *et al.*, 2013). Esto se puede explicar debido a que en un inicio hay una extracción gradual de antioxidantes hasta el punto en el que se ha extraído todo o la mayoría de compuestos del material vegetal, sin embargo y debido a varios factores como el calentamiento estos compuestos pueden degradarse poco a poco, y por ende los valores de compuestos fenólicos tienden a disminuir (Chen *et al.*, 2009; Hemwimon *et al.*, 2007; Wu *et al.*, 2012; Singh *et al.*, 2011). En el presente estudio solo se presenta la fase inicial la cual se observa desde el minuto 1 al 6, tiempo durante el cual se observa un aumento de fenoles y la segunda fase a partir del minuto 6 durante la cual se observa un comportamiento constante hasta el minuto 15, la tercera fase no se evidencia porque el tiempo de extracción no es lo suficientemente largo para observar este fenómeno.

Tabla 16. Respuesta óptima para el contenido de fenoles totales en función de tiempo y tamaño de partícula.

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Tiempo	3.0	9.0	7.65165
Tamaño de partícula	0.214	0.508	0.508

Meta: Maximizar Fenoles Totales

Valor Óptimo = 7.632 g AGE/g de cáscara de papa seca

Fuente. Este estudio

Teniendo en cuenta los resultados de esta investigación y otras investigaciones ya mencionadas se puede asegurar que un aumento de tiempo podría significar una pérdida de fenoles totales y un gasto innecesario de energía pues los valores son constantes hasta cierto punto, sin embargo las condiciones de extracción dependen de cada producto y proceso, para esta investigación el punto óptimo de extracción (tabla 16) que en este caso resultó de 7.632 g AGE/g de cáscara de papa seca se alcanzó a los 7.65 minutos, con un tamaño de partícula de 0.508 mm, utilizando etanol (50%) como solvente y con una potencia de 300 W.

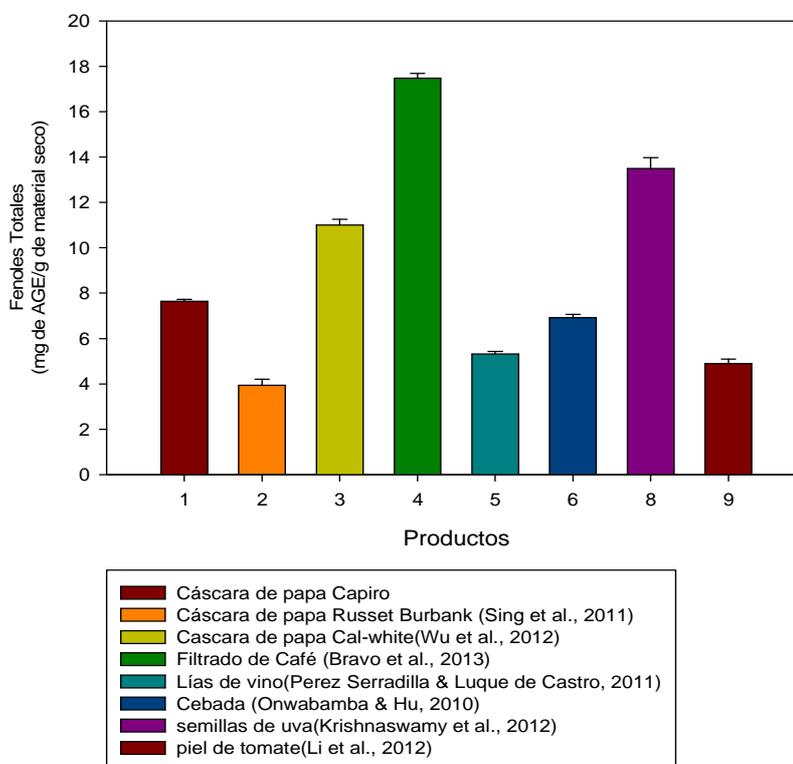
Comparación entre los resultados de fenoles totales de los extractos de cáscara de papa y otras investigaciones

El gráfico 22 muestra el contenido de fenoles totales extraídos con la tecnología de microondas de varios productos, la mayoría de ellos subproductos agroindustriales como la cáscara de la papa. Se observa que el de mayor contenido fenólico es el filtrado de café con un contenido fenólico de 17.48 mg de AGE/g de material seco. Los resultados de Bravo *et al.*, (2013) indican que la extracción de fenoles totales del filtrado de café incrementó con la disminución en la concentración de etanol como también con el tiempo de radiación en el microondas, así el valor máximo obtenido fue con etanol 20% y 40 segundos de tiempo de extracción. Por su parte Krishnaswamy *et al.*, (2012) obtuvo que la mayor extracción de compuestos antioxidantes de semillas de uvas se logra con una potencia de 170 W, 6 min y una concentración de 30% etanol para la obtención de 13,5±0,48 mg AGE/g de peso seco de semillas de uva. Onwabamba & Hu (2010) en su investigación realiza una extracción de polifenoles con alta actividad antioxidante de granos de cebada, las óptimas condiciones encontradas fueron con extracto de acetona, potencia de microondas 600 W y 8,5 min de tiempo de extracción, con un valor de fenoles totales de 6,92 AGE/g extracto.

Pérez-Serradilla & Luque de Castro (2011) aplicando igualmente la tecnología de microondas para la obtención de antioxidantes a partir de lias de vinos encontró que el máximo valor obtenido fue de 5.32 mg AGE/g de materia seca, valor obtenido con un tiempo de extracción de 17 minutos usando 75% de etanol, en este estudio con el método asistido por microondas se obtuvo una mejor eficiencia de extracción en comparación a la técnica de extracción convencional (24 h).

Así mismo en el gráfico 22 se muestran otras variedades de papa y sus contenido fenólicos, siendo la variedad canadiense Cal-White la de mayor contenido de fenoles con 11 mg de AGE/g de cascara seca (Wu *et al.*, 2012) , seguida del resultado producto de esta investigación y por último la variedad americana Russet con 3.94 mg AGE/g de cascara seca (Singh *et al.*, 2011), sin embargo debe tenerse en cuenta las condiciones de extracción para la obtención de cada resultado, en el caso de la cáscara de papa de Cal-white la extracción se realizó en un equipo especializado para extracciones, con el cual se puede controlar factores como temperatura, frecuencia, potencia y presión, factores que pueden afectar o no afectar el contenido de fenoles totales, aun así, comparando los resultados obtenidos con los de otras investigaciones similares, el contenido de fenoles totales de cáscara de papa variedad Diacol-capiro es alta, superando a la cascara de papa variedad Russet Burbank, a las Lías de vino, cebada y piel de tomate.

