

**EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS CON ACTIVIDAD
ANTIOXIDANTE A PARTIR DE CÁSCARAS DE TRES VARIEDADES DE PAPA
(*Solanum tuberosum*) EN EL DEPARTAMENTO DE NARIÑO.**

**LEIDY JOVANA CERÓN MARTÍNEZ
IVÁN ANDRÉS LÓPEZ LEDEZMA**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
SAN JUAN DE PASTO
2013**

**EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS CON ACTIVIDAD
ANTIOXIDANTE A PARTIR DE CÁSCARAS DE TRES VARIEDADES DE PAPA
(*Solanum tuberosum*) EN EL DEPARTAMENTO DE NARIÑO.**

**LEIDY JOVANA CERÓN MARTÍNEZ
IVÁN ANDRÉS LÓPEZ LEDEZMA**

**Trabajo de grado en modalidad de investigación presentado como requisito
parcial para optar al título de Ingeniero Agroindustrial.**

**Asesor:
Director: Ing. MAURICIO ALEXANDER BUCHELI JURADO**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
SAN JUAN DE PASTO
2013**

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, Agosto de 2013

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a:

A la Vicerrectora de Investigación, Posgrados y Relaciones Internacionales (VIPRI) por la financiación de este trabajo.

Al Grupo de Investigación Tecnologías Emergentes en Agroindustria (TEA) en cabeza de su director el Ph.D. Oswaldo Osorio por el apoyo prestado en el desarrollo de este investigación.

A nuestro Director el Ingeniero Mauricio Bucheli Jurado por su valioso asesoría desde la formulación hasta la ejecución del presente trabajo de grado.

MSc. Diego Mejía E., por su asesoría y correcciones al trabajo de grado

MSc. Oscar Arango B., por sus correcciones al trabajo de grado

Al personal de Laboratorios Especializados: Químicos: Juan Pablo Jiménez y David Arturo. Técnica de Laboratorios Especializados Sandra Espinoza, por sus aportes vitales en esta investigación

Al personal de Planta Piloto: I.A Hugo Gomajoa; I.Q. Renato Pantoja; Monitores

A todas las personas, compañeros y amigos que de alguna u otra manera colaboraron para la realización del presente trabajo. Muchas Gracias a todos

DEDICATORIA

Este paso más que doy en mi vida lo quiero dedicar a todas las personas que siempre han estado presentes y que han hecho lo posible para que pueda llegar hasta donde estoy.

En primer lugar quiero dedicar este trabajo de grado a Dios, por ser mi guía y por permitirme llegar a este momento tan especial, por los triunfos y los momentos difíciles y por darme las fuerzas necesarias para salir adelante.

A mis padres Maria del Socorro Martínez y Luis Heriberto Cerón, por su apoyo incondicional, consejos, comprensión, amor y ayuda en los momentos difíciles. Muchas gracias porque ustedes me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia, mi coraje para conseguir mis objetivos.

A mis hermanos Eder Fabian Cerón Martínez y Duban Andres Cerón Martínez por estar siempre presentes acompañándome, guiándome y ayudándome para poderme realizar, como persona y como profesional.

A mi tía y mis primas quienes han velado por mí durante este arduo camino para convertirme en una profesional.

A mi familia en general gracias por su apoyo.

A mi compañero y amigo Ivan Andrés López Ledezma, por luchar cada día para poder alcanzar esta meta y por todo el tiempo y las experiencias compartidas.

A mis amigos, que gracias al equipo que formamos logramos llegar hasta el final del camino y que hasta el momento, seguimos siendo amigos.

A mis profesores, gracias por su tiempo, por su apoyo así como por todas las enseñanzas que me transmitieron en el desarrollo de mi formación profesional.

Leidy Jovana Cerón Martínez

DEDICATORIA

A Dios, por regalarme la vida y el permitirme alcanzar este logro

A mi madre, FLOR ALBA LEDEZMA ARCOS, por ser fuente de inspiración, lucha, amor, tenacidad, inteligencia y sabiduría; convirtiéndose en el ser más maravilloso de mi mundo, guiándome cada día y presente en cada uno de mis pasos. Este triunfo es tuyo, tu fortalece es inspiración.

A mi padre, JOSÉ IVÁN LÓPEZ MADROÑERO, cuyos caminos escabrosos durante su vida en medio dificultades me demostraron que la fortalece de un hombre radica en la tranquilidad con la que emprendemos cada camino.

A mi hermana, LEIDY DAYANA MORALES LEDEZMA, quien me demostró que los límites son mentales y con su trabajo me inspira día a día

A mi hermano y gran amigo, DAVID ALEJANDRO LÓPEZ LEDEZMA, por sus enseñanzas y lecciones de vida que me entrega a diario, permitiendo ver que el crecimiento espiritual y humano no tiene límites

A mi compañera y gran amiga, LEIDY JOVANA CERÓN, por sus enseñanzas, consejos y todo lo compartido y espero que siempre estés presente en mi sendero

“Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor, la electricidad y la energía atómica: la voluntad”.

Iván Andrés López Ledezma

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	22
1. IDENTIFICACIÓN Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	24
2. JUSTIFICACIÓN	27
3. OBJETIVOS	30
3.1 OBJETIVO GENERAL	30
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
4. MARCO TEÓRICO	31
4.1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	31
4.2 RADICALES LIBRES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.	32
4.2.1 Generalidades de los radicales libres	32
4.2.2 Compuestos Antioxidantes	33
4.2.3 Clasificación de los Antioxidantes	34
4.3 COMPUESTOS FENÓLICOS EN LAS PLANTAS	35
4.4 ESTUDIOS SOBRE EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES.	35
4.5 ESTUDIOS CON CÁSCARA DE PAPA	37
4.6 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN.....	40
4.6.1 Extracción líquido-líquido	41
4.6.2 Extracción sólido-líquido	41
4.7 METODOS DE ANALISIS PARA LA DETERMINACION DE FENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	41
4.7.1 Determinación de fenoles totales.	42
4.7.2 Determinación de actividad antioxidante.....	42
4.7.2.1 El Método ABTS.....	43
4.7.2.2 Método DPPH	44
5. DISEÑO METODOLÓGICO.....	47
5.1 ORIGEN Y OBTENCIÓN DE LA MATERIA PRIMA.....	47

5.2	TRATAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA.....	48
5.2.1	Secado.....	48
5.2.2	Molienda y Tamizado.	49
5.3	DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICO PROXIMAL DE LAS CÁSCARAS DE TRES VARIEDADES PAPA (<i>Solanum tuberosum</i>).....	50
5.4	OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS.....	51
5.4.1	Preparación de las soluciones y extracción.	51
5.4.2	Centrifugación.	52
5.5	DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE FENOLES Y LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.....	53
5.5.1	Determinación de Fenoles Totales.....	53
5.5.2	Determinación de la Actividad Antioxidante:	54
5.5.2.1	Ensayo ABTS.....	54
5.5.2.2	Ensayo DPPH	54
5.6	ANÁLISIS DE ÁCIDO CAFEICO EN CÁSCARAS DE PAPA POR HPLC- PDA.....	55
5.6.1	Descripción del análisis:.....	56
5.6.1.1	Análisis de las Muestras.	56
5.7	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	56
5.7.1	Variedad de papa y tipo de solvente.	56
5.7.2	Tamaño de Partícula y Tiempo de Contacto.....	58
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	61
6.1	OBTENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA CÁSCARA DE PAPA.....	61
6.2	ANÁLISIS PROXIMAL DE LA CÁSCARA DE PAPA.	61
6.3	ESTUDIO DEL EFECTO DE LA VARIEDAD Y TIPO DE SOLVENTE SOBRE EL CONTENIDO DE FENOLES Y SU ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.....	63
6.3.1	Determinación de fenoles totales.....	63
6.3.2	Determinación de la actividad antioxidante:	70

6.3.2.1	Ensayo ABTS.....	70
6.3.2.2	Ensayo DPPH.	76
6.4	ANÁLISIS DE ÁCIDO CAFEICO EN EXTRACTOS METANOLICOS DE CÁSCARAS DE PAPA POR HPLC-PDA.	91
6.5	ESTUDIO DEL EFECTO DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA Y EL TIEMPO DE CONTACTO SOBRE EL CONTENIDO DE FENOLES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.....	92
6.5.1	Determinación de fenoles totales.	93
6.5.2	Determinación de la actividad antioxidante:	99
6.5.2.1	Ensayo ABTS.....	99
6.5.2.2	Ensayo DPPH	104
6.6	COMPARACIÓN ENTRE LOS RESULTADOS DE LOS EXTRACTOS DE CÁSCARA DE PAPA Y OTROS PRODUCTOS.	110
7.	CONCLUSIONES	113
8.	RECOMENDACIONES	114
	BIBLIOGRAFÍA.....	115

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estructura fenol.....	34
Figura 2. Estructura del ABTS ^{•+}	44
Figura 3. Estructura del radical DPPH [•]	45
Figura 4. Reacción de reducción de DPPH [•] , (Radical 2,2- difenil-1- picrilhidrazilo) y un compuesto antioxidante (RH).....	45
Figura 5. Recepción de la materia prima: estabilidad de almacenamiento variedades roja nariño y parda patusa.....	48
Figura 6. Obtención de las cáscaras de las tres variedades de papa.....	48
Figura 7. Secador de bandejas FIQ-LTDA - CST-800	49
Figura 8. Molino de Cuchillas.....	49
Figura 9. Tamizadora.....	49
Figura 10. Obtención de la cáscara de papa con el tamaño de partícula a evaluar	50
Figura 11. Balanza Analítica de Precisión DENVER APX-200	51
Figura 12. Planchas de agitación THOMAS SCIENTIFIC.....	52
Figura 13. Centrífuga Sigma 2-16P	52
Figura 14. Espectrofómetro Génesis 10 UV-Vis Scanning Thermo Fisher Scientific	53
Figura 15. Cromatógrafo Líquidos HPLC Waters.....	56
Figura 16. Ensayos para la curva de calibración con ácido gálico.....	63
Figura 17. Perfil cromatográfico (CLAE-DAD) del extracto DM	92

LISTA DE GRÁFICOS

	Pág.
Gráfico 1. Curva de calibración para la determinación de fenoles totales con patrones de ácido gálico.	64
Gráfico 2. Contenido de Fenoles Totales para los extractos de cáscara de papa evaluados	66
Gráfico 3. Gráfico de medias de LSD de Fisher para el contenido de fenoles totales con relación a la variedad de papa.....	67
Gráfico 4. Gráfico de medias de LSD de Fisher para el contenido de fenoles totales con relación al tipo de solvente utilizado.	68
Gráfico 5. Gráfico de Interacciones para el contenido de fenoles totales.....	69
Gráfico 6. Curva de calibración para determinar la capacidad antioxidante expresada como TEAC.....	71
Gráfico 7. Actividad antioxidante en TEAC para los extractos de cáscara de papa evaluados	73
Gráfico 8. Gráfico de medias de LSD de Fisher para la actividad antioxidante (TEAC) con relación a la variedad de papa utilizada	74
Gráfico 9. Gráfico de medias de LSD de Fisher para la actividad antioxidante (TEAC) con relación al tipo de solvente utilizado.....	74
Grafica 10. Gráfico de Interacciones para Actividad Antioxidante en TEAC	75
Grafica 11. Gráfico de correlación entre el contenido de fenoles y la actividad antioxidante expresada como TEAC.....	76
Gráfico 12. Curva de calibración del método DPPH*.....	77
Gráfico 13. Comportamiento de diferentes concentraciones de ácido ascórbico en el tiempo frente al porcentaje de DPPH* Remanente.....	78
Gráfico 14. Comportamiento de diferentes concentraciones de ácido ascórbico en el tiempo frente al porcentaje de Inhibición.....	78
Gráfico 15. Curva para determinar EC_{50} con diferentes concentraciones de ácido ascórbico.	79

Gráfico 16.	Comportamiento de diferentes concentraciones de ácido ascórbico en el tiempo frente al porcentaje de Inhibición.....	79
Gráfico 17.	Comportamiento de diferentes concentraciones de ácido gálico en el tiempo frente al porcentaje de DPPH• Remanente.....	80
Gráfico 18.	Comportamiento de diferentes concentraciones de ácido gálico en el tiempo frente al porcentaje de Inhibición	80
Gráfico 19.	Curva para determinar Ec_{50} con diferentes concentraciones de ácido gálico.	81
Gráfico 20.	Curva para determinar IC_{50} con diferentes concentraciones de ácido gálico.	81
Gráfico 21.	Comportamiento de diferentes concentraciones de ácido cafeíco en el tiempo frente al porcentaje de DPPH• Remanente	82
Gráfico 22.	Comportamiento de diferentes concentraciones de ácido cafeíco en el tiempo frente al porcentaje de Inhibición.....	82
Gráfico 23.	Curva para determinar Ec_{50} con diferentes concentraciones de ácido cafeico.	83
Gráfico 24.	Curva para determinar IC_{50} con diferentes concentraciones de ácido cafeico.	83
Gráfico 25.	Comportamiento de diferentes concentraciones del extracto DM en el tiempo frente al porcentaje de DPPH• Remanente.....	85
Gráfico 26.	Comportamiento de diferentes concentraciones del extracto DM en el tiempo frente al Porcentaje de Inhibición	85
Gráfico 27.	Curva para determinar Ec_{50} con diferentes concentraciones del extracto DM	86
Gráfico 28.	Curva para determinar IC_{50} con diferentes concentraciones del extracto DM	86
Grafica 29.	Eficiencia antirradical en los extractos de cáscaras de papa evaluados	87
Gráfico 30.	Gráfico de medias de LSD de Fisher la eficiencia antirradical con relación a la variedad de papa.....	89

Gráfico 31.	Gráfico de medias de LSD de Fisher la eficiencia Antirradical con relación al tipo de solvente	89
Gráfico 32.	Gráfico de interacciones para la eficiencia antirradical con relación al tipo de solvente.....	90
Gráfico 33.	Contenido de Fenoles Totales	94
Gráfico 34.	Gráfico de Pareto estandarizado para el contenido de fenoles totales	96
Gráfico 35.	Gráfico de medias para el contenido de fenoles totales con relación al tamaño de partícula.	96
Gráfico 36.	Gráfico de medias para el contenido de fenoles totales con relación al tiempo	97
Gráfico 37.	Gráfico de efectos principales para el contenido de fenoles totales .	98
Gráfico 38.	Superficie de respuestas estimada para fenoles totales.....	98
Gráfico 39.	Actividad antioxidante en TEAC para los extractos evaluados:	100
Gráfico 40.	Gráfico de Pareto estandarizado para la actividad antioxidante expresada en TEAC.....	102
Gráfico 41.	Gráfico de medias para la actividad antioxidante en TEAC con relación al tamaño de partícula.	102
Gráfico 42.	Gráfico de efectos principales de actividad antioxidante en TEAC.	103
Gráfico 43.	Superficie de respuestas estimada para actividad antioxidante en TEAC.	104
Gráfico 44.	Eficiencia antirradical para las diferentes combinaciones de los factores evaluados.....	105
Gráfico 45.	Gráfico de Pareto estandarizado para la eficiencia antirradical	107
Gráfico 46.	Gráfico de medias para la eficiencia antirradical con relación al tamaño de partícula.	108
Gráfico 47.	Gráfico de efectos principales para la eficiencia antirradical	108
Gráfico 48.	Superficie de respuestas estimada para actividad antioxidante expresada en EA.	109

Gráfico 49.	Fenoles totales presentes en los extractos evaluados y diferentes pulpas de frutas	111
Gráfico 50.	Fenoles totales presentes los extractos evaluados y diferentes jugos comerciales.....	111

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Matriz del Diseño Experimental del diseño Factorial Multinivel Categórico.....	57
Tabla 2. Factores experimentales del diseño multifactorial categórico	58
Tabla 4. Matriz del Diseño Experimental diseño factorial 3^2	59
Tabla 5. Factores experimentales del diseño factorial 3^2	60
Tabla 6. Variables de respuesta de diseño factorial 3^2	60
Tabla 7. Diámetros de partícula usados en la investigación	61
Tabla 8. Análisis proximal de las cáscaras de papa	62
Tabla 9. Resultados de la Prueba de Folin Ciocalteau con patrones de ácido gálico.....	63
Tabla 10. Resultados de la prueba de fenoles totales para los extractos de cáscara de papa evaluados	65
Tabla 11. Análisis de varianza para el contenido de fenoles totales.....	67
Tabla 12. Registros de absorbancias de la prueba de ABTS ⁺⁺ con distintas concentraciones de trolox.	70
Tabla 13. Resultado de la prueba de ABTS ⁺⁺ con patrones de antioxidantes sintéticos.....	72
Tabla 14. Resultados de Actividad antioxidante en TEAC para los extractos de cáscara de papa evaluados	72
Tabla 15. Análisis de varianza para la actividad antioxidante (TEAC).	73
Tabla 16. Registros de absorbancia a diferentes concentraciones DPPH [•]	76
Tabla 17. Parámetros calculados en el ensayo DPPH [•] para ácido ascórbico, gálico y cafeico.	84
Tabla 18. Eficiencia antirradical en extracto de DM.....	86
Tabla 19. Resumen de las eficiencias antirradical en los extractos evaluados...	87
Tabla 20. Análisis de varianza para la eficiencia antirradical para los extractos de cáscara evaluados.	88

Tabla 21.	Análisis de ácido cafeico en cascara de papa por HPLC-PDA.	92
Tabla 22.	Contenido de fenoles totales para los extractos de cascarás de papa.....	93
Tabla 23.	Análisis de varianza para el contenido de fenoles totales.....	94
Tabla 24.	Óptima Respuesta para el contenido de fenoles totales.....	99
Tabla 25.	Valores de actividad antioxidante expresados en TEAC	99
Tabla 26.	Análisis de varianza para la actividad antioxidante expresada en TEAC	101
Tabla 27.	Óptima respuesta para la actividad antioxidante en TEAC.....	104
Tabla 28.	Valores de eficiencia antirradical para los extractos evaluados	105
Tabla 29.	Análisis de varianza para la eficiencia antirradical.....	106
Tabla 30.	Óptima Respuesta para la eficiencia antirradical.....	109
Tabla 31.	Contenido de fenoles totales y actividad antioxidante en diferentes productos	110

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Resultados análisis proximal de las cascarás de Papa Variedad Diacol Capiro	128
Anexo 2. Resultados análisis proximal de las cascarás de Papa Variedad Parda Pastusa	129
Anexo 3. Resultados análisis proximal de las cascarás de Papa Variedad Roja Nariño	130
Anexo 4. Espectro UV Acido Cafeico.....	131
Anexo 5. Tiempo de retención cromatograma de acido cafeico	132
Anexo 6. Resultado análisis cromatograficos cáscaras de papa variedad Diacol Capiro	133
Anexo 7. Resultado análisis cromatograficos cáscaras de papa variedad Parda Pastusa.....	134
Anexo 8. Resultado análisis cromatograficos cáscaras de papa variedad Roja Nariño	135
Anexo 9. Diagrama de flujo para la obtención de los extractos a partir de cáscaras de tres variedades de papa	136

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

DE: Diacol Etanol

DM: Diacol Metanol

DPPH•: 2,2- difenil-1-picrilhidrazilo

EA: Eficiencia Antirradical

FT: Fenoles Totales

HPLC: Cromatografía líquida de alta resolución

PE: Parda Etanol

PM: Parda Metanol

RE: Roja Etanol

RM: Roja Metanol

TEAC: Actividad antioxidante equivalente a trolox

Tr: Tiempo de retención

RESUMEN

Las tendencias mundiales de la alimentación en los últimos años, indican un interés acentuado en la identificación y obtención de sustancias de origen natural con capacidad antioxidante, con la finalidad de minimizar el consumo de los antioxidantes de origen sintético. El extracto de la cáscara de papa ha probado poseer una potente actividad antioxidante al ser una fuente de ácidos fenólicos. En el presente trabajo se evaluó la capacidad antioxidante de extractos de cáscara de tres variedades de papa (*Solanum tuberosum*): diacol capiro, parda pastusa y roja nariño cultivadas en el Departamento de Nariño y se analizaron los mejores parámetros como tipo de solvente, tamaño de partícula y tiempo de contacto para su extracción.

Los extractos de cáscara de papa se obtuvieron por técnicas de extracción con solventes orgánicos (metanol y etanol grado HPLC), en condiciones de agitación constante a temperatura ambiente. Se determinó el contenido de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu, la actividad antioxidante se cuantificó por medio de los radicales 2,2 azinobis-(3-etilbenzotiazon-6-ácido sulfónico) (ABTS•+) y 2,2-difenil-picrilhidrazilo (DPPH•), además se realizó la cuantificación de compuestos fenólicos por medio de un análisis de cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC), utilizando un patrón de ácido cafeico.

Se encontró un mayor contenido de fenoles y actividad antioxidante cuando se utilizó metanol HPLC para la extracción en las cáscaras de papa de las tres variedades en estudio, los extractos metanólicos de la variedad diacol capiro (DM) mostraron un mayor contenido de compuestos fenólicos con 652.90 mg AGE/100 g de cáscara de papa seca, la actividad antioxidante expresada como TEAC fue 0,0928 mmol trolox/ g de cáscara de papa seca, además se obtuvo un valor de EC_{50} de 26,906 g cáscara de papa seca/L y una eficiencia antirradical de $6,183 \times 10^{-3}$ en la misma variedad.

Con respecto a los parámetros tamaño de partícula y tiempo de contacto, se puede establecer que bajo los niveles evaluados, se logró una mejor obtención de compuestos antioxidantes cuando se trabajó con un tamaño de partículas de 0,335 mm, correspondiente al retenido en el tamiz malla 60 y un tiempo de contacto en la extracción de 24 horas.

ABSTRACT

In the last years, global food trends show a strong interest in the identification and obtainment of naturally sourced substances with antioxidant capabilities in order to reduce the consumption of synthetic antioxidants. In this regard, the extract of potato peel has proven to have a powerful antioxidant activity being a source of phenolic acids. The aim of this paper was to examine the antioxidant capability of peel extracts of three varieties of potato (*Solanum tuberosum*): Diacol capiro, parda pastusa and roja nariño, which are grown in Nariño. Also, there was an analysis of the best parameters such as type of solvent, size of particle and contact times for extraction.

Potato peel extracts were obtained by using organic solvents extraction techniques (methanol and ethanol grade HPLC), in constant stirring at room temperature. Total phenols were obtained through the Folin-ciocalcetu method. Antioxidant activity was calculated through radicals 2,2 azino-bis-(3-etilbenzotiazon-6- sulfonic acid) (ABTS•+) and 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•). Additionally, phenolic compounds were quantified through High Efficiency liquid Chromatography (HPLC) using a caffeic acid pattern.

Major content of phenols and antioxidant activity was found when metanoil HPLC was used during the extraction of potato peel in the three varieties studied. Diacol Capiro (DM) extracts showed a higher content of phenolic compounds with 652.90 mg AGE/100 g of dry potato peel. Antioxidant activity expressed as TEAC was 0,0928 mmol trolox/ g of dry potato peel. A value of E_{C50} of 26,906 g of dry potato peel/L and antiradical efficiency of $6,183 \times 10^{-3}$ were also found in the same variety.

Regarding the parameters: particle size and contact times, it may be concluded that, under the levels evaluate in this study, major antioxidant compounds are obtained when an average particle size of 0.335 mm is employed, which corresponds to the peel that is retained in the sieve 60 and a contact time of 24 hours.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de la papa (*Solanum tuberosum*) es considerado como el cuarto cultivo más importante y de gran producción en todo el mundo. En Colombia el desarrollo de este cultivo se presenta principalmente en zonas de clima frío, en donde se destaca el departamento de Nariño por presentar condiciones agroecológicas favorables para su cultivo, puesto que la producción óptima de la papa se da en aquellas zonas ubicadas entre los 2.500 y 3.000 metros de altitud sobre el nivel del mar, por lo que de acuerdo con el informe de la Gobernación de Nariño, el departamento cuenta con 14.610 hectáreas sembradas de papa y 16.419 productores, 25 mil familias, de la cual se derivan 3.600.000 jornales anuales y 350 mil empleos indirectos.

Dada la gran producción de papa que se da a nivel mundial y nacional, es necesario resaltar que el consumo mundial de la papa está pasando del producto fresco a productos alimentarios industriales con valor añadido, lo cual ha conducido que el procesamiento de este tubérculo genere residuos como las cáscaras, las cuales no generan ningún valor agregado a la cadena productiva de este tubérculo, debido al mal manejo que se le da en la actualidad, en donde son destinadas principalmente a alimentación animal sin ninguna transformación y haciendo parte de los residuos sólidos municipales.

A pesar de lo anterior, es necesario tener en cuenta que el extracto de la cáscara de papa ha demostrado poseer una potente actividad antioxidante, la cual es atribuida principalmente a compuestos fenólicos que posee este tubérculo, concluyendo así que el extracto de cáscara es un antioxidante natural que podría reemplazar a los antioxidantes sintéticos para la conservación de alimentos.

De esta manera, la agroindustria busca un aprovechamiento cada vez más integral de las materias primas de las que se dispone en una región y principalmente la utilización de residuos provenientes de las industrias, para de esta manera disminuir los impactos ambientales negativos y obtener compuestos naturales que sustituyan aditivos de carácter sintético puesto que los antioxidantes naturales, en la industria alimentaria, cobran cada día mayor importancia debido a los beneficios para la salud humana.

Además, las tendencias mundiales en cuanto a alimentación, en los últimos años, indican un interés acentuado de los consumidores hacia alimentos que contengan además de sus características funcionales y nutrientes esenciales una función benéfica en la reducción de enfermedades, es decir que se está presentando por parte de los consumidores un aumento en la demanda de compuestos naturales, como los antioxidantes naturales que pueden sustituir compuestos sintéticos como el TBHQ, BHT, BHA y entre otros, de los cuales algunos de ellos presentan

restricciones en muchos países, debido a que estos compuestos ocasionan problemas en la salud, por lo cual se debe investigar sobre los compuestos naturales que tengan la capacidad de sustituir estos aditivos.

La extracción de los compuestos con actividad antioxidante se ha realizado mediante técnicas donde se emplean solventes orgánicos, los cuales combinan diferentes parámetros en cuanto a temperatura, tiempo de tratamiento, grado de molienda, agitación, relación sólido - líquido y el solvente empleado para la extracción, entre los cuales se destaca el uso de agua, metanol, etanol, acetato de etilo, entre otros.

De esta manera, el presente proyecto plantea determinar las condiciones más adecuadas en la extracción de los compuestos con actividad antioxidante, para lo cual se realizaron diferentes tratamientos de extracción modificando parámetros como: la variedad de la cáscara de papa, el tipo de solvente empleado, el tamaño de partícula y el tiempo de contacto empleado para la extracción.

Así, el objetivo de este proyecto se centra en la extracción y cuantificación de compuestos con actividad antioxidante de cáscaras de tres variedades de papa (*Solanum tuberosum*), en el Departamento de Nariño.

Esperando así generar conocimiento que pueda contribuir a dar valor agregado a un residuo proveniente del procesamiento de la papa en el Departamento de Nariño.

1. IDENTIFICACIÓN Y FORMULACIÓN 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 (Navarre *et al.*, 2011), además ha sido considerada como uno de los principales cultivos agrícolas en cuanto a superficie cultivada después del trigo y algunos cultivos industriales como la soya y la caña de azúcar. 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.

Los principales productores de papa en el mundo son: la China con casi 88.350.220 toneladas por año, seguido de la India 42.339.400 toneladas y la Federación Rusa con cerca de 32.681.500 toneladas anuales (FAOSTAT, 2011). Por su parte Colombia ocupa el puesto 31 en la producción mundial de papa, donde el 80% de su producción se concentra en tres departamentos: Cundinamarca (42%), Boyacá (23%) y Nariño (14%), es la actividad agropecuaria que más empleo e ingresos genera, constituyéndose en eje fundamental de la economía regional en estos departamentos (Martínez, 2006).

En Colombia, el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) es uno de los principales productos agrícolas de las zonas ubicadas entre los 2.000 y 3.000 metros de altitud, por lo que, llegó a ocupar en el 2006 un área sembrada total de 168.000 hectáreas, alrededor de 90.000 familias se encuentran vinculadas con la explotación directa de este cultivo y se generan cerca de 20 millones de jornales al año; algunas estimaciones consideran que en todo el país el cultivo de la papa genera unos 104.456 empleos directos. 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 (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2006).

De acuerdo al consolidado Agropecuario del Departamento de Nariño (2011), para la evaluación definitiva del segundo semestre del 2010, en el departamento de Nariño, la mayor parte de la producción de papa se concentra en la zona Andina, con un total de área sembrada de 14.610,0 hectáreas y 16.419 productores, los municipios que se destacan por la mayor producción de papa en el departamento son: Ipiales, Pasto, Tuquerres, Pupiales y Cuaspud (Secretaría de Agricultura y Medio Ambiente de Nariño, 2011). Para el año 2012 la Gobernación de Nariño, reportó que el cultivo de la Papa involucró a 25 mil familias, de la cual se derivaron 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 los integrantes de la familia. El cultivo de la papa en Nariño

es un sistema de producción de economía campesina minifundista (Gobernación de Nariño, 2012).

En cuanto a producción, según lo reportado por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, (2010) la papa representó el 49,2% del total la producción agrícola en este departamento, ocupando así el primer lugar con 572.979,1 toneladas producidas, seguida del plátano y la caña panelera con una producción de 120.904,5 y 78.767,7 toneladas respectivamente.

Teniendo en cuenta lo anterior, es necesario destacar que en el mercado externo e interno la papa ha comenzado a incursionar en la transformación agroindustrial, según la FAO, (2008) el consumo mundial de la papa (*Solanum tuberosum*) está pasando del producto fresco a los productos alimentarios industriales, con valor añadido, entre los cuales se encuentran: papas congeladas, papas fritas, hojuelas, harinas, puré, entre otras, lo cual ha conducido a que el procesamiento de este tubérculo genere residuos, en donde la mayoría de los desechos líquidos y sólidos que se producen de este procesamiento se derivan de las operaciones de limpieza, lavado, pelado, corte y recorte, en donde estas operaciones crean un problema de contaminación (Mohdaly *et al.*, 2010).

Entre los residuos del procesamiento de la papa se destacan las cáscaras, las cuales representan el principal problema de eliminación de residuos para esta industria, es así como normalmente se desechan como residuo sólido o se utilizan para alimentación animal sin ningún proceso de transformación (Randuz *et al.*, 2003). Las pérdidas causadas por pelado se encuentran entre un 15% a 20% del total del peso de papa, cuando se aplican procedimientos de vapor, abrasión o peladura (Putz, 1991). En este mismo sentido Koduvayur *et al.*, (2010), reporta un promedio de 12% de pérdida por pelado de papa.

Sin embargo, la cáscara de papa ha mostrado ser una buena fuente de fibra dietética y rica en ácidos fenólicos, especialmente de ácido clorogénico, gálico, protocatecuico y ácido cafeico, por tanto los compuestos antioxidantes extraídos de la cáscara de papa pueden ser una alternativa para dar valor añadido a este subproducto (Toma *et al.*, 1979; Onyeneho *et al.*, 1993; Kanatt *et al.*, 2005 & Zia-ur-rehman *et al.*, 2004).

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.

En vista de lo anterior 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. La extracción de compuestos antioxidantes

a partir de la cáscara de papa, sería una innovación agroindustrial para el aprovechamiento de un residuo proveniente de la industria de modo que se encuentren nuevas opciones para el uso racional de los residuos.

Así, el panorama general planteado amplía el interés de muchos investigadores y empresarios alrededor de este tema, como una alternativa para mejorar las condiciones de la cadena productiva de la papa.

De ahí, que la Gobernación de Nariño, (2012) en su plan de desarrollo departamental Nariño Mejor 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 transferir la tecnología desarrollada a los procesos productivos en cada subregión, así mismo 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 este mismo documento, se prioriza a la papa como una cadena productiva de interés para la región.