Gráfico 22. Fenoles totales de los extractos evaluados y otros productos.



Fuente: este estudio

6.2.2 Determinación de actividad antioxidante. La tabla 17 muestra el total de la actividad antioxidante de cada ensayo realizado, utilizando etanol 50% como solvente y la potencia de 300 W. Las mejores corridas fueron la 4 y la 7, las cuales tienen diferencia significativa con respecto a las demás corridas, pero entre estas dos no existe diferencia estadísticamente significativa, lo cual se hace evidente en sus valores aproximados (0,09838 + 0,0001 mM de trolox/g de cascara de papa seca y 0,09863 mM de trolox/g de cáscara de papa seca, respectivamente), esto coincide con la sección anterior (ver Literal 6.2.1), en la cual los mayores valores de fenoles totales también se obtuvieron con las corridas 4 y 7.

En el gráfico 23, se aprecia dos resultados superiores, los cuales corresponden a las corridas 4 y 7, cuyos niveles son tamaño de partícula de 0.508 mm y tiempos de 6 y 9 minutos respectivamente, a pesar que son tiempos diferentes, los resultados son similares, por lo cual es necesario realizar más pruebas para explicar dicho comportamiento.

Tabla 17. Contenido de actividad antioxidante para los extractos de cascara de papa

Corridas	FACTORES		RESPUESTA
	Tiempo (minutos)	Tamaño de partícula (mm)	Actividad antioxidante (mmol de Trolox/g de cascara de papa seca) (±DE)
1	3	0.508	0,0808 + 0,0004359 ^b
2	3	0.335	0,06743 + 0,000105 ^c
3	3	0.214	0,05413 + 0,001 ^d
4	6	0.508	0,09838 + 0,0001^a
5	6	0.335	0,085 + 0,00036 ^b
6	6	0.214	0,06832 + 9,50438E-05 ^c
7	9	0.508	0,09863 + 0,0002^a
8	9	0.335	0,08467 + 0,0002 ^b
9	9	0.214	0,06939 + 0,00021 ^c

Nota: los resultados son la media de tres réplicas ±DE, resultados con letras diferentes (a,b c y d) indican diferencias estadísticamente significativas en un nivel de 5%.

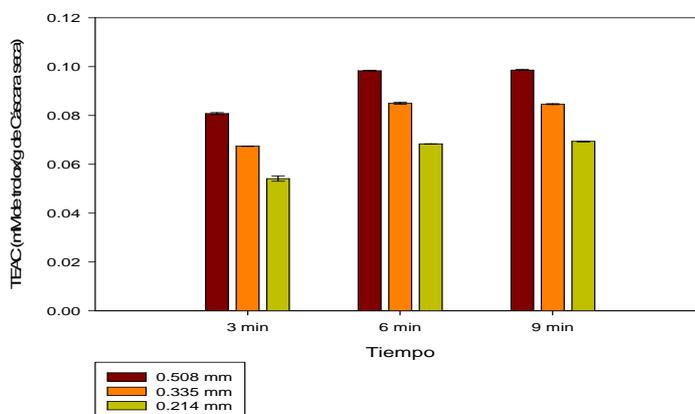
Fuente: este estudio

El análisis de varianza (Tabla 18) para la actividad antioxidantes expresada como TEAC indica que los factores tamaño de partícula (A) y tiempo (B) presentaron un efecto estadísticamente significativo ($P < 0,05$) sobre la actividad antioxidante, Las interacciones mostraron efectos significativos sobre la variable respuesta en los niveles evaluados, con un nivel de confianza del 95%.

El estadístico R-cuadrado indica que el modelo explica en un 99,8081% la variabilidad de la actividad antioxidante. Con lo cual se puede deducir que el diseño cuenta con un buen ajuste, permitiendo hacer un análisis confiable sobre la variable implicada.

El p-valor encontrado para el estadístico Durbin-Watson (0,9280), es mayor que 5.0%, lo que indica que no hay indicación de autocorrelación, se puede establecer que el modelo empleado, es adecuado para describir los datos de actividad antioxidante encontrados con un 95% de nivel de confianza.

Gráfico 23. Actividad antioxidante en TEAC para los extractos evaluados



Fuente: Este estudio

Tabla 18. Análisis de varianza para la actividad antioxidante expresada en TEAC

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>G.L.</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>p-valor</i>
A:Tiempo	0,00127116	1	0,00127116	2343,87	0,0000
B:Tamaño de partícula	0,00369513	1	0,00369513	6813,38	0,0000
AA	0,00038978	1	0,00038978	718,71	0,0000
AB	4,6079E-06	1	4,6079E-06	8,5	0,0089
BB	6,4177E-05	1	6,4177E-05	118,33	0,0000
Residuos	3,21E-07	2	1,60E-07	0,3	0,7475
Total error	1,0304E-05	19	5,42E-07		
Total (corr.)	0,00537028	26			

R-cuadrada = 99,8081 %

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 99,7624 %

Estadístico Durbin-Watson = 2,81709 (P=0,9280)

Autocorrelación residual de Lag 1 = -0,51539

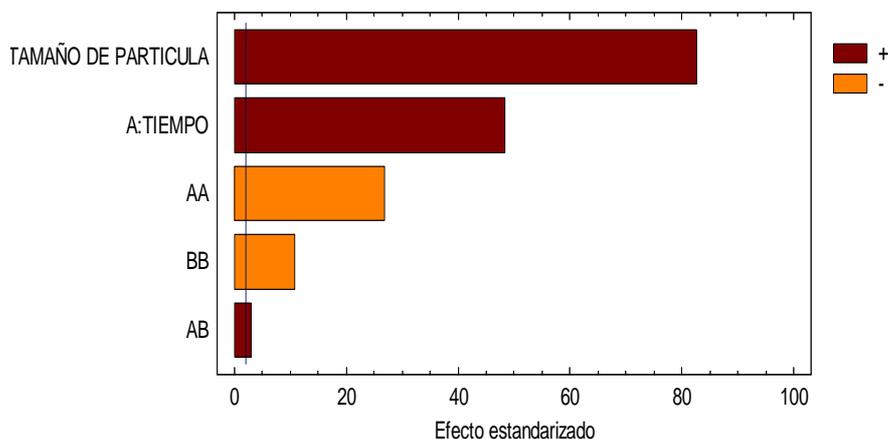
Fuente: Este estudio

El siguiente modelo matemático se encontró para predecir la actividad antioxidante en función del tiempo, tamaño de partícula y sus interacciones:

$$\text{TEAC} = -0.0146705 + 0.0130504 \cdot \text{Tiempo} + 0.20247 \cdot \text{Tamaño de Partícula} - 0.000895556 \cdot \text{Tiempo}^2 + 0.00139788 \cdot \text{Tiempo} \cdot \text{Tamaño Partícula} - 0.157049 \cdot \text{Tamaño Partícula}^2$$