Así mismo, en el Plan Estratégico Departamental en Ciencia Tecnología e Innovación de Nariño, se plantea la línea de investigación en agro-industrialización de la papa (Portilla, 2012), en la cual se contempla una serie de ítems de los cuales además de proponer la Investigación para el desarrollo y validación de nuevos productos, presentaciones y líneas de procesamiento de la papa, evaluar sus potencialidades, usos y procesos para generar mayor valor agregado en el Departamento, también se contempla las Investigaciones del uso de los desechos de la papa a nivel de finca e industria.

En este contexto con el presente proyecto de investigación se pretende responder a las siguientes preguntas:

- ✓ ¿Cuál es el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de los extractos de la cáscara de tres variedades de papa (*Solanum tuberosum*) cultivadas en el Departamento de Nariño?
- ✓ ¿Cuáles son los mejores parámetros de extracción de compuestos con actividad antioxidante a partir de cáscara de papa?

2. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, la ingesta de alimentos con altos niveles de grasa y calorías, se asocia a enfermedades crónicas como la aterosclerosis, la neurodegeneración, el envejecimiento, el cáncer y la diabetes. (Brunetti *et al.*, 2009; Duracková, 2010; Khandrika *et al.*, 2009). Estos problemas se atribuyen generalmente a factores endógenos y exógenos creando un estrés oxidativo que provoca desequilibrio en los radicales libres. Bajo estas circunstancias la ingesta sustancias antioxidantes como compuestos fenólicos, flavonoides, tocoferoles y ácido ascórbico, presentes en frutas y hortalizas, protegen al cuerpo humano de enfermedades crónicas y degenerativas, además de su baja toxicidad respecto a los compuestos sintéticos empleados actualmente en la industria (Morganti, 2009).

Además, con relación a la industria alimentaria, la oxidación de lípidos es uno de los procesos más importantes en el deterioro de la calidad de alimentos relacionados con lípidos (aceites) y esto conduce a grandes pérdidas económicas para estas industrias, es así como la adición de antioxidantes sintéticos tales como butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT) y butilhidroquinona terciaria (TBHQ) pueden controlar la oxidación de lípidos en los alimentos (Sobedio *et al.*, 1991). Sin embargo, el uso de antioxidantes sintéticos tales como BHT se ha restringido debido a sus riesgos para la salud y su toxicidad (Linderschmidt *et al.*, 2006). Por lo tanto, la importancia de la sustitución de los antioxidantes sintéticos con ingredientes naturales se ha incrementado en gran medida, los cuales sean capaces de retardar la oxidación de los lípidos (Kim SY *et al.*, 1994; Frankel *et al.*, 1996; Koduvayur *et al.*, 2010)

De igual manera Castañeda *et al.* (2008) mencionan que las tendencias mundiales de la alimentación, en los últimos años, indican un interés acentuado de los consumidores hacia ciertos alimentos que, además de contener nutrientes, contengan sustancias fisiológicamente activas que cumplan, al igual que los nutrientes esenciales, una función beneficiosa en la reducción de ciertas enfermedades, es ahí donde la demanda de antioxidantes naturales se hace cada vez más grande debido a las dudas sobre la seguridad a largo plazo, las restricciones en muchos países, así como la percepción negativa de los consumidores de los antioxidantes sintéticos (Bannawart & Toledo, 1999).

Según Neira y Yuri, (2004) las causas ambientales (radiación), así como la ingesta de algún contaminante o incluso como consecuencia de nuestro propio metabolismo, surgen algunas moléculas que nos pueden provocar daño. A estas se les conoce como especies oxígeno reactivas (ROS), que se asocian a enfermedades como cáncer, problemas cardíacos o al natural envejecimiento humano.

Consciente de lo anterior, la agroindustria busca 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; Siddhuraju & Becker, 2007).

Según Rehman *et al.* (2004) el extracto de la cáscara de papa probó poseer una potente actividad antioxidante, concluyendo que este extracto natural es una alternativa que permite reemplazar a los antioxidantes sintéticos para la conservación de alimentos.

Onyeneho & Hettiarachchy, (1993) y Rodríguez *et al.* (1994) mencionan que los extractos de cáscara de papa en solución acuosa son una fuente de ácidos fenólicos, entre los cuales está el ácido clorogénico, gálico, protocatecuico y cafeico.

Abdelazim *et al.* (2010) realizaron un análisis de la eficacia antioxidante de los extractos de cáscara de papa y remolacha azucarera con respecto a la protección de aceites vegetales, en comparación con los antioxidantes sintéticos, de esta manera el orden de eficiencia antioxidante que encontraron fue: TBHQ > cáscara de papa > BHT = pulpa de remolacha azucarera > BHA. Pero antioxidantes sintéticos como el TBHQ y el BHA, no se encuentran en la lista de los compuestos legalmente reconocidos como seguros (GRAS) (Goli *et al.*, 2005). Debido a estas preocupaciones, hay una tendencia creciente entre los científicos de alimentos para sustituir a estos antioxidantes sintéticos con los naturales (Yanishlieva y Marinova, 2001).

Lo anterior, evidencia la potencialidad del extracto de la cáscara como un antioxidante es decir una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas (Castañeda *et al.*, 2008), permitiendo que las células no sufran oxidación o que se mantengan en un equilibrio para los procesos de óxido-reducción que ocurren en forma natural dentro del organismo. La actividad antioxidante de los fenoles es el origen de funciones biológicas tales como la antimutagénica, anticancerígena y antienviejecimiento (Velioglu *et al.*, 1998).

Estos hallazgos sugieren la utilidad del extracto de cáscara de papa como antioxidante natural en lugar de los antioxidantes sintéticos para la conservación de alimentos de origen graso y aceites, con la ventaja de que al ser un producto natural no tendría los efectos tóxicos que se observan con los compuestos sintéticos

Además, los antioxidantes naturales son apreciados porque pueden ser usados en el diseño de alimentos benéficos para la salud (funcionales o nutraceúticos), la importancia de los antioxidantes es crucial para la salud, debido a su capacidad de neutralizar radicales libres, que contienen uno o más electrones desapareados (Thomas, 2000), siendo responsables de muchas enfermedades degenerativas, cataratas, arterioesclerosis, muerte celular y cáncer, asimismo por su capacidad de eliminar y atrapar potencialmente a los electrófilos dañadores del ADN, metales tóxicos, hasta la inhibición de enzimas activadoras de precarcinógenos, hasta carcinógenos (Friedman, 1997). El antioxidante al colisionar con el radical libre le cede un electrón, oxidándose a su vez y transformándose en un radical libre débil no tóxico (Perón *et al.*, 2001; Zheng y Wang, 2001).

El mercado de estos productos es uno de los más emergentes, con niveles de venta de 12,9 billones de dólares en el año 2001, proyectándose un crecimiento para el año 2010 de 25,8 billones de dólares (Sloan, 2002).

Debido a que el rechazo es cada vez mayor por parte de los consumidores hacia el uso de antioxidantes sintéticos, como por ejemplo el BHA y el BHT y además, dadas las restricciones legales levantadas hacia estos productos, se ha potenciado el empleo de antioxidantes naturales, libres de compuestos químicos sintéticos, como los ácidos fenólicos, los flavonoides y los tocoferoles (Zancan *et al.*, 2002; Yépez *et al.*, 2002).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Extraer y cuantificar compuestos con actividad antioxidante de la cáscara de papa (*Solanum tuberosum*) de tres variedades: diacol capiro, parda pastusa y roja nariño, como una alternativa que permitan la utilización integral de este subproducto.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Determinar los mejores parámetros (solvente, tiempo de contacto, tamaño de partícula) para el proceso de extracción de los compuestos antioxidantes a partir de cáscara de papa.
- ✓ Evaluar el contenido de compuestos fenólicos en los extractos obtenidos a partir de las cáscaras de papa.
- ✓ Evaluar la actividad antirradical *in-vitro* de los extractos de cáscara de papa, por medio de los radicales: 2,2 azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico) (ABTS^{•+}) y 2,2- difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH[•]).

4. MARCO TEÓRICO

4.1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

El cultivo de la papa se originó en los Andes Suramericanos y ha sido cultivada y mejorada al menos durante ocho mil años. Se conocen dos mil especies del género *Solanum* al cual pertenece la papa. Alrededor de ciento ochenta especies de papa producen tubérculos; de ellas ocho especies se cultivan como alimento, pero sólo *Solanum tuberosum* es de distribución mundial (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2007).

La papa (*Solanum tuberosum*) es fuente de proteína de alto valor biológico, que tiene una relación favorable de caloría proteínica y caloría total, y fuente importante de vitaminas y minerales (Pyler, 1973; Andre *et al.*, 2007), lo cual la ha convertido en un cultivo estratégico en la producción de alimentos a nivel mundial (Quintero *et al.*, 2009).

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. Existen dos zonas de producción marginal en las cuales los principales factores limitantes son: enfermedades y plagas hacia el clima templado entre 1.500 y 2.000 m, y heladas en las zonas altas entre 3.500 y 4.000 de altitud. El 90% de la producción comercial de papa se realiza en terrenos de ladera y el 10% en suelos planos mecanizables (Martínez, 2006).

Existen una gran cantidad de variedades de papa, las cuales difieren principalmente en características de periodo vegetativo, rendimiento comercial, calidad industrial y nivel de sensibilidad a plagas y enfermedades. De esta manera, según FEDEPAPA, (2005) en Colombia se cultivan 30 variedades de papa, dentro de las cuales las de mayor valor comercial se destacan: La variedad Parda Pastusa que es la más cultivada y la de mayor consumo en fresco a nivel nacional. En segundo lugar está la Diacol Capiro, conocida como R12 negra, que se utiliza como materia prima para la industria, producto de exportación y para consumo en fresco, siendo la más cultivada en el Departamento de Antioquia (90%), la ICA-Puracé, utilizada preferentemente en algunas regiones del país (climas templado y cálido) para consumo en fresco; y la variedad Roja Nariño, la cual se caracteriza por su alta tolerancia a enfermedades como la gota, altos rendimientos y excelentes condiciones culinarias y de comercialización.

Además, la papa (*Solanum tuberosum*) se considera una buena fuente de antioxidante, tales como el ácido ascórbico, el α -tocoferol, ácido clorogénico y algunos compuestos polifenólicos. Sin embargo, la mayor parte de los estudios se

han centrado en la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. Los extractos etanólicos de la papa muestran una marcada actividad como donantes de hidrógenos, medida según el método del 1,1- difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH[•]) así, las papas coloradas y su cáscara posee una actividad antioxidante mayor que las variedades blanca y amarilla (Pokorny *et al.*, 2005).

La papa es fuente de fenoles los cuales son responsables del pardeamiento enzimático y pueden causar un deterioro durante el almacenamiento o procesamiento. Sin embargo los fenoles presentes en la papa tienen los siguientes efectos benéficos sobre la salud: muestran una fuerte actividad antioxidante especialmente los que se encuentran en la cáscara. El ácido clorogénico ha sido reportado como una sustancia que inhibe algunos procesos relacionados con la iniciación de cáncer. Los fenoles de la papa, legumbres y cereales reducen los niveles de glucosa presentes en la sangre. Pruebas de laboratorio han mostrado que el ácido clorogénico y otros fenoles tienen una fuerte actividad antioxidante sobre lipoproteínas que se relacionan directamente con enfermedades cardíacas (Monti, 2000).

4.2 RADICALES LIBRES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.

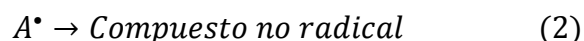
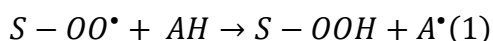
4.2.1 Generalidades de los radicales libres. Los radicales libres son especies químicas con un electrón desapareado o impar en el orbital externo de su estructura atómica. Esta característica hace que tengan una alta reactividad frente a moléculas presentes en la estructura de las células como: carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y sus respectivos derivados (Halliwell, 1989). La producción de radicales libres se debe al metabolismo normal de la célula, siendo la mitocondria su principal productor por lo tanto estos también se localizan en los tejidos (Rodríguez *et al.*, 2001). Cuando el tejido alberga una concentración elevada de radicales libres (estrés oxidativo), pueden presentarse problemas como la arteriosclerosis, el envejecimiento prematuro y el cáncer entre otros (Toshida *et al.*, 2003).

A bajas concentraciones los radicales libres son necesarios para el buen funcionamiento celular estimulando la proliferación celular y/o actuando como mediadores para la activación de las células. Sin embargo, un exceso de los mismos puede acumularse hasta niveles tóxicos dando como resultado que se produzcan diversas acciones sobre el metabolismo de los principios inmediatos, que pueden ser origen del daño celular (Davies, 1995).

La capacidad que tenga cada radical libre para actuar como agente oxidante está determinada por factores como su reactividad, especificidad, selectividad y difusibilidad. Son responsables del daño oxidativo de macromoléculas biológicas

como el DNA, lípidos, carbohidratos y proteínas. Participan en los mecanismos fisiopatológicos de muchas enfermedades, como algunos tipo de cáncer, diabetes, patologías cardiovasculares, procesos reumáticos, patologías gastroentéricas, afecciones broncopulmonares o procesos neurodegenerativos (Rodríguez *et al.*, 2001).

4.2.2 Compuestos Antioxidantes. Debido a que la generación de radicales libres se da por el simple hecho de respirar, se necesita compuestos que impidan su formación y otros capaces de neutralizarlos, como es el caso de los antioxidantes, que son inhibidores de la oxidación de biomoléculas. Un antioxidante potente posee una habilidad significativa para capturar el radical piróxilo por medio de la donación de su átomo de hidrógeno a la especie radical. La actividad antioxidante es una actividad típica basada en una reacción química como la que se indica en las ecuaciones 1 y 2 (Toshida *et al.*, 2003).



Donde **S** es el sustrato de la oxidación, **AH** es el antioxidante y **A[•]** es el radical generado a partir del antioxidante.

De esta manera los antioxidantes pueden ser definidos como moléculas capaces de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas (Castañeda *et al.*, 2008). El antioxidante al colisionar con el Radical Libre (RL) le cede un electrón, oxidándose a su vez y transformándose en un RL débil no tóxico (Perón *et al.*, 2001; Zheng y Wang, 2001). Los antioxidantes pueden actuar de diversos modos: previniendo la formación de ROS, interceptando el ataque de ROS, secuestrando los metabolitos reactivos y convirtiéndolos en moléculas menos reactivas, facilitando la reparación del daño causado por ROS, manteniendo un ambiente favorable para la actuación de otros antioxidantes y/o amplificando la resistencia de las dianas biológicas sensibles al ataque de ROS. (Medina, 1989)

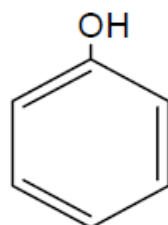
Esta denominación engloba a un grupo de sustancias que representan estructuras químicas y mecanismos de acción muy variados. El mecanismo de acción más importante consiste en su reacción con radicales libres lipídicos y conlleva a la formación de productos inactivos. Estos compuestos habitualmente reaccionan con los radicales libres piróxilo o alcóxilo que se forman por descomposición de los hidroperóxidos lipídicos (Pokorny *et al.*, 2005).

4.2.3 Clasificación de los Antioxidantes. Entre las numerosas clasificaciones de los antioxidantes, existe una que los dividen: exógenos o antioxidantes que ingresan a través de la cadena alimenticia y, endógena que son sintetizados por la célula. Cada antioxidante posee una afinidad hacia un determinado radical libre o hacia varios (Rodríguez *et al.*, 2001).

Thomas, (2000) menciona lo crucial de los antioxidantes para la salud, debido a su capacidad de neutralizar radicales libres, que contienen uno o más electrones desapareados, siendo responsables de muchas enfermedades.

De esta manera dentro de los compuestos con actividad antioxidante se encuentran los fenoles para los cuales, existen estudios realizados con compuestos polifenólicos y especialmente con flavonoides, que demuestran su capacidad antioxidante (Kuskoski *et al.*, 2004). Su potencial antioxidante es dependiente del número y de la posición de los grupos hidroxilos y su conjugación, así como de la presencia de electrones donadores en el anillo estructural, debido a la capacidad que posee el grupo aromático de soportar el desapareamiento de electrones por desplazamiento del sistema de electrones (Ramírez *et al.*, 2000).

Figura 1. Estructura fenol



Fuente. Este estudio

Es así como Kuskoski *et al.* (2004); Brown, (2005) y Reddivari *et al.* (2007), indican que los compuestos polifenólicos demuestran capacidad antioxidante y una significativa contribución en la dieta, así como su efecto en la prevención de diversas enfermedades tales como: enfermedades cardiovasculares, cancerígenas y enfermedades neurológicas. En este sentido los intereses actuales del uso de antioxidantes naturales se deben a sus propiedades funcionales (Scalbert *et al.*, 2005). Leidy

4.3 COMPUESTOS FENÓLICOS EN LAS PLANTAS

Los compuestos fenólicos son sustancias que se encuentran en las plantas como productos del metabolismo secundario. Poseen anillos aromáticos sustituidos por grupos hidroxilo y derivados funcionales de ésteres, metilésteres, glicósidos, etc. Existe una gran variedad que va desde moléculas simples, como los ácidos fenólicos, hasta la formación de polímeros. La mayoría tienen una estructura química que les permite donar protones o electrones, lo cual les confiere propiedades antioxidantes (Kinsella *et al.*, 1993).

Comúnmente, estos metabolitos se encuentran en forma de glicósidos solubles en agua y solventes orgánicos (Shahidi & Naczk, 1995). Actualmente este grupo de compuestos presentan un gran interés gracias a su actividad biológica. Además, muchas de las propiedades beneficiosas descritas en los alimentos de origen vegetal, son asociadas a la presencia de compuestos fenólicos (Martínez y Periago, 2000). Se pueden clasificar en dos grupos: flavonoides y no flavonoides, dentro de los cuales existen divisiones que difieren entre sí por varios factores como la estructura química de las molécula, el grado de oxidación de sus componentes etc (García *et al.*, 2005).

Además, estos compuestos son factores determinantes en la calidad sensorial y nutricional de frutas, verduras y otras plantas, presentan diferentes estructuras químicas y actividad, englobando más de 8.000 compuestos distintos. Su forma más frecuente es la de polímeros o lignina insoluble, mientras que su presencia en los tejidos animales está relacionada con el consumo e ingestión de alimentos vegetales. (Tomas - Barberan *et al.*, 2000; Lapornik *et al.*, 2005). La distribución de los compuestos fenólicos en los tejidos y células vegetales varía considerablemente de acuerdo al tipo de compuesto químico que se trate, situándose en el interior de las células o en la pared celular.

Respecto a la papa (*Solanum tuberosum*) esta es fuente de antioxidantes, debido a que el tubérculo presenta compuestos fenólicos como: polifenoles, fenoles monohídricos, cumarinas, flavonas, taninos y lignina (Lisinska y Leszczynski, 1989), la característica antioxidante se debe a la reactividad del grupo fenol (Robbins, 2003) lo cual le da un efecto beneficioso para la salud humana.

4.4 ESTUDIOS SOBRE EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES.

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.

Los compuestos fenólicos se han extraído por secado, trituración, o liofilización de frutas, verduras y hierbas, y por inmersión de plantas frescas con una posterior extracción con disolventes (Merken y Beecher, 2000).

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 (Hayouni *et al.*, 2007; Pinelo *et al.*, 2004; Rubilar *et al.*, 2003). 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 esteres y glucósidos solubles). (Escarpa *et al.*, 2002; Mattila & Kumpulainen, 2002; Russell *et al.*, 2008).

Paladino y Zuritz, (2007), obtuvieron un antioxidante natural a partir de semillas de uva, los autores emplearon distintos solventes para la extracción de fenoles, determinando su concentración final por el método de Folin-Ciocalteu. Dentro de los solventes utilizados para la extracción de fenoles se encontraban agua destilada a 90°C, alcohol metílico al 70% a 30°C, acetona al 75% a 30°C y alcohol etílico al 20% a 30°C. La relación sólido-líquido empleada fue de 1:10 y los solventes fueron adicionados al tiempo del tratamiento que fue de 4 horas. El extracto concentrado fue secado en lecho de espuma y liofilizado, para posteriormente comparar la actividad antioxidante con respecto a antioxidantes comerciales como ácido ascórbico y dióxido de azufre. Los resultados mostraron que el extracto obtenido utilizando agua presentó una concentración de 12.587 mg de fenoles totales por gramo de semilla de uva, superior a los otros métodos. Este extracto se concentró al vacío a 60°C verificando su poder reductor en un extracto obtenido a partir de jugo de manzana, concluyendo que el extracto concentrado aumentó 29.57 veces su concentración en fenoles y en 37.39 veces su poder antioxidante. Además el extracto líquido concentrado inhibió en mayor proporción la oxidación del jugo de manzana respecto al extracto líquido sin concentrar, y presentó una actividad mayor con respecto a los antioxidantes comerciales.

Peschel *et al.* (2006), estudiaron la extracción de polifenoles de once productos derivados de frutas y verduras, encontrándose el contenido más alto para extractos con actividad antioxidante en la manzana, pera, tomate, seguido por frutos secos y alcachofas. La extracción de polifenoles se realizó en tres etapas. En la primera las materias primas fueron tratadas con agua, metanol, etanol, acetona y hexano en una relación sólido - líquido 10:1, para ser luego almacenadas en recipientes cerrados a 25 °C durante 4 horas. Después el material fue filtrado y se determinó el contenido de sólidos totales. El material vegetal cribado primario que se obtuvo de la primera etapa fue separado con etanol/agua (50:50) y acetona/agua (80:20) similar al proceso anterior. Los extractos obtenidos se concentraron al vacío y se fraccionaron utilizando un

sistema de liquido/liquido usando agua/butanona y agua/butanol. Las fracciones obtenidas se filtraron y se concentraron al vacio, secados en un horno a temperaturas menores a 60°C obteniéndose al final una fracción acuosa y una fracción con el extracto crudo de polifenoles de cada materia prima empleada. Los autores concluyeron que los frutos secos presentaron una mayor actividad antioxidante con respecto a la alcachofa.

Restrepo *et al.* (2009), extrajeron compuestos con actividad antioxidante a partir de la guayaba, la extracción de compuestos se realizó con 50% de metanol, la relación volumen/material, temperatura, tiempo y extracciones con el 70% de acetona para evaluar los compuestos fenólicos totales de la extracción y actividades antioxidantes en la guayaba. Los resultados obtenidos mostraron que el mejor rendimiento se obtuvo cuando 0.5g de guayaba se extrajo por primera vez con 20 mL de metanol al 50% y cuatro veces con 20 mL de acetona al 70% durante 30 minutos a 50°C. La extracción de compuestos con actividad antioxidante se procedió en una primera etapa con la adición a la muestra de 2,0 mL. La extracción de compuestos con actividad antioxidante se realizó pesando 1.0g de muestra y adicionando 2 mL de metanol: agua (50:50, v/v), la mezcla se colocó en un agitador magnético por una hora a temperatura ambiente y se centrifugó a 1493 g durante 10 minutos almacenado al final el sobrenadante a -20°C. El residuo fue sometido a una segunda extracción con 2 mL de acetona: agua (70:30 v/v) a temperatura ambiente durante una hora y se realizó una centrifugación igual a la anterior. Los dos sobrenadantes fueron reunidos y almacenados a -20°C en oscuridad durante 24 horas para realizar el análisis de la actividad antioxidante y la cuantificación de compuestos fenólicos.

4.5 ESTUDIOS CON CÁSCARA DE PAPA

Weshahy *et al.* (2011), evaluaron la influencia de diferentes condiciones de almacenamiento en el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante de la cáscara de papa de las variedades penta y marcy, originarias de Canadá, Los resultados indican que la cáscara de la variedad penta presentó mayor contenido de compuestos polifenólicos y que el ácido clorogénico y cafeico fueron los principales compuestos polifenólicos presentes en ambas variedades, afirmando que la cáscara de papa, es una fuente valiosa de polifenoles, además, los autores concluyeron que el contenido de compuestos polifenólicos, en la cáscara fueron influenciados por la temperatura de almacenamiento con una pérdida máxima observada en 25 °C y el tiempo de almacenamiento causó una disminución en los niveles de compuestos polifenólicos hasta cuatro semanas en todas las temperaturas evaluadas, seguidas de un aumento significativo en el final de la semana ocho.

Koduvayur *et al.* (2010), realizaron la extracción de la fracción fenólica de dos variedades de papa, sava y bintje, utilizando como solventes para la extracción

etanol y agua y examinaron su capacidad antioxidante en sistemas in vitro, en donde evaluaron el efecto de estos extractos en la estabilidad de almacenamiento de una mezcla de aceite de pescado–colza y de una emulsiones de aceite en agua, los autores reportan múltiple actividad antioxidante de los extractos de cáscara de papa en los sistemas in vitro, ya que mostraron un fuerte poder de reducción y captación de radicales libres, iones ferrosos y pueden prevenir la oxidación en un modelo de sistema de liposomas, la cáscara de papa de la variedad sava, presentó la mayor actividad antioxidante y estos resultados se encontraron cuando se utilizó etanol como solvente para la extracción, los extractos acuosos presentaron una menor actividad antioxidante, de esta manera los autores establecen que extractos etanólicos de cáscara de papa variedad sava impidieron la oxidación lipídica en emulsiones y en aceite.

Rehman *et al.* (2004), en su investigación: La utilización del extracto de cáscaras de papa como un antioxidante natural en el aceite de soja, permitió demostrar la potente actividad antioxidante del extracto de cáscara de papa que el extracto de la cáscara de papa obtenido con éter de petróleo posee una potente actividad antioxidante sobre el aceite de soja, concluyendo que este extracto actúa minimizando los efectos no deseados de la oxidación de los lípidos alimentarios, al punto de reemplazar los antioxidantes sintéticos; sin embargo, se requieren niveles 8-12 veces mayores del antioxidante natural para obtener el mismo efecto que con los sintéticos.

Kanatt *et al.* (2005), estudiaron la utilización de cáscara de papa como un antioxidante para la conservación de alimentos en la industria cárnica. El extracto de cáscara de papa mostró contenidos altos en fenoles principalmente ácido clorogénico que aumentó su rendimiento cuando se sometió junto con la carne a un proceso de irradiación. Los fenoles presentes en la cáscara de papa disminuyeron el proceso de oxidación con respecto a los extractos comerciales usados en la conservación de la carne como el butil hidroxitolueno (BHT).

Wijngaard *et al.* (2012), optimizaron el proceso de extracción de polifenoles a cáscara de papa, utilizando métodos de extracción solido-liquido y liquido presurizado. Los resultados encontrados para la actividad antioxidante en la extracción solido-liquido, usando etanol al 75%, a 80°C durante 22 minutos fueron de 352 mg equivalentes de Trolox/100 g de cáscara seca.

Weshahy & Rao, (2009), realizaron un estudio para estimar el contenido de polifenoles y antioxidantes de cáscaras de seis variedades de papa (Vivaldi, Yukon Gold, Dakota Pearl, FL 1533, Siècle y variedades Purple Majesty), cultivadas en Ontario, Canadá, la extracción fue realizada con metanol y se analizaron por el método de Folin-Ciocalteu, poder antioxidante reductor (FRAP) y actividad antioxidante expresada en equivalentes trolox. Los compuestos fenólicos específicos presentes en la cáscara de papa se midieron usando cromatografía

liquida de alta resolución (HPLC), reportando ácido clorogenico y ácido cafeico como compuestos fenólicos mayoritarios.

Además varios estudios han demostrado que el extracto de la cáscara de papa puede ser una fuente potencial de ingredientes y alimentos funcionales para mejorar la salud humana. Por ejemplo, el extracto de la cáscara de papa mostró actividades antioxidantes muy fuertes casi equivalentes a las de los antioxidantes sintéticos como el BHA y el BHT (Rehman *et al.*, 2004). Por esta razón, se ha explorado como antioxidantes para evitar la oxidación de los aceites vegetales (Mohdaly *et al.*, 2010; Rehman *et al.*, 2004).

Ávila *et al.* (2002), evaluaron la eficacia de los extractos crudos obtenidos a partir de cáscara de papas como un antioxidante en vitro para la industria cárnica. Se extrajo materia prima acuosa y purificada de extracto con valores entre 84% y 94% para los dos extractos que inhibieron la oxidación de la carne de cerdo. El extracto fue extraído por centrifugación sometiendo las cáscaras a un secado en horno y un tratamiento con una solución hidro etanólica, para posteriormente filtrar el sobrenadante una solución de etanol. Los filtrados fueron combinados fueron reunidos y el etanol fue evaporado a 40°C en un evaporador rotatorio. El extracto purificado y el acuoso fueron refrigerados y protegidos con luz para su cuantificación. La actividad antioxidante se determinó por la prueba de oxidación acelerada en gramos de grasa de carne de cerdo, calentando la muestra y el extracto entre 100-110°C durante 1 hora. El extracto purificado mostró mayor rendimiento de compuestos fenólicos en comparación con el extracto acuoso.

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 obtuvieron 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. El extracto se obtuvo sometiendo a la papa fresca con y sin cáscara a un tratamiento previo con agua destilada al 25% que se filtro y se centrifugó a 1200rpm durante 30 minutos. El sobrenadante se separó para realizar la determinación de la capacidad antioxidante. Se tomó una alícuota del sobrenadante y se realizó una dilución en metanol en proporciones que se encontraban de 1:3 a 1:6, mezclándose y centrifugándose a 1500 rpm por 20 minutos, el sobrenadante final que se obtuvo se utilizó para la determinación de la capacidad antioxidante.

4.6 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

Tradicionalmente, la extracción de compuestos con propiedades antioxidantes, se ha realizado mediante técnicas donde emplean solventes orgánicos, en las cuales se combinan diferentes parámetros en cuanto a temperatura, tiempo de tratamiento, grado de molienda, agitación, relación sólido - líquido y en el solvente orgánico empleado: agua, metanol, etanol, acetato de etilo, entre otros, tal es el caso de los siguientes autores quienes emplearon como solventes etanol y metanol (Kanatt *et al.*, 2005; Palomino *et al.*, 2009; Koduvayur *et al.*, 2010; Mattila & Hellstrom, 2007; Weshahy & Rao, 2009; Xiaoyun *et al.*, 2009; Amr y Al-Tamimi, 2007; Awika *et al.*, 2005; Caridi, *et al.*, 2007; Lapornik *et al.*, 2005).

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. Para la extracción de compuestos con carácter hidrofílico se han utilizado metanol, etanol, mezclas de etanol/agua, acetona/agua y metanol/agua así como extracción en medio ácido (pH=2) con metanol/agua, seguida de acetona/agua y agua/acetonitrilo en medio ácido, todos ellos ensayados en diferentes proporciones. Recientemente se ha observado que el tipo de disolvente y la polaridad puede afectar a la transferencia del electrón singlete y a la del átomo de hidrogeno, los cuales son esenciales en la medida de la capacidad antioxidante. Así mismo, la presencia de compuestos no antioxidantes (ciertos aminoácidos y ácidos uránicos) en los extractos ensayados, también pueden afectar a estos resultados. (Pérez, Jiménez & Col, 2006).

Es así como, el tipo de aislado antioxidante obtenido, los rendimientos de extracción y la actividad antioxidante de los extractos dependen del tipo de disolvente utilizado, debido al diferente potencial antioxidante de compuestos con distinta polaridad (Julkunen-Tiito, 1985; Marinova y Yanishlieva, 1997). Los disolventes apolares son los más utilizados para la extracción de compuestos fenólicos de medios acuosos. Se han empleado acetato de etilo, etanol, metanol y dietil-éter para la extracción de compuestos fenólicos de bajo peso molecular de madera de roble (Fernández de Simón y Col., 1996), observándose que los compuestos polifenólicos extraídos con acetato de etilo a partir de diferentes sustratos naturales presentan una elevada capacidad antioxidante (Marinova y Yanishlieva, 1997). Sin embargo, el etanol y el agua son los disolventes más frecuentemente utilizados por razones de ausencia de toxicidad y abundancia, respectivamente.