En el gráfico 24 se observa el diagrama de Pareto estandarizado, el cual muestra los factores e interacciones más significativos con relación a la actividad antioxidante, se puede observar que los factores tamaño de partícula y el tiempo, así como su interacción (tamaño de partícula-tiempo) ejercen un efecto positivo (+) es decir el aumento en el valor de estos factores (tamaño de partícula y tiempo de extracción) permite un aumento de su actividad antioxidante, sin embargo se observó una interacción negativa entre tiempo-tiempo, al igual que en el contenido de fenoles totales (grafico 16) en donde se obtiene el mismo resultado; esto quiere decir que si bien en una primera instancia el aumentar el tiempo de extracción favorece el aumento en la actividad antioxidante, llega un punto en donde los valores de actividad antioxidante tienden a ser constantes y consecuentemente empiezan a decrecer, por lo que se deduce que tiempos demasiados largos de extracción hacen perder la actividad antioxidante del extracto.

Gráfico 24. Gráfico de Pareto estandarizado para la actividad antioxidante expresada en TEAC

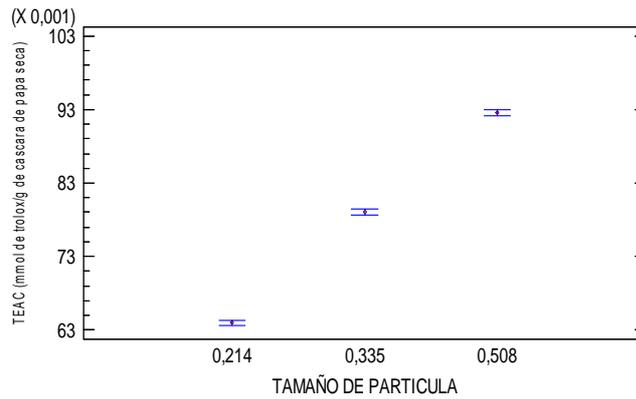


Fuente: Este estudio

Como la tabla ANOVA y el gráfico de Pareto indicaron que el tamaño de partícula y el tiempo ejercen una influencia estadísticamente significativa en la actividad antioxidante, se determinó la diferencia que existe entre los niveles evaluados

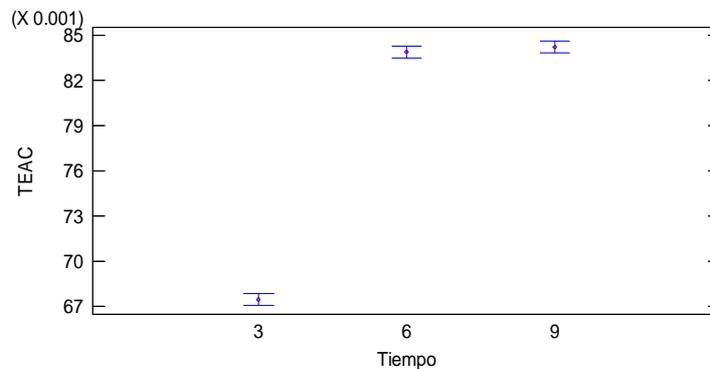
para este factor lo que se indica el gráfico 25, en donde se puede establecer que los tres niveles evaluados presentan diferencias estadísticamente significativas con relación la actividad antioxidante, presentándose una mayor extracción cuando se trabaja a un tamaño de partícula de 0.508 mm.

Gráfico 25 Gráfico de medias para la actividad antioxidante en TEAC con relación al tamaño de partícula.



Fuente: Este estudio

Gráfico 26. Gráfico de medias para la actividad antioxidante TEAC con relación al tiempo

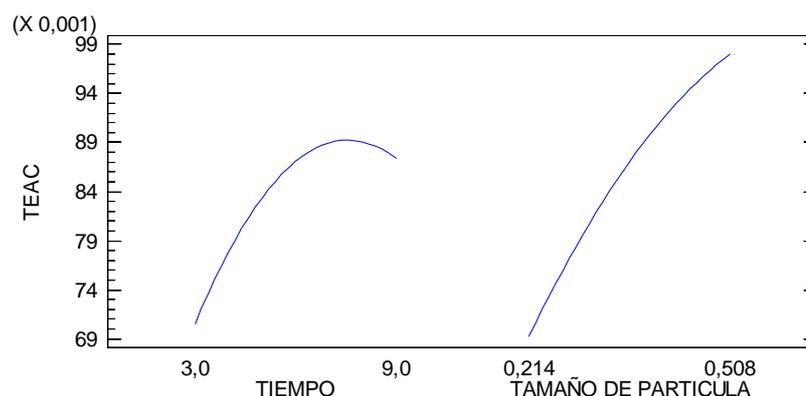


Fuente: este estudio

El gráfico 26 muestra que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los niveles 6 y 9, es decir que los resultados de actividad antioxidante fueron similares en estos puntos. El efecto principal de cada uno de los factores en estudio sobre la variable de respuesta actividad antioxidante expresada en TEAC, puede observarse con mayor claridad en la Gráfico 26, de esta manera, el factor tamaño de partícula presenta una pendiente más pronunciada que el factor tiempo; esto indica que un pequeño cambio en el factor tamaño de partícula puede

representar un gran aumento o disminución en la actividad antioxidante (TEAC), de igual manera se ratifica que al aumentar el tiempo de extracción en primera instancia hay un aumento de la actividad antioxidante, sin embargo el declive en la pendiente de la gráfica 26 indica que en tiempos prolongados hay un decrecimiento de la actividad antioxidante de los extractos.

Gráfico 27. Gráfico de efectos principales de actividad antioxidante en TEAC



Fuente: Este estudio

Comportamiento de la actividad antioxidante con respecto al tiempo

Se observó el comportamiento de la actividad antioxidante (TEAC) a medida que aumenta el tiempo de extracción, se siguió los valores que toma la variable respuesta minuto a minuto hasta los 15 minutos. Se tomaron los niveles de los factores estudiados, tamaño de partícula 0,508 mm, etanol 50% como solvente y potencia de 300W.

Tabla 19. Comportamiento de la actividad antioxidante de extractos de la cáscara de papa con respecto al tiempo.