De esta manera se pueden destacar las siguientes extracciones:

4.6.1 Extracción líquido-líquido. Operación de transferencia de masa en la que una solución líquida (el alimento) contiene uno o más solutos que se mezcla con un líquido inmiscible (disolvente). Este contacto genera el extracto (solución del solvente rico que contiene el soluto extraído) y el refinado (soluciones residuales con bajo contenido de soluto). La extracción líquido-líquido es utilizada frecuentemente para la extracción de compuestos fenólicos usando con frecuencia el líquido de subproductos industriales como los derivados de la industria de bebidas (Pinelo, *et al.*, 2004)

4.6.2 Extracción sólido-líquido. Fenómeno de transporte de masa en la cual los sólidos contenidos en una matriz sólida migran en un disolvente en contacto con esta. Este fenómeno de transporte se puede mejorar por los cambios en los gradientes de concentración, coeficiente de difusión o cambio de capa límite (Corrales, *et al.*, 2009).

La extracción sólido-líquido es ampliamente usada para recuperar alimentos importantes como sacarosa (caña o remolacha), lípidos de las semillas oleaginosas, proteínas de semillas oleaginosas, los fitoquímicos de plantas, hidrocoloides funcional de algas y compuestos polifenólicos de plantas, frutas, verduras, etc. 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 (Hayouni, *et al.*, 2007; Pinelo *et al.*, 2004; Rubilar *et al.*, 2003).

4.7 METODOS DE ANALISIS PARA LA DETERMINACION DE FENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

La determinación de la actividad antioxidante de los alimentos es importante para predecir el potencial antioxidante *in vitro* de los mismos antes de ser ingeridos; así mismo, nos permite determinar la protección frente a la oxidación y el deterioro del alimento que disminuye su calidad y valor nutricional (Medina, 1989).

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. Lo ideal sería medir la actividad antioxidante de cada componente de la muestra por separado, sin embargo, y sobre todo en el caso de muestras naturales, es muy difícil

determinar el número y concentración de los compuestos antioxidantes presentes en la muestra (Pérez, Jiménez & Col, 2006).

En la actualidad, debido a la complejidad de los procesos de oxidación, no existe un método que refleje de forma completa el perfil antioxidante de una muestra, por tanto, es bueno trabajar con varios métodos para facilitar la comparación e interpretación de los resultados. Las características “ideales” que debe reunir un método de determinación de capacidad antioxidante son: sencillez, mecanismo químico definido y punto final fijo, reproducibilidad, adaptabilidad a sustancias antioxidantes hidrofílicas y lipofílicas y elevado rendimiento de análisis (Medina, 1989).

4.7.1 Determinación de fenoles totales. Para determinar la cantidad de fenoles en una muestra, existe un método desarrollado por Folin y Ciocalteu en 1927. Este método consiste en someter la muestra a la acción del reactivo Folin-Ciocalteu el cual está formado por mezcla de ácido fosfotúngstico ($H_3HW_{12}O_{40}$) y ácido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Los compuestos fenólicos se reducen generando una mezcla de óxidos azules de wolframio (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}) produciendo un espectro de absorción con una longitud de onda máxima ($\lambda_{m\acute{a}x}$) de 765 nm proporcional al contenido de fenoles en la muestra. Para determinar la cantidad de fenoles se realiza una curva de calibración con ácido gálico y se expresa los resultados como mg de ácido gálico/100 g de muestra (Aravena, 2004).

4.7.2 Determinación de actividad antioxidante. Por otra parte los métodos para la determinación de la actividad antioxidante se basan en comprobar cómo un agente oxidante induce daño oxidativo a un sustrato oxidante, daño que es inhibido o reducido en presencia de un antioxidante. Esta inhibición es proporcional a la actividad antioxidante del compuesto o la muestra. Sin embargo, hay ensayos que se basan en la cuantificación de los productos formados tras el proceso oxidativo (Jiménez y Villarreal, 2008).

Para la determinación de la actividad antioxidante de extractos vegetales o metabolitos, existen diversos métodos, que se basan principalmente en la generación de un radical libre el cual es sometido a la acción del antioxidante y su efecto se analiza por métodos como la espectroscopia Uv-vis (Re, 1999).

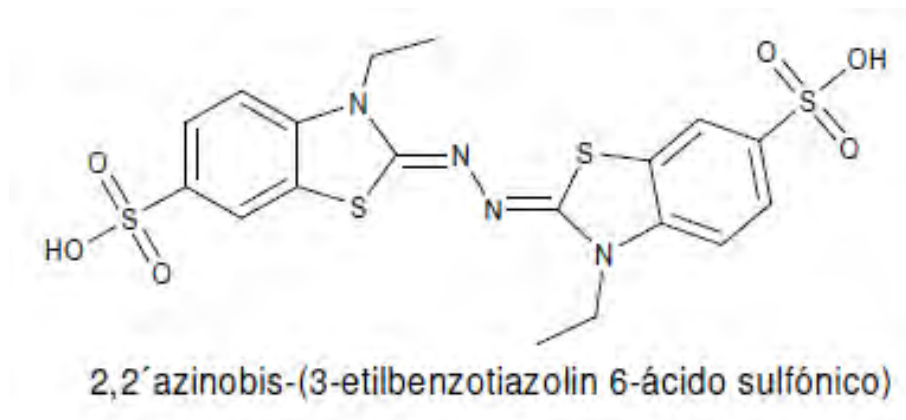
Alternativamente, diversos compuestos cromógenos (ABTS^{•+}, DPPH[•], DMPD, DMPO y FRAP) son utilizados para determinar la capacidad de los compuestos fenólicos que contienen los frutos para captar los radicales libres generados, operando así en contra los efectos perjudiciales de los procesos de oxidación, que implican a especies reactivas de oxígeno (EROS) (Arnous, *et al.*, 2002; Giusti, *et al.*, 2001 Kim, *et al.*, 2002 Re, *et al.*, 1999; Sellappan, *et al.*, 2002)

Los métodos más aplicados se realizan utilizando los radicales $\text{ABTS}^{\bullet+}$ y $\text{DPPH}^{\bullet}$ (Prior, *et al.*, 1998; Prior, *et al.*, 1999; Arnao, 2000; Antolovich, *et al.*, 2002; Montoya, *et al.*, 2003). Ambos presentan una excelente estabilidad en ciertas condiciones, aunque también muestran diferencias. El $\text{DPPH}^{\bullet}$ es un radical libre que puede obtenerse directamente sin una preparación previa, mientras que el $\text{ABTS}^{\bullet+}$ tiene que ser generado tras una reacción que puede ser química (dióxido de manganeso, persulfato potasio) (Arnao, 2000; Kuskoski, *et al.*, 2004; Re, *et al.*, 1999; Sellappan, *et al.*, 2002), enzimática (peroxidasa, mioglobulina), o también electroquímica. Con el $\text{ABTS}^{\bullet+}$ se puede medir la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica, mientras que el $\text{DPPH}^{\bullet}$ solo puede disolverse en medio orgánico (Arnao, 2000; Antolovich, *et al.*, 2002; Re, *et al.*, 1999; Fogliano, *et al.*, 1999). El radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ tiene, además, la ventaja de que su espectro presenta máximos de absorbancia a 414, 654, 754 y 815 nm en medio alcohólico, mientras que el $\text{DPPH}^{\bullet}$ presenta un pico de absorbancia a 515 nm (Kim, *et al.*, 2002; Sánchez, *et al.*, 1998).

El radical catiónico $\text{ABTS}^{\bullet+}$ es más reactivo que el radical $\text{DPPH}^{\bullet}$, por lo que la reacción transcurre completamente en 1 minuto. Desde que se describió por primera vez este método, la forma en la que se generan los radicales catiónicos ha cambiado muchas veces. El método más reciente consiste en el uso de persulfato potásico para oxidar el $\text{ABTS}^{\bullet+}$ a su radical catiónico. La actividad de captación de radicales libres por el método del $\text{ABTS}^{\bullet+}$ se expresa en la mayoría de los casos como valor TEAC (capacidad antioxidante equivalente trolox; trolox equivalent antioxidant capacity) (Pokorny, *et al.*, 2005).

4.7.2.1 El Método ABTS. Se basa en la formación del catión radical libre 2,2 azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico), conocido como radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$. El radical se prepara luego de hacer reaccionar $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (figura 2) con persulfato potásico (Kuskoski, *et al.*, 2004). La ventaja del radical es su estabilidad cuando se encuentra en refrigeración y lejos de la luz. Estos factores permiten almacenar una solución de trabajo por aproximadamente seis meses. Además este absorbe en la región cercana al infrarrojo (645, 734 y 815nm), evitando interferencias con las antocianinas (Kuskoski, *et al.*, 2004; Okezie 2002).

Figura 2. Estructura del ABTS^{•+}



Fuente. Este estudio

El método permite expresar los resultados de acuerdo a la capacidad del antioxidante para donar un hidrógeno y estabilizar al radical ABTS^{•+}. La decoloración que la solución de ABTS^{•+} experimenta en la reacción, se compara con la decoloración hecha por un antioxidante patrón derivado de la vitamina E conocido como Trolox (6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico), mediante una curva de calibración. Por esta razón el resultado se expresa como capacidad antioxidante en equivalentes trolox ó TEAC (del inglés: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) (Okezie 2002).

4.7.2.2 Método DPPH[•]. El procedimiento desarrollado por Brand y Williams en 1995 y descrito para diferentes patrones de antioxidantes por Sánchez en 1997, utiliza como radical libre el 2,2- difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH[•]) Figura 2. de color violeta. Este ensayo mide la captura de este radical a través de la disminución de la absorbancia, medida a 516 nm, que se produce por la reacción con un antioxidante (AH) o por reacción con especies radicales (R[•]) como se muestra en las ecuaciones 3 y 4.

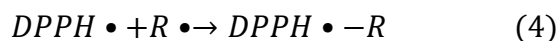
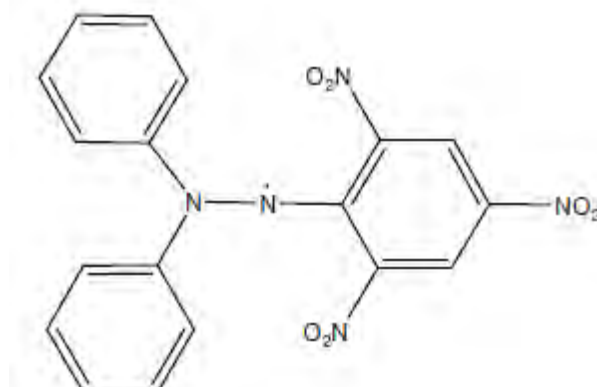


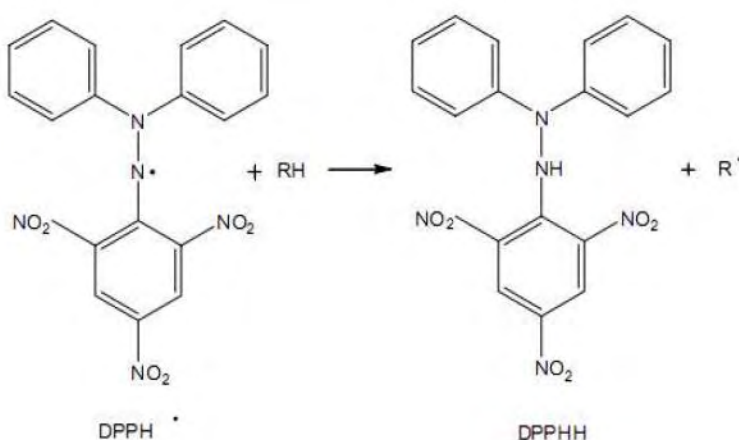
Figura 3. Estructura del radical DPPH•.



Fuente. Este estudio

Este método es empleado para sustancias liposolubles o hidrosolubles, cuando el radical libre DPPH• reacciona con el compuesto antioxidante, el radical es “atrapado” a través de la donación de un átomo de hidrógeno, el radical se reduce para formar la respectiva hidrazina, DPPH•H; y se produce una decoloración que puede medirse a través del tiempo por medio de la absorbancia de la mezcla (Okezie 2002). 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). La reacción se ilustra en la Figura 4.

Figura 4. Reacción de reducción de DPPH•, (Radical 2,2- difenil-1-picrilhidrazilo) y un compuesto antioxidante (RH).



Fuente. Este estudio

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 como se muestra en la ecuación 5.

$$\% [\text{DPPH} \bullet^*]_{\text{Remanente}} = [\text{DPPH} \bullet^*]_t / [\text{DPPH} \bullet^*]_{t=0} \quad (5)$$

El método se debe aplicar de acuerdo al tipo de antioxidantes que se desee analizar, es así como, Algunos fenoles, por ejemplo, el α -tocoferol, reaccionan rápidamente con los radicales DPPH•. Sin embargo, una serie de reacciones secundarias lentas pueden causar una disminución progresiva de la absorbancia, por lo que no puede alcanzarse el estado estacionario hasta al cabo de varias horas. En la mayor parte de los casos el método del DPPH• se ha usado para medir la captación de radicales después de 15 o 30 minutos de iniciada la reacción. El dato se expresa normalmente como valor EC50, es decir, la concentración del antioxidante necesaria para captar el 50% de los radicales DPPH• en un periodo de tiempo determinado (Pokorny, *et al.*, 2005).

Estos métodos pueden ser útiles para la búsqueda de nuevos antioxidantes, pero no cuando se pretende valorar la utilidad de un antioxidante en un alimento, ya que su actividad en este caso depende de factores tales como la polaridad, solubilidad y la actividad quelante de metales. (Pokorny, *et al.*, 2005).

5. DISEÑO METODOLÓGICO

La investigación se desarrolló a nivel experimental en la Planta Piloto de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial y Los Laboratorios Especializados de la Universidad de Nariño ubicados en el municipio Pasto (Nariño) a una altura de 2527 m.s.n.m.

La metodología se realizó en dos etapas: la obtención de los extractos a partir de cáscara de papa y la evaluación del contenido de fenoles totales, la actividad antioxidante por métodos espectrofotométricos y la identificación de compuestos fenólicos por cromatografía líquida de alta resolución.

5.1 ORIGEN Y OBTENCIÓN DE LA MATERIA PRIMA

Las cáscaras de papa (*Solanum tuberosum*) de la variedad diacol capiro fueron proporcionadas por la empresa Nariñense MISTER POLLO, dedicada a prestar el servicio de restaurante en el municipio de Pasto, Departamento de Nariño. Esta empresa suministró 1 Kilogramo de cáscara una vez culminado el proceso de pelado, utilizando para ello una peladora (Modelo DB 10 de capacidad 150 kilogramos/hora), posteriormente la cáscara se recolectó, empacó y fue trasladada hacia las instalaciones de la Planta Piloto de la Universidad de Nariño.

Las papas de la variedad parda pastusa y roja Nariño, se obtuvieron del mercado local ubicado en el sector de Bomboná de la ciudad de Pasto. Las papas fueron recepcionadas y se sometieron a operaciones de acondicionamiento (lavado y selección). Posteriormente se pelaron manualmente y se obtuvo las cáscaras necesarias para realizar los procesos de extracción.

Inicialmente las papas fueron escogidas de acuerdo a la NTC 341, es decir, variedades maduras, bien formadas, limpias, sin contaminantes químicos ni daños mecánicos. Además las papas se encontraron libres de daños y defectos fisiológicos, libres de daños causados por patógenos y libres de daños causados por insectos.

Las características de las cáscaras de papa de las tres variedades trabajadas en cuanto a composición proximal se determinaron en los laboratorios especializados de la Universidad de Nariño.

Figura 5. Recepción de la materia prima: estabilidad de almacenamiento variedades roja nariño y parda patusa



Fuente. Este estudio

Figura 6. Obtención de las cáscaras de las tres variedades de papa



Fuente. Este estudio

5.2 TRATAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA

5.2.1 Secado. Las cáscaras de las tres variedades de papa fueron secadas empleando el secador de bandejas de la Planta Piloto construido por INDUSTRIAS QUIMICAS FIQ-LTDA- CST-800, a una temperatura de 60°C con velocidad de aire de 8 m/s durante 24 horas (Figura 7).

Figura 7. Secador de bandejas FIQ-LTDA - CST-800



Fuente. Este estudio

5.2.2 Molienda y Tamizado. Las cáscaras secas fueron molidas empleando un molino de de cuchillas marca (IKA WORKS INC- M20) ubicado en los Laboratorios Especializados de la Universidad de Nariño (Figura 8), y tamizadas utilizando una tamizadora modelo (PS-35 serie 1182) en la serie de tamices (40-100, A.S.T.M.E.) por espacio de 180 segundos (Figura 9), obteniendo así el tamaño de partícula a evaluar.

Figura 8. Molino de Cuchillas
IKA WORKS INC- M20



Fuente. Este estudio

Figura 9. Tamizadora
PS-35 Serie 1182



Fuente. Este estudio

Figura 10. Obtención de la cáscara de papa con el tamaño de partícula a evaluar



Fuente. Este estudio

5.3 DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICO PROXIMAL DE LAS CÁSCARAS DE TRES VARIEDADES PAPA (*Solanum tuberosum*)

La caracterización de la materia prima se realizó mediante métodos descritos para el análisis químico de alimentos del laboratorio de bromatología de la Universidad de Nariño, basado en las técnicas de la AOAC (1997), sobre las cuales se aplican los siguientes principios.

Humedad: Corresponde el contenido de agua en porcentajes presentes en la muestra. Se determinó por el método de secado en dos pasos, un secado parcial a 65°C, seguido de un secado total a 105°C, mediante el análisis de Weende.

Cenizas: Se evaluó por el método de incineración en mufla, en el que la materia orgánica se quema y la materia inorgánica remanente se enfría y pesa.

Grasa: Se realizó una determinación mediante el método soxhlet, sobre el cual se cuantificara el porcentaje de grasa presente en una muestra determinada.

Fibra cruda: El método empleado para la determinación consistió en efectuar dos digestiones. La primera con ácido sulfúrico y la segunda con hidróxido de sodio. La finalidad del método es la de eliminar las proteínas, carbohidratos solubles, residuos de grasas, vitaminas y otros compuestos diferentes que interfieren en su

determinación. El fundamento del método es asemejar este proceso al que desempeña el organismo en su función digestiva.

Proteína cruda: Se cuantificó por el método de Kjeldalh ($\% \text{ proteína} = \% \text{N} \times 6,25$), fundamento en tres pasos: digestión de la muestra con ácido sulfúrico concentrado, en presencia de un catalizador a elevada temperatura, para transformar el nitrógeno en sulfato de amonio. La solución se alcaliniza y el amoniaco librado se destila para su posterior titulación.

5.4 OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS.

5.4.1 Preparación de las soluciones y extracción. Para realizar la extracción de los compuestos con actividad antioxidante presentes en la cáscara de papa, se prepararon soluciones de 5% p/v de cáscara de papa y los solventes grado HPLC empleados, para esto se empleó una balanza analítica DENVER APX-200 (Figura 11), las extracciones se realizaron utilizando planchas de agitación THOMAS CIENTIFIC a temperatura ambiente y 1600 rpm (Figura 12), durante cada unos de los tiempos establecidos en las matrices de diseño experimental en el numeral 5.6 (Koduvayur *et al.*, 2010).

Figura 11. Balanza Analítica de Precisión DENVER APX-200



Fuente. Este estudio

Figura 12. Planchas de agitación THOMAS SCIENTIFIC



Fuente. Este estudio

5.4.2 Centrifugación. Para la obtención de los extractos a analizar, las soluciones fueron centrifugadas empleando una Centrifuga Sigma 2-16P (Figura 13), a 2800 rpm durante 15 minutos, los sobrenadantes fueron almacenados en viales ámbar y colocados en refrigeración para su posterior análisis.

Figura 13. Centrífuga Sigma 2-16P



Fuente. Este estudio

5.5 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE FENOLES Y LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Las respectivas mediciones de absorbancia para la determinación de fenoles totales y actividad antioxidante fueron realizadas utilizando un espectrofotómetro Génesis 10UV-Vis Scanning Thermo Fisher Scientific. (Figura 14)

Figura 14. Espectrofómeto Génesis 10 UV-Vis Scanning Thermo Fisher Scientific



Fuente. Este estudio

5.5.1 Determinación de Fenoles Totales. La determinación del contenido de fenoles totales se realizó utilizando el método de Folin y Ciocalteu (1927), empleado por Kuskoski (2005) y Jiménez y Villarreal (2008). La reacción se realizó con 0,1 mL de la solución de extracto de cáscara de papa a analizar, 0,5 mL del reactivo de Folin-ciocalteu y 1,5 mL de una solución acuosa de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 20% con agua destilada. Transcurridas dos horas de reacción se tomó lectura de absorbancia a 765 nm.

De igual manera se realizó una curva de calibración con ácido gálico empleando soluciones de 50, 100, 150, 250 y 500 ppm para expresar los resultados en mg de ácido gálico/ 100 g de cáscara de papa seca. Todos los análisis fueron realizados por triplicado.

5.5.2 Determinación de la Actividad Antioxidante:

5.5.2.1 Ensayo ABTS^{•+}: Se generó el radical ABTS^{•+} tras la reacción de ABTS^{•+} 7 mM con persulfato potásico 2,45 mM, concentración final incubados a temperatura ambiente y en la oscuridad durante 24 h. Una vez formado el radical ABTS^{•+} se diluyó con metanol HPLC hasta obtener un valor de absorbancia cercana a $0,7 \pm 0,2$ en una longitud de máxima absorbancia de 734 nm. (Re *et al.*, 1999).

Para la reacción se empleó la metodología descrita por Re *et al.*, (1999) y empleada por Jiménez y Villareal, (2008), de esta manera se tomó 3 mL de la solución de ABTS^{•+} y se agregó 30 microlitros (μ L) de la solución de extracto de cáscara de papa a estudiar, agitando constantemente durante 1 minuto y transcurridos 6 minutos de reposo se tomó lectura de la absorbancia a 734 nm.

Por medio de una curva de calibración con soluciones de Trolox a concentraciones de 0,5 a 4 mM y siguiendo la metodología antes descrita se expresó los resultados en mmol de trolox/g de cáscara de papa seca, con el fin de expresar la actividad antioxidante en equivalente Trolox, el método se desarrolló por triplicado.

La funcionalidad del método se verificó con tres patrones de antioxidantes de acuerdo a lo reportado por Re *et al.*, (1999).

5.5.2.2 Ensayo DPPH[•]: La capacidad de captura de radicales libres se determinó utilizando el método de 1,1-difenil-2-picrihidrazilo (DPPH[•]). Se preparó una solución de DPPH[•] a una concentración de 0,0756 mM, a partir de esta se realizaron diluciones a 0,0025; 0,0050; 0,0075; 0,01 y 0,025 mM, para obtener una curva de calibración (curva control) de absorbancia contra concentración de DPPH[•] a una longitud de onda de 515 nm, (Brand y Williams, 1995 & Jiménez y Villareal, 2008)

De acuerdo a la metodología planteada por Jiménez y Villareal (2008), para la reacción se tomó 3,9 mL de DPPH[•] a 0,0756 y se midió su absorbancia a 515 nm. Posteriormente se adicionó 0,1 mL del extracto a analizar y se registró la disminución de absorbancia en intervalos de 0,5 minutos hasta un estado estacionario de acuerdo al extracto analizado.

El método se verificó con patrones de ácido ascórbico, ácido gálico y ácido cafeico. Los resultados obtenidos se compararon con los reportados por Sánchez *et al.*, (1997).

Se calculó el % [DPPH[•]] _{Remanente} y % de Inhibición en las muestras. Además de los parámetros E_{C50}, la Eficiencia Antirradical AE y el parámetro IC₅₀

El parámetro E_{C50} hace referencia a la concentración de antioxidante necesaria para reducir la concentración del radical inicial a la mitad y el parámetro IC_{50} corresponde a la concentración de antioxidante que inhibe el 50% del radical libre y el T_{EC50} que hace referencia al tiempo necesario para alcanzar el E_{C50} .

Con los resultados se graficó:

1. Absorbancia vs. [DPPH•]
2. % [DPPH•]_{Remanente} vs. [Antioxidante] a tiempo t
3. % [DPPH•]_{Remanente} vs. tiempo del estado estacionario
4. % Inhibición vs. [Antioxidante] a tiempo t

El porcentaje de % [DPPH•]_{Remanente} se calculó de la acuerdo a la ecuación planteada por Sánchez, (1998):

$$\% [DPPH \bullet]_{\text{Remanente}} = \frac{\% [DPPH \bullet]_t}{\% [DPPH \bullet]_{t=0}} \quad (6)$$

El porcentaje de inhibición se calculó de la acuerdo a la ecuación planteada por Sánchez, (1998):

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{[Abs_{t=0} - Abs_t]}{Abs_{t=0}} \times 100 \quad (7)$$

Eficiencia Antiradical: Sánchez en 1998 incorpora el término eficiencia anti-radical el cual permite relacionar el término EC_{50} y el T_{EC50} de la siguiente manera:

$$EA = \frac{1}{EC50 \times TEC50} \quad (8)$$

5.6 ANÁLISIS DE ÁCIDO CAFEICO EN CÁSCARAS DE PAPA POR HPLC-PDA

Se desarrolló de acuerdo a la metodología planteada por Salawu *et al.*, (2009) para lo cual 10 mL de extracto de cáscara de papa fueron rotaevaporados hasta sequedad en un rotaevaporador Eyela Oil Bath OSB-2000, se adicionaron 10 mL de acetato de etilo absoluto y la solución fue rotaevaporada nuevamente hasta sequedad, finalmente se adicionaron 5 mL de metanol y el extracto obtenido fue almacenado en viales ámbar hasta su posterior análisis.

Figura 15. Cromatógrafo Líquidos HPLC Waters



Fuente. Este estudio

5.6.1 Descripción del análisis:

Equipo: Cromatógrafo Líquidos HPLC Waters – Bomba Binaria 1525 3.2

Columna: C18 (X-Terra Waters 150mm x 4,6 mm)

Detector: PDA 2998 a 210 y 330nm Scan (200-500nm)

Inyector: RheodyneLoop de 20 μ L 3.5

Fase Móvil: Buffer Fosfato: Acetonitrilo (90:10) a pH 2,5 Flujo 0,75 mL/min

5.6.1.1 Análisis de las Muestras. El extracto metanólico de las muestras se diluyó en fase móvil y se filtró en discos acrodisc de 0,45 μ m para la inyección en el equipo HPLC (Figura 14). La identificación del ácido cafeico en las muestras se realizó mediante comparación con el tiempo de retención de estándar de ácido cafeico (Sigma-Aldrich,USA) analizado a las mismas condiciones y realizando la comparación del espectro UV-Vis del estándar y de las muestras.

5.7 DISEÑO EXPERIMENTAL

Para el desarrollo de la investigación y con el fin de dar respuesta a las preguntas de investigación planteadas, fue necesario realizar dos matrices experimentales para la obtención compuestos con actividad antioxidante.

5.7.1 Variedad de papa y tipo de solvente. En esta matriz se evaluaron tres variedades de papa (diacol capiro, parda pastusa y roja Nariño) y dos tipos de solventes (metanol y etanol grado HPLC), manteniendo constante el tamaño de partícula de la muestra, para este caso se utilizó el retenido del tamiz malla 80

(0,215mm de diámetro medio de partícula) y el tiempo de contacto entre el solvente y la muestra por 20 horas a temperatura ambiente, de acuerdo a la metodología de extracción planteada por Koduvayur *et al.*, (2010).

Se utilizó, un diseño factorial multinivel completamente aleatorizado que se llevó a cabo por triplicado, con el fin de determinar el efecto de la variedad de cáscara de papa y el solvente empleado para la extracción, sobre la variable de respuesta contenido de fenoles totales y actividad antioxidante, las cuales fueron analizadas en el programa estadístico Statgraphics centurion XV.

Tabla 1. Matriz del Diseño Experimental del diseño Factorial Multinivel Categórico

Bloque	Variedad de Papa	Solvente
1	Diacol	Metanol
1	Parda	Metanol
1	Roja	Metanol
1	Diacol	Etanol
1	Parda	Etanol
1	Roja	Etanol
2	Diacol	Metanol
2	Parda	Metanol
2	Roja	Metanol
2	Diacol	Etanol
2	Parda	Etanol
2	Roja	Etanol
3	Diacol	Metanol
3	Parda	Metanol
3	Roja	Metanol

Bloque	Variedad de Papa	Solvente
3	Diacol	Etanol
3	Parda	Etanol
3	Roja	Etanol

Fuente: Este estudio

Los atributos del diseño multifactorial categórico son los siguientes.

Número de factores experimentales: 2

Número de bloques: 3

Número de respuestas: 3
 Número de corridas: 18
 Aleatorizado: SI

Tabla 2. Factores experimentales del diseño multifactorial categórico

<i>Factores</i>	<i>Niveles</i>
A: Variedad de papa	3
B: Tipo de solvente	2

Fuente: Este estudio

Tabla 3. Variables de respuesta del diseño multifactorial categórico

<i>Respuesta</i>	<i>Unidades</i>
Fenoles Totales	mg AGE/100 g de cáscara de papa seca
Actividad Antioxidante (TEAC)	mmoles Trolox/g de cáscara de papa seca
Eficiencia Antirradical	Adimensional

Fuente: Este estudio

Todos los resultados fueron analizados con la ayuda del programa estadístico Statgraphics centurion XV, mediante el cual se realizó el análisis de varianza y prueba de comparación mediante la LSD de Fisher a un 5% de nivel de significancia.

5.7.2 Tamaño de Partícula y Tiempo de Contacto. Posteriormente se trabajó con una segunda matriz de diseño en la cual, los factores de estudio a evaluar fueron, el tamaño de partícula obtenida de la serie de tamices (50-60, 70-80, 90-100 A.S.T.M.E) y el tiempo de contacto entre el solvente y la muestra (16, 20, 24 horas). Para este caso se utilizó la variedad de papa y el solvente que presentaron un mayor contenido de fenoles y capacidad antioxidante en el anterior análisis. Se utilizó, un diseño factorial completamente aleatorizado 3^2 con un punto central y metodología de superficie de respuesta, que se llevó a cabo por triplicado, con el fin de determinar el efecto del tamaño de partícula y el tiempo de contacto, sobre las variables de respuesta contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante, las cuales fueron analizadas en el programa estadístico Statgraphics centurion XV.

Tabla 4. Matriz del Diseño Experimental diseño factorial 3²

<i>BLOQUE</i>	<i>Tamaño de Partícula (mm)</i>	<i>Tiempo de Contacto</i>
1	0.163	20
1	0.163	24
1	0.214	20
1	0.335	24
1	0.214	24
1	0.214	16
1	0.163	16
1	0.335	16
1	0.335	20
1	0.214	20
2	0.163	20
2	0.163	24
2	0.214	20
2	0.335	24
2	0.214	24
2	0.214	16
2	0.163	16
2	0.335	16
2	0.335	20
2	0.214	20
3	0.163	20
3	0.163	24
3	0.214	20
3	0.335	24
3	0.214	24
3	0.214	16

<i>BLOQUE</i>	<i>Tamaño Partícula (mm)</i>	<i>Tiempo de Contacto</i>
3	0.163	16
3	0.335	16
3	0.335	20
3	0.214	20

Fuente: Este estudio.

Los atributos del diseño factorial 3^2 son los siguientes.

Número de factores experimentales: 2

Número de bloques: 3

Número de respuestas: 3

Número de corridas: 30

Aleatorizado: SI

Tabla 5. Factores experimentales del diseño factorial 3^2

<i>Factores</i>	<i>Unidades</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Niveles</i>
A: Tamaño de partícula	mm	0.163	0.335	3
B: Tiempo de contacto	Horas	16	24	3

Fuente: Este estudio

Tabla 6. Variables de respuesta de diseño factorial 3^2

<i>Respuesta</i>	<i>Unidades</i>
Fenoles Totales	mg AGE/100 g de cáscara de papa seca
Actividad Antioxidante (TEAC)	mmoles Trolox/ g de cáscara de papa seca
Eficiencia Antirradical	Adimensional

Fuente: Este estudio

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 OBTENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA CÁSCARA DE PAPA

En la obtención de la cáscara de papa de las variedades parda pastusa y roja nariño, las cuales fueron peladas manualmente, se obtuvo un 18% en cáscara de papa de estas variedades, este valor se encuentra dentro del rango reportado en pérdidas en cáscara de papa, las cuales están entre un 15% a 20% del total del peso de papa (Putz, 1991), por su parte Koduvayur *et al.*, (2010), reporta un promedio de 12% de pérdida por pelado de papa.