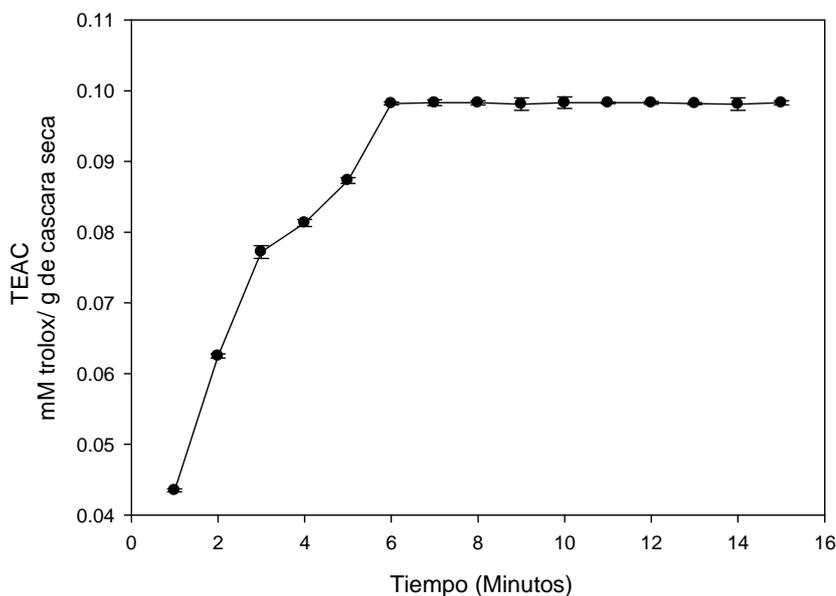
Minutos	TEAC ^a	Minutos	TEAC	Minutos	TEAC
1	0.0435±0.0002	6	0.0982±0.0002	11	0.0983±0.001
2	0.0625±0.0003	7	0.0983±0.0004	12	0.0983±0.0002
3	0.0772±0.0009	8	0.0983±0.0134	13	0.0982±0.0014
4	0.0813±0.0008	9	0.0981±0.00009	14	0.0981±0.0009
5	0.0873±0.10483	10	0.0983±0.0008	15	0.0983±0.0003

a: Actividad antioxidante (mmol de trolox/g de cascara de papa seca)

Nota: los resultados son la media de tres réplicas ±DE

Fuente: Este estudio

Gráfico 28 Comportamiento de actividad antioxidante TEAC con respecto al tiempo



Fuente: Este estudio

Como se observa en las grafica la actividad antioxidante de los extractos aumenta con el tiempo de contacto en el microondas sin embargo llega un punto en donde la actividad antioxidante expresada como TEAC (mmol de trolox/g de cáscara de papa seca) toma valores muy cercanos dándose una tendencia constante, estudios similares reportan que la extracción de los antioxidantes pasando un determinado tiempo se mantiene constante.

Tabla 20. Respuesta óptima para la actividad antioxidante en función de tiempo y tamaño de partícula.

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Optimo</i>
Tiempo	3.0	9.0	7.68186
Tamaño de partícula	0.214	0.508	0.508

Meta: Maximizar Actividad Antioxidante

Valor Optimo = 0,09863 g AGE/g de cáscara de papa seca

Fuente. Este estudio

Para esta investigación el punto óptimo de extracción (tabla 20) resultó de 0,09863 g AGE/g de cáscara de papa seca se alcanzó a los 7.68 minutos y con un tamaño de partícula de 0.508 mm, utilizando etanol (50%) como solvente y con una potencia de 300 W, resultados que concuerdan con lo obtenido con la cantidad de fenoles totales obtenidos.

6.2.3 Comparación entre los resultados de actividad antioxidante de los extractos de cáscara de papa y otras investigaciones. En el gráfico 29 se puede apreciar la actividad antioxidante de varios productos en su mayoría subproductos agroindustriales, siendo el de mayor capacidad antioxidante el extracto de la cascara de café, seguido del extracto de cáscara de papa producto de esta investigación.

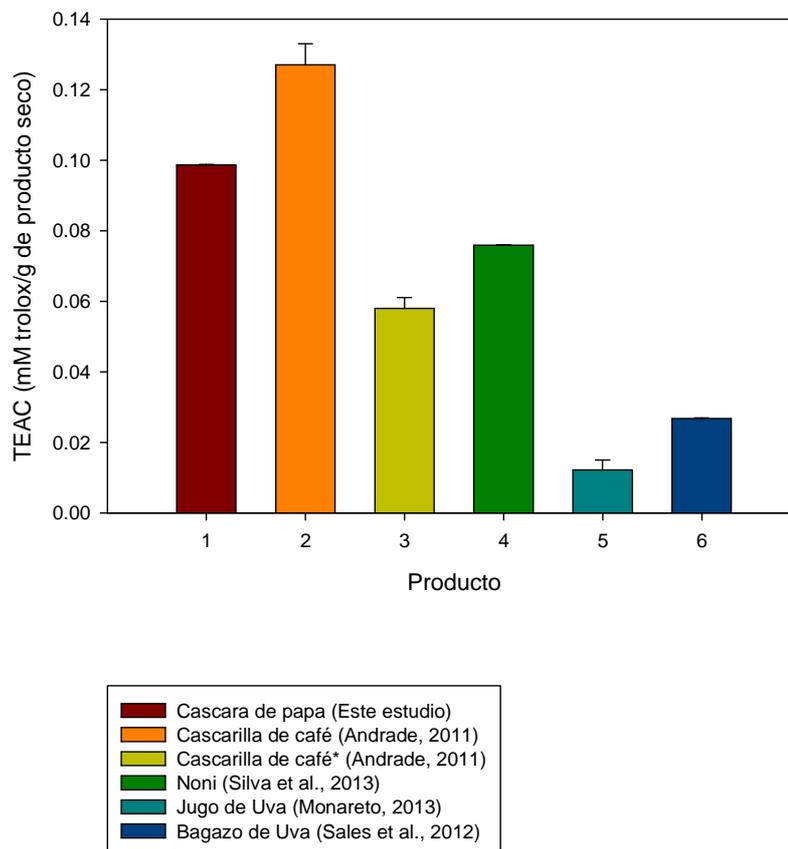
Andrade (2011) en su estudio de evaluación de técnicas de extracción y potencial antioxidante de extractos obtenidos de la cascara del café y cáscara molida (*Coffea arabica* L.) verificó la capacidad antioxidante de los extractos de café molido y cascara de café por el método ABTS, observando un alto contenido de actividad antioxidante con un valor de 0,127 mmol de trolox/g de extracto para la cascara de café cuando se utiliza hexano como solvente y ultrasonido como técnica de extracción. El uso de solvente como el hexano y la técnica de extracción utilizada son los factores más relevantes que explican el alto contenido de actividad antioxidante encontrada, de igual forma Andrade (2011) encontró un valor de 0,058 mmol de trolox/g de extracto cuando se utiliza etanol como solvente resultados similares a los encontrados en este trabajo para la cascara de papa.