Las cáscaras de papa de las variedades diacol capiro, parda pastusa y roja nariño, después del proceso de secado presentaron un porcentaje de humedad de 9,39; 9,18; 11,79 respectivamente (Tabla 8), además al realizar la etapa de tamizado se obtuvieron los diferentes tamaños de partícula (Tabla 7) empleados en la investigación expresados como diámetro medio de las partículas de cáscara de papa.

Tabla 7. Diámetros de partícula usados en la investigación

<i>i</i>	No DE MALLAS	ABERTURA DEL TAMIZ Dpi, mm	DIÁMETRO MEDIO DE LAS PARTÍCULAS Dpi, mm
1	10	2,00	
2	20	0,841	1,421
3	30	0,595	0,718
4	40	0,420	0,508
5	60	0,250	0,335
6	80	0,177	0,214
7	100	0,149	0,163
8	170	0,088	0,119
9	COLECTOR	0	0,044

Fuente: Este estudio

6.2 ANÁLISIS PROXIMAL DE LA CÁSCARA DE PAPA.

En la tabla 8 se presentan los resultados de la composición proximal de la cáscara de papa de las tres variedades en estudio, desarrollados por el laboratorio de bromatología de la Universidad de Nariño, de esta manera con los resultados obtenidos se pudo observar la diferencia que existe en cada parámetro, al analizar el valor de la humedad y la materia seca, se puede establecer que no hay mayor

variación entre sí para las variedades diacol capiro y parda pastusa, por lo que son similares en cuanto a humedad y materia seca se refiere.

En cuanto a la determinación de fibra cruda, extracto etéreo o materia grasa se pudo determinar que se presenta variabilidad para las cáscaras de las tres variedades de papa, siendo la cáscara de la variedad diacol capiro la que presentó un mayor contenido en estos parámetros, por su parte la cáscara de la variedad parda pastusa presentó un mayor contenido en proteína y ceniza y la variedad roja nariño presentó un mayor contenido en extracto no nitrogenado que representa la fracción de los carbohidratos solubles de los alimentos (azúcares simples y almidón). Las diferencias en los resultados del análisis proximal no se pueden considerar estadísticamente significativas puesto que no se realizó un análisis estadístico que pueda establecer si se presentan o no estas diferencias en los parámetros de composición químico proximal de las cáscaras de papa de las tres variedades.

Las diferencias en cuanto a la composición proximal de las cáscaras de papa de las tres variedades se pudieron presentar debido a que esta composición puede cambiar sustancialmente, de acuerdo con la variedad, condiciones de cultivo (calidad de la semilla, tipo de suelo, fertilizantes, temperatura, humedad, luz), grado de madurez y condiciones de almacenamiento (Andersson *et al.*, 1994; Pritchard & Adam 1994; Borruey *et al.*, 2000; Egusquiza, 2000).

Tabla 8. Análisis proximal de las cáscaras de papa

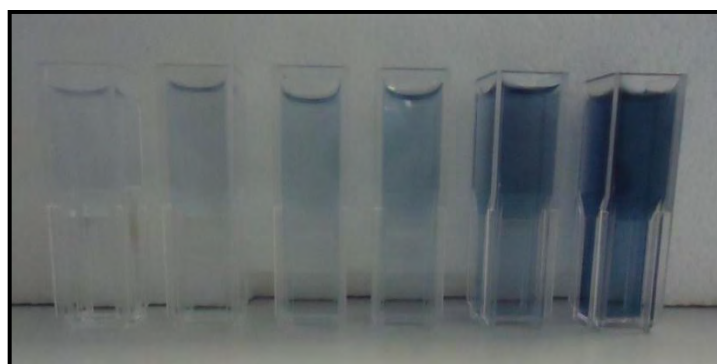
Parámetro	Técnica	Variedad de Papa		
		Diacol Capiro	Parda Pastusa	Roja Nariño
Humedad	Gravimétrica	9,39	9,18	11,79
Materia seca	Gravimétrica	90,6	90,8	88,2
Ceniza	Gravimétrica	5,32	8,32	5,25
Extracto etéreo	Gravimétrica	1,47	0,82	0,63
Fibra cruda	Gravimétrica	32,2	14,4	11,7
Proteína	Volumétrica	10,7	17,3	14,5
Extracto No Nitrogenado	Cálculo matemático	40,9	50,0	56,1

Todos los resultados se expresan como g/100g de muestra
Fuente: Este estudio

6.3 ESTUDIO DEL EFECTO DE LA VARIEDAD Y TIPO DE SOLVENTE SOBRE EL CONTENIDO DE FENOLES Y SU ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.

6.3.1 Determinación de fenoles totales. La tabla 9 muestra los resultados por triplicado de la prueba de Folin Ciocalteu para 5 concentraciones de ácido gálico, con las que se realizó una curva de calibración promedio, de la cual se obtuvo la siguiente ecuación: $y = 0,0016x + 0,0209$ ($R^2 = 0,999$) (Gráfico 1). La intensidad de la coloración azul presente en cada patrón es función de la cantidad de fenoles encontrados en estas muestras.

Figura 16. Ensayos para la curva de calibración con ácido gálico



Fuente: Este estudio

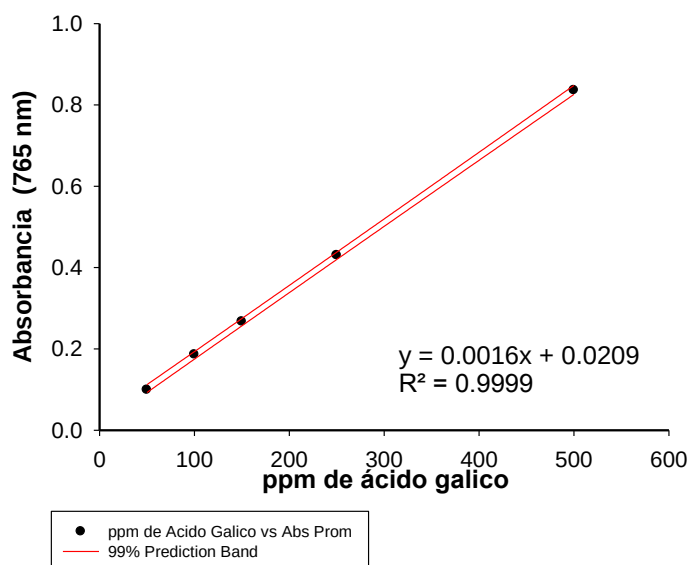
Tabla 9. Resultados de la Prueba de Folin Ciocalteu con patrones de ácido gálico.

Ácido gálico ppm	Abs ^a 1	Abs ^a 2	Abs ^a 3	Abs ^a Promedio	DE ^b	CV ^c
50	0,099	0,099	0,099	0,099	0	0
100	0,186	0,186	0,186	0,186	0	0
150	0,267	0,267	0,267	0,267	0	0
250	0,43	0,431	0,43	0,430	0,001	0,190
500	0,837	0,835	0,835	0,836	0,001	0,115

a: Absorbancia; b: Desviación estándar; c: Coeficiente de variación

Fuente: Este estudio

Gráfico 1. Curva de calibración para la determinación de fenoles totales con patrones de ácido gálico.



Fuente: Este estudio

Los extractos evaluados en la primera matriz fueron: diacol-metanol (DM), diacol-etanol (DE), parda-metanol (PM), parda-etanol (PE), roja-metanol (RM) y roja-etanol (RE), a los cuales se les determinó el contenido de fenoles totales, la actividad antioxidante en equivalente a Trolox (TEAC) y la eficiencia antirradical.

La tabla 10 y el gráfico 2 muestran los resultados de la prueba de fenoles totales obtenidos de aplicar las condiciones de extracción de la matriz de diseño factorial multinivel categórico propuesto en la metodología.

Tabla 10. Resultados de la prueba de fenoles totales para los extractos de cáscara de papa evaluados

Extracto	Réplica	ppm A.Gálico	F.T. ^a	F.T.
			(mg AGE/100 g de cáscara de papa seca)	(mg AGE/g de cáscara de papa seca)
DM	1	324.85	649.71	6.50
	2	332.35	664.71	6.65
	3	322.15	644.29	6.44
	Promedio	326.45	652.90	6.53
	DE ^b	5.29	10.58	0.11
	CV ^c	1.62	1.62	1.62
DE	1	211.94	423.88	4.24
	2	220.69	441.38	4.41
	3	203.60	407.21	4.07
	Promedio	212.08	424.15	4.24
	DE	8.54	17.09	0.17
	CV	4.03	4.03	4.03
PM	1	193.40	386.79	3.87
	2	181.31	362.63	3.63
	3	177.77	355.54	3.56
	Promedio	184.16	368.32	3.68
	DE	8.19	16.38	0.16
	CV	4.45	4.45	4.45
PE	1	61.94	123.88	1.24
	2	59.85	119.71	1.20
	3	68.19	136.38	1.36
	Promedio	63.33	126.65	1.27
	DE	4.34	8.67	0.09
	CV	6.85	6.85	6.85
RM	1	276.31	552.63	5.53
	2	266.94	533.88	5.34
	3	260.69	521.38	5.21
	Promedio	267.98	535.96	5.36
	DE	7.86	15.73	0.16
	CV	4.61	4.61	4.61
RE	1	104.85	209.71	2.10
	2	116.73	233.46	2.33
	3	110.69	221.38	2.21
	Promedio	110.76	221.51	2.22
	DE	5.94	11.88	0.12
	CV	5.36	5.36	5.36

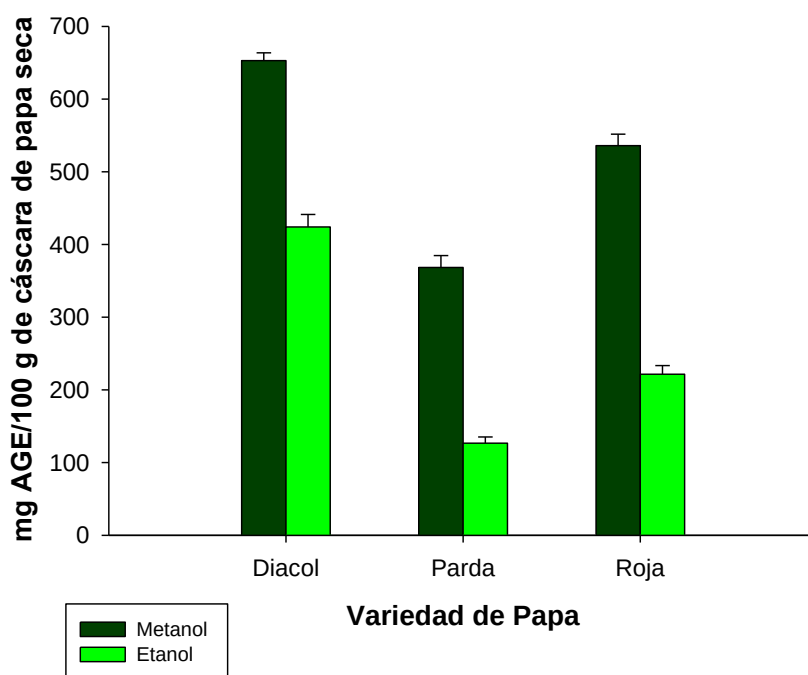
a: Fenoles totales; b: Desviación estándar; c. Coeficiente de variación

Fuente: Este estudio

Los resultados indican que el extracto DM presentó un contenido de fenoles totales de 652.90 AGE/100 g de cáscara de papa seca, siendo el mayor de los

extractos evaluados. El mayor contenido de fenoles se observó cuando se utilizó metanol para las extracciones en las tres variedades de papa evaluadas.

Gráfico 2. Contenido de Fenoles Totales para los extractos de cáscara de papa evaluados



Fuente: Este estudio

Los resultados encontrados permitieron establecer que el orden de mayor a menor, respecto al contenido de fenoles en los extractos evaluados fue DM>RM>DE>PM>RE>PE

La significancia estadística de los factores evaluados sobre la variable respuesta (Fenoles totales), se realizó utilizando un análisis de varianza, como se indica en la tabla 11. Los dos factores evaluados: Variedad de papa (A) y tipo de solvente (B), al igual que la interacción variedad de papa-tipo de solvente (AB) bajo los niveles evaluados, causan un efecto estadísticamente significativo, sobre el contenido de fenoles totales (p -valor $<0,05$), con un intervalo de confianza del 95%. Estas diferencias se pudieron presentar debido a que la extracción de los compuestos fenólicos depende ampliamente del tipo de solvente utilizado para este proceso, con resultados que pueden variar ampliamente entre un solvente y otro; además también se debe contemplar que el contenido de compuestos fenólico de la cáscara de papa cambia con las condiciones agroclimatológicas 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).

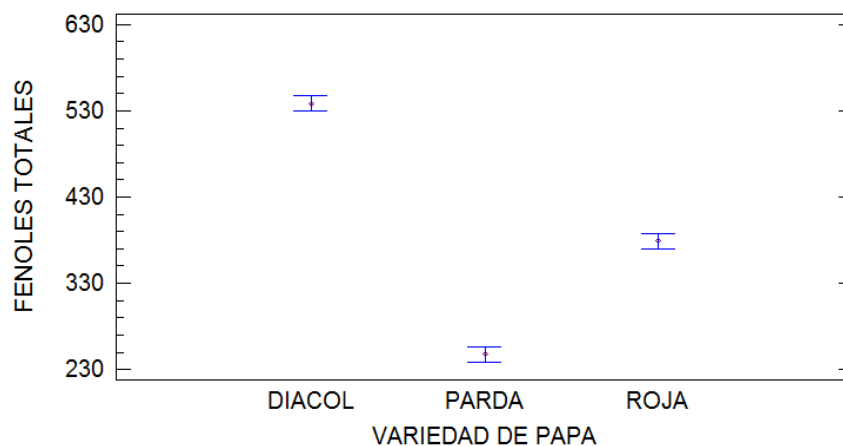
Tabla 11. Análisis de varianza para el contenido de fenoles totales.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>G.L.</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>p-valor</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: VARIEDAD DE PAPA	25493	2	127465	673.26	0.0000
B: TIPO DE SOLVENTE	308000	1	308000	1626.83	0.0000
INTERACCIONES					
AB	6404.37	2	3202.19	16.91	0.0003
RESIDUOS	2271.9	12	189.325		
TOTAL (CORREGIDO)	571606	17			

Fuente: Este estudio

En el gráfico 3 se puede observar que las tres variedades de cáscara de papa utilizadas para la extracción, presentan diferencias estadísticamente significativas con respecto al contenido de fenoles totales, además se puede determinar que se presentó un mayor contenido de fenoles totales cuando se trabajó con la cáscara de papa de la variedad diacol capiro y un menor valor con la cáscara de la variedad parda pastusa.