Sales, Cruz, & Cabral (2012) en su estudio Capacidad antioxidante de extractos hidroalcohólicos de bagazo de uva tinta encontraron una actividad antioxidante de 0,02678 mmol de trolox/g de extracto utilizando como solvente etanol 70%.

Monaretto (2013) por su parte encontró una actividad antioxidante para el jugo de uva de 0,0122 mmol de trolox/g de extracto este es el resultado más bajo encontrado el cual puede atribuirse a la concentración del solvente.

Silva et al., 2013 reportó en su trabajo determinación de actividad antioxidante para el fruto de noni (*MORINDA CITRIFOLIA* LINN) reportando un valor de 0,07593 mmol de trolox/g de extracto utilizando acetona como solvente.

Gráfico 29. Actividad antioxidante de los extractos evaluados y otros productos



Fuente. Este estudio

6.3 COMPARACIÓN DE LA EFICIENCIA DE EXTRACCIÓN DE LA TECNOLOGÍA DE MICROONDAS CON METODOS CONVENCIONALES

Se tomaron los resultados obtenidos por Cerón & López (2013) y de Weshahy & Rao (2009), quienes mediante métodos convencionales de extracción con solventes para el primero, y con reflujo para el segundo, de cascara de papa de diferentes variedades de papa, sin embargo se debe tener en cuenta que contenido de compuestos fenólicos de la cáscara de papa cambia con las condiciones agroclimáticas de la producción entre las que se destaca la variedad, que es un parámetro que afecta significativamente el contenido de fenoles (Koduvayur *et al.*, 2010)

Tabla 21. Contenido de fenoles totales y actividad antioxidantes de extractos de cascara de papa.

Variedad de la cascara	Solvente utilizado	Fenoles totales (mg AGE/g cascara seca)	TEAC (mM de trolox/g de cascara seca)	fuentes
Diacol capiro	Etanol (50%)	7.652±0.096	0.09863±0.0002	Este estudio
Diacol capiro	Metanol	7.64± 0.269	0.0934±0.00012	(Cerón & López 2013)
Diacol capiro	Etanol (96%)	6.53± 0.11	0.0846±0.0009	Cerón & López 2013)
Parda	Metanol	3.68± 0.16	0.0796±0.0009	(Cerón & López 2013)
Parda	Etanol (96%)	1.27± 0.09	0.0638±0.0017	(Ceron & Lopez 2013)
Roja	Metanol	5.36± 0.16	0.0867±0.00012	(Cerón & López 2013)
Roja	Etanol (96%)	2.22± 0.12	0.701±0.0042	(Cerón & López 2013)
Siecle	Metanol	3.33± 0.12	0.055± 0.022	(Al-Weshahy & Venket Rao 2009)
Purple majesty	Metanol	2.96± 0.16	0.050± 0.016	(Al-Weshahy & Venket Rao 2009)
Dakota Pearl	Metanol	2.04± 0.17	0.038± 0.014	(Al-Weshahy & Venket Rao 2009)
Fl 1533	Metanol	2.04± 0.12	0.035± 0.010	(Al-Weshahy & Venket Rao 2009)
Vivaldi	Metanol	2.04± 0.13	0.035± 0.012	(Al-Weshahy & Venket Rao 2009)
Yukon gold	Metanol	1.51± 0.17	0.028± 0.011	(Al-Weshahy & Venket Rao 2009)

Fuente. Este estudio

Si se compara los resultados obtenidos en la presente investigación, la extracción de antioxidantes tipo fenólicos de la cascara de papa utilizando la tecnología de microondas obtiene mejores resultados que la mayoría de extractos presentes en la tabla 21, siendo los valores del extracto Diacol capiro-Metanol los que más se acercan a los resultados de este estudio, sin embargo cabe destacar que el solvente utilizado para este caso fue una mezcla de etanol y agua (50%), lo cual representa una ventaja ambiental, ya que el metanol es altamente contaminante, además a diferencia del etanol, el metanol es un producto tóxico, la exposición prolongada a este podría provocar daños irreversibles para la salud incluyendo la

ceguera (Singh *et al.*, 2011), lo cual representa una desventaja frente al etanol que por su parte es muy utilizado para la extracción de antioxidantes y es seguro para el consumo humano (Pavlović *et al.*, 2013), por otro lado el tiempo de extracción para los resultados de Cerón & López (2013) fue de 24 horas, y los resultados obtenidos en la presente investigación se lograron con tiempos de 6 a 9 minutos, lo cual represente una gran ventaja por parte de la tecnología de microondas pues se ahorra tiempo y energía, la extracción asistida por microondas se aplica con éxito en escala de laboratorio porque es rápida, ecocompatible (menos solvente requerido), y muy eficaz (Pérez-Serradilla & Luque de Castro 2011) (Pérez-Serradilla *et al.*, 2007). Se ha informado que la extracción asistida por microondas es muy adecuada para la obtención de compuestos fenólicos aunque se realice a altas temperaturas (110-150 °C), una característica crítica para extracción de antioxidantes sin que se degraden (Grigonis *et al.*, 2005). En un estudio fenomenológico, se supo que la extracción asistida por microondas permitió mayor recuperación de polifenoles en comparación con la técnica convencional, sin alterar el potencial antioxidante de los extractos (Spigno & De Faveri 2009).

Teniendo en cuenta lo anterior la extracción asistida por microondas es una tecnología amigable con el medio ambiente, es rápida y segura, convirtiéndose así en una excelente alternativa para el aprovechamiento de residuos agroindustriales como la cascara de papa o de cualquier producto natural, para la extracción de compuestos antioxidantes, o de cualquier metabolito de interés con fines alimentarios, cosmetológico o farmacológicos.

7. CONCLUSIONES

Los resultados de contenido de fenoles totales y actividad antioxidante expresados en mg de AGE/g de cascara seca y TEAC(mmol de trolox/g de cascara seca) respectivamente indican que las extracciones realizadas con microondas son una alternativa adecuada para obtener compuestos tipo fenólicos de subproductos agroindustriales como lo es la cascara de papa, pues al comparar los resultados con los obtenidos con métodos convencionales se puede afirmar que las extracciones con microondas utilizan menos solvente, es más corto el tiempo de extracción y por ende se ahorra energía, lo cual constituye al microondas como una tecnología emergente amigable con el medio ambiente, rápida y segura.

Se determinó que el factor potencia no influye sobre la variable respuesta, sin embargo factores como solvente y tiempo tuvieron significancia estadística sobre los resultados de fenoles totales y actividad antioxidante, obteniendo valores de 7.632 mg de AGE/g de cascara seca y 0.0984 mmol de trolox/g de cascara seca respectivamente.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas en el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante a diferentes tamaños de partícula, obteniendo mayores resultados a mayor tamaño, encontrándose el valor óptimo a 0.508 mm. El tiempo también resultó estadísticamente significativo, pero cabe destacar que en sus dos niveles de 6 y 9 minutos no hubo diferencia, debido a que la extracción de antioxidantes tiende a tomar valores constantes después de un tiempo, lo cual puede indicar que ya se ha extraído los compuestos de interés en su mayoría o en su totalidad.

El punto óptimo encontrado en la presente investigación se obtiene con etanol (50%), potencia de 300W, tamaño de partícula 0.508 mm y tiempo de extracción de aproximadamente 7,6 minutos alcanzando una actividad antioxidante de 0,09863 mmol de trolox/g de cascara de papa seca, y una cantidad de fenoles totales de 7.632 g AGE/g, el tiempo de extracción evidencio que así se aumente este factor a partir de cierto tiempo las variables respuesta tienden a volverse constantes, por lo cual si se toman tiempos largos resultará en un gasto innecesario de energía y la posibilidad de una pérdida de antioxidantes.

8. RECOMENDACIONES

Durante el secado de la muestra puede ser posible perder algunos compuestos antioxidantes, por ello se recomienda realizar investigaciones relacionadas con la extracción de compuestos antioxidantes de cascara de papa la cual no sea sometida a secado o se haya secado mediante otras técnicas que sea a temperaturas bajas como la liofilización o métodos combinados de secado, de esta manera se lograra identificar la incidencia de este procedimiento en la extracción de compuestos antioxidantes.

Durante el desarrollo de la investigación se identificó la necesidad de controlar diferentes variables como temperatura y presión, por ello se recomienda diseñar un equipo para extracción asistida por microondas especializado para la obtención de antioxidantes, o contemplar la posibilidad de adquirir equipos especializados de extracción microondas en los cuales se puede controlar estas variables y obtener mejores resultados, mediante financiación de la investigación y de esta manera también contemplar otros estudios como la evaluación del método de extracción asistido por microondas sin solvente para la extracción de antioxidantes, método el cual ya ha sido evaluado en otros productos obteniendo buenos resultados, convirtiéndose en una alternativa amigable con el medio ambiente por no utilizar solvente además de todas las ventajas que ya tiene la extracción asistida con microondas.

BIBLIOGRAFIA

Ali, S.S. et al., 2008. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Research International*, 41(1), pp.1–15. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996907001779> [Accessed May 27, 2014].

Al-Weshahy, A. & Venket Rao, a., 2009. Isolation and characterization of functional components from peel samples of six potatoes varieties growing in Ontario. *Food Research International*, 42(8), pp.1062–1066. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996909001574> [Accessed July 17, 2014].

Andrade, K.S., 2011. *AVALIAÇÃO DAS TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO E DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS OBTIDOS A PARTIR DE CASCA E DE BORRA DE CAFÉ (Coffea arabica L. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA CENTRO TECNOLÓGICO.*

Aruoma, O.I., 2003. Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 523-524, pp.9–20. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0027510702003172> [Accessed July 18, 2014].

Balasundram, N., Sundram, K. & Samman, S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), pp.191–203. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814605006242> [Accessed May 23, 2014].

Ballard, T.S. et al., 2010. Microwave-assisted extraction of phenolic antioxidant compounds from peanut skins. *Food Chemistry*, 120(4), pp.1185–1192. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814609013739> [Accessed May 31, 2014].

Boucher, F., 1999. Congreso Nacional de Ciencias y Tecnología de Alimentos. *En: IICA-PRODAR*, p.16.

Bousbia, N. et al., 2009. Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity. *Food Chemistry*, 114 (1), pp.355–362.

Bravo, J. et al., 2013. Influence of extraction process on antioxidant capacity of spent coffee. *Food Research International*, 50(2), pp.610–616. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996911002560> [Accessed July 17, 2014].

Brown, C., 2005. Antioxidants in Potato. *Amer J of potato*, 82(August 2004), pp.163–172.

Buenger, J. et al., 2006. An interlaboratory comparison of methods used to assess antioxidant potentials. *International journal of cosmetic science*, 28(2), pp.135–46. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18492148>.

Cameron, E. & Pauling, L., 1978. Supplemental ascorbate in the supportive treatment of cancer: reevaluation of prolongation of survival times in terminal human cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.*, 75, pp.4538–4542.

Casazza, A. a. et al., 2010. Extraction of phenolics from *Vitis vinifera* wastes using non-conventional techniques. *Journal of Food Engineering*, 100(1), pp.50–55. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877410001433> [Accessed February 27, 2013].

Cerón, L. & López, I., 2013. *Extracción y cuantificación de compuestos con actividad antioxidantes a partir de cáscaras de tres variedades de papa (Solanum tuberosum) en el departamento de Nariño*. Tesis de pregrado. Universidad De Nariño. Facultad De Ingenieria Agroindustrial. Programa De Ingenieria Agroindustrial. San Juan De Pasto.

CEVIPAPA, 2012. Centro de investigacion de la cadena agroalimentaria de la papa. , p.www.cevipapa.org.co.

Chen, T. et al., 2009. Optimization of microwave-assisted extraction of solanesol from potato leaves and stems. *Medicinal Chemistry Research*, 19(8), pp.732–742. Available at: <http://www.springerlink.com/index/10.1007/s00044-009-9226-4> [Accessed February 27, 2013].

Choi, Y., Jeong, H.-S. & Lee, J., 2007. Antioxidant activity of methanolic extracts from some grains consumed in Korea. *Food Chemistry*, 103(1), pp.130–138.

Contreras-Calderón, J. et al., 2011. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food Research International*, 44(7), pp.2047–2053. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996910004357> [Accessed March 1, 2013].

- Dai, J. et al., 2010. Investigation of various factors for the extraction of peppermint (*Mentha piperita* L.) leaves. *Journal of Food Engineering*, 96 (4), pp.540–543.
- Escarpa, A., Morales, D. & González, C., 2002. Analytical performance of commercially available and unavailable phenolic compounds using real samples by high-performance liquid chromatography – diode-array detection. *Analytica Chimica*, 460, pp.61–72.
- Fan, J., Ding, X. & Gu, W., 2007. Radical-scavenging proanthocyanidins from sea buckthorn seed. *Food Chemistry*, 102(1), pp.168–177.
- FAO, 2008. El mundo de la papa. , p.<http://www.fao.org/potato-2008/es/mundo/index.html>.
- FAO, 2009. Perspectivas Alimentarias análisis de los mercados mundiales. , p.<http://www.fao.org>.
- Fedepapa, 2004. Guía ambiental para el cultivo de la papa. , p.www.minambiente.gov.co.
- Fedepapa, 2012. La papa, alimento esencial y saludable. *Revista papa*, 11-17(26)., 11, p.17(26).
- FINAGRO, 2012. Fondo de financiamiento del sector agropecuario. , p.www.finagro.com.co.
- Ganzler, K., Salgó, A. & Valkó, K., 1986. Microwave extraction. A novel sample preparation method for chromatography. *J Chromatography A*, 371(1), pp.299–306.
- García, J., Paré, J. & Belanguer, J., 2000. Proceso Asistido por Microondas: aplicaciones para la extracción de aceite de palma. *Revista palmas*, 2, pp.4–10.
- Gobernacion de Nariño, 2012. Plan de desarrollo departamental 2012-2015 “Nariño Mejor”. , p.<http://narino.gov.co/index.php/plan-de-desarrollo->.
- Gordillo, J.C. et al., 2012. Actividad antioxidante en guanábana (*Annona muricata* L.): una revisión bibliográfica. *Boletín latinoamericano y del caribe*, 11(2), pp.111–126.
- Grigonis, D. et al., 2005. Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloë odorata*). *The Journal of Supercritical Fluids*, 33(3), pp.223–233. Available at:

<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896844604001482> [Accessed June 18, 2014].

Gutierrez, D., Ortiz, A. & Mendoza, A., 2008. Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para Alimentación Animal. *simposio de metrologia*, 1, pp.1–5.

Hayat, K. et al., 2009. Optimized microwave-assisted extraction of phenolic acids from citrus mandarin peels and evaluation of antioxidant activity in vitro. *Separation and Purification Technology*, 70, pp.63–70.

Hemwimon, S., Pavasant, P. & Shotipruk, A., 2007. Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. *Separation and Purification Technology*, 54(1), pp.44–50. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1383586606002589> [Accessed July 17, 2014].

Huang, W. et al., 2009. Optimised ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from *Folium eucommiae* and evaluation of antioxidant activity in multi-test systems in vitro. *Food Chemistry*, 114(3), pp.1147–1154. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814608012983> [Accessed July 13, 2014].

Huertas, J. & Ligarreto, A., 2001. CLASIFICACION DE GERMOPLASMA DE PAPA (*Solanum tuberosum* subsp . *tuberosum*) POR PARAMETROS DE CALIDAD Classification of potato germoplasm (*Solanum tuberosum* subsp . *tuberosum*) by quality parameters for industry process. *Agronomía Colombiana*, 18, pp.7–13.

Iqbal, S. & Bhangar, M., 2007. Stabilization of sunflower oil and garlic extract during accelerated storage. *Food Chemistry*, 100, pp.246–254.

Isabelle, M. et al., 2010. Antioxidant activity and profiles of common fruits in Singapore. *Food Chemistry*, 123(1), pp.77–84. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814610004589> [Accessed July 17, 2014].

Jimenez, J. & Villarreal, J., 2008. *Estudio químico de pigmentos tipo antocianina presentes en el fruto del motilon (Hyeronima macrocarpa)*. Tesis de pregrado. Universidad De Nariño. Facultad De Ciencias Exactas y Naturales. Departamento De Química. Programa De Química. San Juan De Pasto.

Kim, D. et al., 2002. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolics phytochemicals. *J. Agric. Food Chem*, 50, pp.3713–3717.

Koduvayur Habeebullah, S.F., Nielsen, N.S. & Jacobsen, C., 2010. Antioxidant Activity of Potato Peel Extracts in a Fish-Rapeseed Oil Mixture and in Oil-in-Water Emulsions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(11), pp.1319–1332. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s11746-010-1611-0> [Accessed July 18, 2014].

Koduvayur, S.F., Nielsen, N.S. & Jacobsen, C., 2010. Antioxidant Activity of Potato Peel Extracts in a Fish-Rapeseed Oil Mixture and in Oil-in-Water Emulsions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(11), pp.1319–1332.

Kowalczewski, P. et al., 2012. ANTIOXIDANT ACTIVITY OF POTATO JUICE. *Department of Biotechnology and Food Microbiology, Poznań University of Life Sciences*, 11(2), pp.175–181.

Krishnaswamy, K. et al., 2012. Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Antioxidants from Grape Seeds (*Vitis vinifera*). *Food and Bioprocess Technology*, 6(2), pp.441–455. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s11947-012-0800-2> [Accessed July 21, 2014].

Kuskoski, E.M. et al., 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos 1. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25(4), pp.726–732.

LeBlanc, G., 1999. Microwave-accelerated techniques for solid sample extraction. *LC-GC*, 17 (1)(2), pp.30–37.

Li, H. et al., 2012. Microwave-assisted extraction of phenolics with maximal antioxidant activities in tomatoes. *Food Chemistry*, 130(4), pp.928–936. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814611011460> [Accessed May 28, 2014].

Llanos, E., 2009. *Capacidad antioxidante de tres variedades de papa (Solanum tuberosum) con y sin cáscara* : Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Lima-Peru).

Londoño, J. et al., 2010. Clean recovery of antioxidant flavonoids from citrus peel: Optimizing an aqueous ultrasound-assisted extraction method. *Food Chemistry*, 119(1), pp.81–87.

Londoño, J.L., 2010. *Antioxidantes : importancia biológica y métodos para medir su actividad*,

Martínez, A., Contreras, J. & Belares, R., 2010. EXTRACCION DE POLIFENOLES ASISTIDA POR MICROONDAS A PARTIR DE *Punica granatum* L. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 2(4), pp.15–21.

Martínez, H. et al., 2006. La papa en Colombia. Una mirada global a su estructura y dinámica 1991-2005. *Ministerio de agricultura y Desarrollo Rural. Documento de Trabajo, N°100, Observatorio Agrocadenas Colombia*, p.30.

Martino, E. et al., 2006. Microwave-assisted extraction of coumarin and related compounds from *Melilotus officinalis* (L.) Pallas as an alternative to Soxhlet and ultrasound-assisted extraction. *Journal of Chromatography*, 1125, pp.147–151.

Mattila, P. & Hellström, J., 2007. Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(3-4), pp.152–160. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889157506001050> [Accessed July 18, 2014].

Mattila, P. & Jarkko, H., 2006. Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(1998), pp.152–160.

Molyneux, P., 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal science and technology*, 26, pp.212–219.

MONARETTO, T., 2013. AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE, EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM SUCOS DE UVA PRODUZIDOS. Universidad tecnologica federal de Paraná.

OCDE, 1997. Consensus Document on the Biology of *Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum*. *Series on Harmonization of Regulatory Oversight in*, 8, p.143 (8).

Onwabamba, M. & Hu, Q., 2010. Antioxidant activity in barley (*Hordeum Vulgare* L) grains roasted in a microwave oven under conditions optimized using response surface methodology. *Journal food science*, 75, pp.66–73.

Pan, Y. et al., 2008. Antioxidant activity of microwave-assisted extract of longan (*Dimocarpus Longan* Lour.) peel. *Food Chemistry*, 106(3), pp.1264–1270. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814607007194> [Accessed February 22, 2013].

Pavlović, M.D. et al., 2013. Ethanol influenced fast microwave-assisted extraction for natural antioxidants obtaining from spent filter coffee. *Separation and Purification Technology*, 118, pp.503–510. Available at:

<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1383586613004589> [Accessed June 16, 2014].

Pérez, G., 2003. LOS FLAVONOIDES: ANTIOXIDANTES O PROOXIDANTES. *Revista cubana de investigacion biomedica*, 1, pp.48–57.

Pérez-Serradilla, J. a. & Luque de Castro, M.D., 2011. Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from wine lees and spray-drying of the extract. *Food Chemistry*, 124(4), pp.1652–1659. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030881461000899X> [Accessed July 21, 2014].

Pinelo, M. et al., 2004. Extraction of antioxidant phenolics from almond hulls (*Prunus amygdalus*) and pine sawdust (*Pinus pinaster*). *Food Chemistry*, 85, pp.267–273.

Puertas, M., Rios, Y. & Rojano, B., 2013. Determinación de antocianinas mediante extracción asistida por radiación de microondas en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) de alto consumo en Antioquia- Determination of anthocyanins by microwave assisted extraction in beans (*Phaseolus vulgaris* L.) comm. *revista cubana de plantas medicinales*, 18(2), pp.288–297.

Radunz, A. et al., 2003. Influence of steam-peeled potato-processing waste inclusion level in beef finishing diets: Effects on digestion, feedlot performance, and meat quality. *Journal of animal science*, 81, pp.2675–2685.

Rodriguez, D., Hadley, M. & Holm, E., 1994. Phenolics in aqueous potato peel extract: Extraction, identification and degradation. *Journal food science*, 59, pp.649–651.

Russell, W.R. et al., 2009. Phenolic acid content of fruits commonly consumed and locally produced in Scotland. *Food Chemistry*, 115(1), pp.100–104.

Sales, N., Cruz, A. & Cabral, L., 2012. CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DO BAGAÇO DE UVA TINTA. *Congresso Brasileiro de Quimica*, 1, pp.11435–11441.

Sanchez, C., 2002. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Journal food science*, 8, pp.121–137.

Scalzo, J. et al., 2005. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *Nutrition*, 2, pp.207–213.

Sellapan, S., Akoh, C. & Krewer, G., 2002. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-Grown blueberries and blackberries. *J. Agric. Food Chem*, 50, pp.2432–2438.

Senevirathne, M. et al., 2009. Effective drying of citrus by-product by high speed drying: A novel drying technique and their antioxidant activity. *Journal of Food Engineering*, 92(2), pp.157–163. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877408005347> [Accessed June 17, 2014].

Silva, M. et al., 2013. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NO FRUTO DO NONI (MORINDA CITRIFOLIA LINN) IN NATURA E PRÉ-SECO. *Revista da sociedade brasileira de de alimentacao*, p.479.

Singh, A. et al., 2011. Microwave-assisted extraction of phenolic antioxidants from potato peels. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 16(3), pp.2218–32. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21383659> [Accessed June 16, 2014].

Sosa, Z. & Garcia, K., 2010. Evaluacion de la actividad antioxidante y el efecto antiinflamatorio del jugo de Averrhoa carambola L. , pp.1311–1319.

Spigno, G. & De Faveri, D.M., 2009. Microwave-assisted extraction of tea phenols: A phenomenological study. *Journal of Food Engineering*, 93(2), pp.210–217. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877409000284> [Accessed July 21, 2014].

Sun, Y. et al., 2011. Effects of different factors of ultrasound treatment on the extraction yield of the all-trans- β -carotene from citrus peels. *Ultrasonics sonochemistry*, 18(1), pp.243–9.

Vargas, P., 2007. Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (EuA). *Tecnología en marcha*, 20, pp.30–40.

Vian, M.A. et al., 2011. A remarkable influence of microwave extraction: Enhancement of antioxidant activity of extracted onion varieties. *Food Chemistry*, 127(4), pp.1472–1480. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814611002196> [Accessed February 27, 2013].

Wang, Z. et al., 2006. Improved solvent-free microwave extraction of essential oil from dried *Cuminum cyminum* L. and *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. *Journal of chromatography. A*, 1102(1-2), pp.11–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16266711> [Accessed June 16, 2014].

Weshahy, A. & Rao, A., 2009. Isolation and characterization of functional components from peel samples of six potatoes varieties growing in Ontario. *Food Research International.*, 42, pp.1062–1066.

Willet, W. & MacMahon, B., 1984. Diet and cancer--an overview (second of two parts). *The New England Journal of Medicine*, 310, pp.697–703.

Wu, T. et al., 2012. Optimization of microwave-assisted extraction of phenolics from potato and its downstream waste using orthogonal array design. *Food Chemistry*, 133(4), pp.1292–1298. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814611010983> [Accessed June 2, 2014].

Zill-E-Huma et al., 2009. Clean recovery of antioxidant flavonoids from onions: optimising solvent free microwave extraction method. *Journal of chromatography. A*, 1216(45), pp.7700–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19800069> [Accessed June 16, 2014].

ERROR: syntaxerror
OFFENDING COMMAND: --nostringval--

STACK:

/Title
()
/Subject
(D:20141121110440-05'00')
/ModDate
()
/Keywords
(PDFCreator Version 0.9.5)
/Creator
(D:20141121110440-05'00')
/CreationDate
(carlos)
/Author
-mark-