Gráfico 3. Gráfico de medias de LSD de Fisher para el contenido de fenoles totales con relación a la variedad de papa

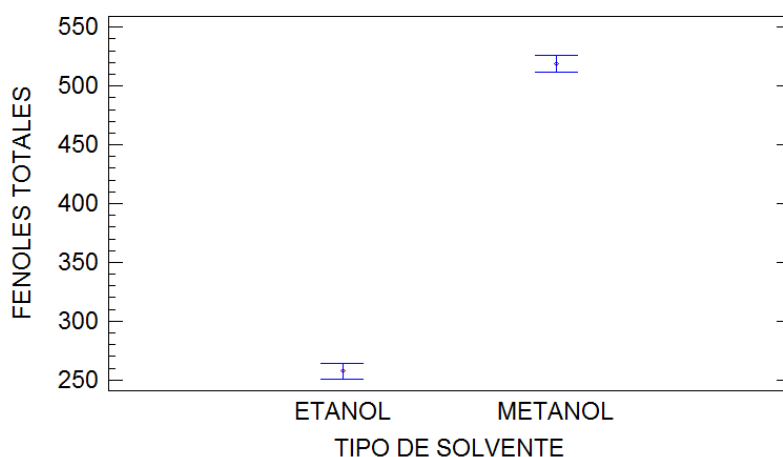


Fuente: Este estudio

El gráfico 4 se observa que se presenta una diferencia estadísticamente significativa para el contenido de fenoles con relación a los dos solventes empleados para la extracción y se puede establecer que se obtiene una mayor extracción de compuestos fenólicos cuando se emplea metanol como solvente para la extracción, esto se presenta debido a que la solubilidad de los compuestos fenólicos depende entre otros factores de la polaridad del solvente utilizado. La polaridad intermedia del metanol permite la extracción de compuestos que unen ciertas características hidrofílicas (anillos aromáticos, cadenas laterales de

hidrocarburos, etc.) con grupos funcionales y sustituyentes polares (grupos hidroxilo y carboxilo, azúcares, etc.) en la misma molécula, Además el metanol posee un momento dipolar mayor que el etanol, por lo tanto la solubilidad de compuestos fenólicos aumenta debido a que la probabilidad de colisión entre las moléculas es mayor (Pérez, 2007). Estos resultados son similares a los encontrados por (Pesche *et al.*, 2006; Weshahy & Rao, 2009; Rumbaoa *et al.*, 2009) quienes reportan una mayor extracción de compuestos fenólicos cuando se utilizó metanol.

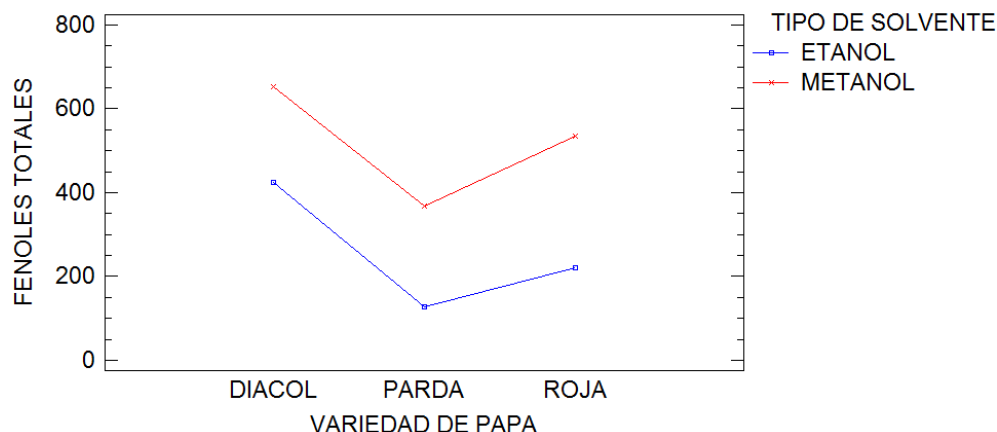
Gráfico 4. Gráfico de medias de LSD de Fisher para el contenido de fenoles totales con relación al tipo de solvente utilizado.



Fuente: Este estudio

La interacción entre los dos factores evaluados frente al contenido de fenoles totales se puede observar en el gráfico 5, en donde el mayor contenido de fenoles totales se obtuvo al emplear cáscara de papa de la variedad diacol capiro y metanol HPLC como solvente para la extracción.

Gráfico 5. Gráfico de Interacciones para el contenido de fenoles totales



Fuente: Este estudio

Con relación a otros estudios en donde se evaluó el contenido de fenoles en cáscara de papa de diferentes variedades, se tiene que:

Koduvayur *et al.* (2010), para la extracción de compuestos fenólicos en etanol, reporta contenido de fenoles totales para cáscaras de papa de las variedades Sava y Bintje de 120 y 255 mg AGE/100 g de cáscara de papa seca respectivamente, estos resultados son similares a los encontrados en la investigación para la extracción con etanol de la cáscara de papa de las variedades parda y roja, pero el contenido de fenoles totales es mayor para los extractos metanólicos de estas variedades, con relación a la variedad diacol capiro se puede observar que tanto el extracto etanólico, como metanólico presentan contenidos de fenoles superiores a los reportados por los autores para las variedades de papa sava y bintje .

De la misma manera Weshahy & Rao, (2009), encontraron que el contenido fenólico total varió de 151 a 333 mg AGE/ 100 g de cáscara de papa seca, para extractos metanólicos de seis variedades de papa canadienses (Siécle, vivaldi, yukon, purple majesty, dakota pearl y FL 1533), por tanto se puede establecer que este rango es similar a los resultados encontrados para los extractos etanólicos de la variedad roja y extractos etanólicos y metanólicos de la variedad parda pastusa, sin embargo los resultados encontrados para la variedad diacol capiro son superiores a los reportados por los autores, la diferencia en el contenido fenólico total reportado es debido al color y la variedad.

Weshahy *et al.* (2011) observaron contenido de polifenoles para las variedades de papa penta y marcy originarias de Canadá de 240 y 114 mg AGE/ 100 g de cáscara de papa seca respectivamente, similares a los encontrados para los extractos etanólicos de las variedades de papa roja Nariño y parda pastusa con

valores de 221.51 y 126.65 AGE/ 100 g de cáscara de papa seca respectivamente.

Fuenzalida, (2008) para 12 genotipos de papas (*Solanum tuberosum* L. ssp *tuberosum* Hawkes) nativas del sur de Chile, reportó contenidos de fenoles en el rango de 260,11 hasta 2.852,24 mg AGE/100 g de materia seca, esta diferencia se presenta debido a que la pigmentación de algunos genotipos conlleva a una mayor cantidad de fenoles totales, ya que las papas con cáscara púrpura contienen mayor concentración de fenoles en relación a las papas blancas, por su parte los resultados encontrados para las cáscaras de papa de las tres variedades evaluadas se encuentra dentro de este rango reportado por la autora, aunque no se logran contenidos tan altos como los reportados, puesto que las variedades con las que se trabajó no presentaban pigmentos purpuras como los que presentaban algunos de los genotipos trabajados en el estudio.

6.3.2 Determinación de la actividad antioxidante:

6.3.2.1 Ensayo ABTS: Se realizó una curva de calibración con distintas concentraciones de Trolox. Para esto, se tomaron 3 mL de la solución de ABTS^{•+} y se añadió 30 µL de las distintas concentraciones de Trolox, agitándose durante 1 minuto y midiendo la absorbancia trascurridos 6 minutos a 734 nm. Cada muestra fue medida cuatro veces y se encontró la siguiente ecuación (Gráfico 6): $y = -0,1398x + 0,6903$ ($R^2 = 0,9997$). La pendiente negativa indica la pérdida de color que sufre el catión ABTS^{•+} al reaccionar con el antioxidante. Los resultados fueron expresados como Actividad antioxidante equivalente en trolox con sus siglas en ingles (TEAC) en unidades de mmol de trolox/g de cascar de papa seca.

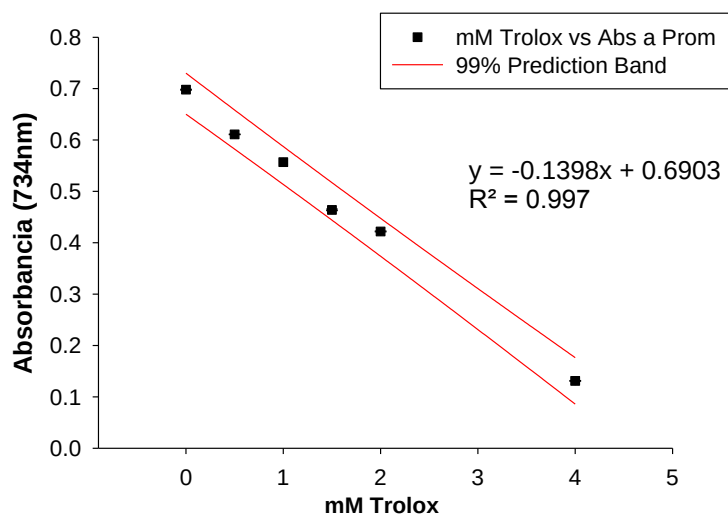
Tabla 12. Registros de absorbancias de la prueba de ABTS^{•+} con distintas concentraciones de trolox.

Concentraciones Trolox (mM)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Abs 4	Abs ^a Prom	DE ^b	CV ^c
0	0,697	0,698	0,698	0,699	0,698	0,0008	0,1170
0,5	0,611	0,611	0,611	0,612	0,611	0,0005	0,0818
1	0,557	0,557	0,557	0,557	0,557	0,0000	0,0000
1,5	0,462	0,465	0,465	0,465	0,464	0,0015	0,3231
2	0,422	0,421	0,423	0,422	0,422	0,0008	0,1935
4	0,132	0,131	0,132	0,131	0,1311	0,0006	0,4403

a: Absorbancia; b: Desviación Estándar; c: Coeficiente de Variación

Fuente: Este estudio

Gráfico 6. Curva de calibración para determinar la capacidad antioxidante expresada como TEAC



Fuente: Este estudio

La funcionalidad del método se verificó con tres patrones: ácido ascórbico, β -caroteno y BHT grado analítico a una concentración de 5mM de acuerdo a lo reportado por Re et al., (1999). Los resultados obtenidos se expresaron en mM Trolox (Tabla 13), en donde se puede observar que los valores encontrados para los patrones evaluados experimentalmente, son similares a los reportados por los autores, con lo cual se puede concluir que el método aplicado es válido.

Tabla 13. Resultado de la prueba de ABTS⁺⁺ con patrones de antioxidantes sintéticos.

<i>Antioxidante</i>	<i>Replica</i>	<i>mM Trolox</i>	<i>mM Trolox Re et al., (1999)</i>
ÁCIDO ASCÓRBICO	1	1,009	1,05±0,02
	2	1,004	
	3	1,009	
	Promedio	1,009±0,03	
	DE	0,03	
	CV	0,00	
β-CAROTENO	1	2,467	2,57±0,03
	2	2,467	
	3	2,472	
	Promedio	2,470±0,03	
	DE	0,03	
	CV	2,14	
BHT	1	2,59	No Reporta
	2	2,64	
	3	2,69	
	Promedio	2,64±0,048	
	DE	0,048	
	CV	1,820	

Fuente: Este estudio

La tabla 14 y el gráfico 7 muestran los resultados de la actividad antioxidante en equivalente trolox (TEAC) de los extractos obtenidos a partir de las cáscaras de papa frente a cada uno de los tratamientos. Así, los resultados muestran que el extracto DM presentó la mayor actividad antioxidante con relación a los demás extractos evaluados, con un valor de 0,0928 mmol trolox/g de cáscara seca, el cual es un comportamiento similar al realizado en la prueba de fenoles.

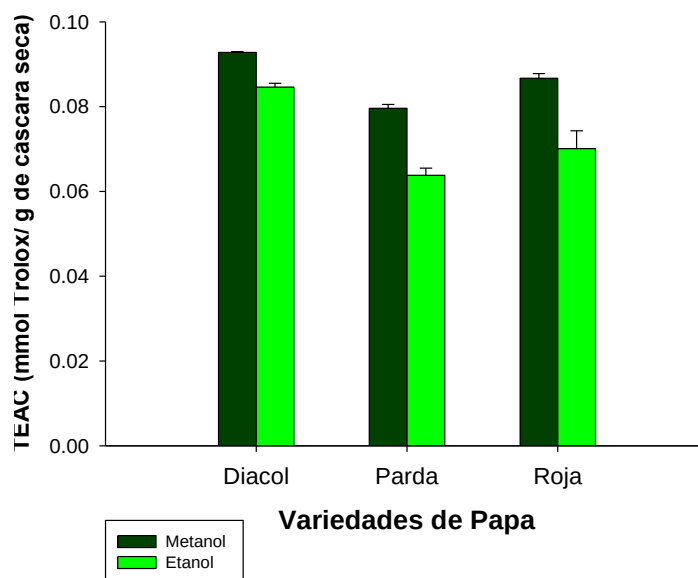
Tabla 14. Resultados de Actividad antioxidante en TEAC para los extractos de cáscara de papa evaluados

<i>Replica</i>	<i>TEAC^a</i>					
	Extracto DM	Extracto DE	Extracto PM	Extracto PE	Extracto RM	Extracto RE
1	0,0926	0,0843	0,0799	0,0653	0,0877	0,0654
2	0,0929	0,0839	0,0786	0,0640	0,0855	0,0712
3	0,0930	0,0856	0,0803	0,0620	0,0870	0,0736
Promedio	0,0928	0,0846	0,0796	0,0638	0,0867	0,0701
DE^b	0,0002	0,0009	0,0009	0,0017	0,0011	0,0042
CV^c	0,224	1,051	1,117	2,607	1,296	6,017

a: mmol trolox/ g de cáscara seca ; b: Desviación estándar; c: Coeficiente de variación

Fuente: Este estudio

Gráfico 7. Actividad antioxidante en TEAC para los extractos de cáscara de papa evaluados



Fuente: Este estudio

En la tabla 15 se puede observar el análisis de varianza (ANOVA), para la actividad antioxidante, de esta manera se observa que los factores evaluados: variedad de cáscara de papa (A) y tipo de solvente empleado para la extracción (B), además de la interacción la variedad de cáscara de papa-tipo de solvente (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 15. Análisis de varianza para la actividad antioxidante (TEAC).

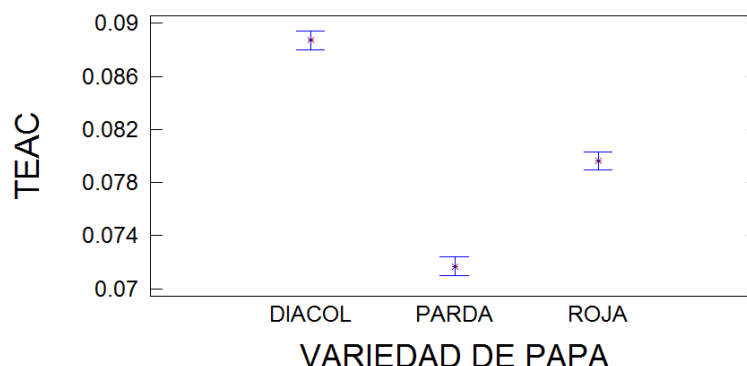
<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>G.L.</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>p-valor</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: VARIEDAD DE PAPA	0.000883363	2	0.000441682	113.14	0.0000
B: TIPO DE SOLVENTE	0.000829602	1	0.000829602	212.51	0.0000
INTERACCIONES					
AB	0.0000647878	2	0.0000323939	8.30	0.00055
RESIDUOS	0.0000468467	12	0.00000390389		
TOTAL (CORREGIDO)	0.0018246	17			

Fuente: Este estudio

En el gráfico 8 se puede observar que las tres variedades de cáscara de papa utilizadas para la extracción de compuestos antioxidantes, presentan diferencias estadísticamente significativa con respecto a la actividad antioxidante, además se

puede observar que se presentó un mayor valor de actividad antioxidante expresada como TEAC, con la cáscara de la papa de la variedad diacol capiro y un menor valor con la cáscara de la variedad parda pastusa.

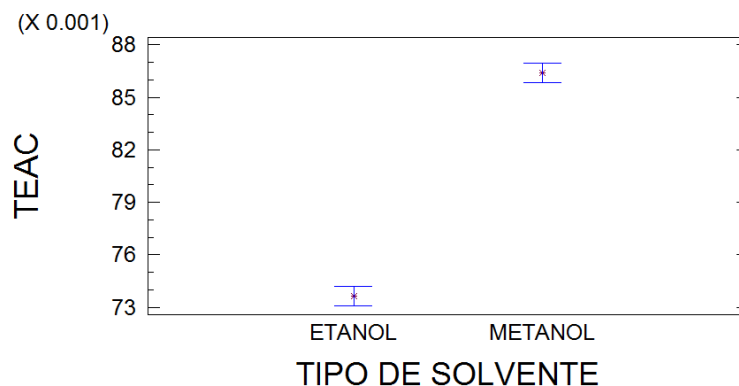
Gráfico 8. Gráfico de medias de LSD de Fisher para la actividad antioxidante (TEAC) con relación a la variedad de papa utilizada



Fuente: Este estudio

Con relación al tipo de solvente (Gráfico 9), 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 metanol como solvente para la extracción.

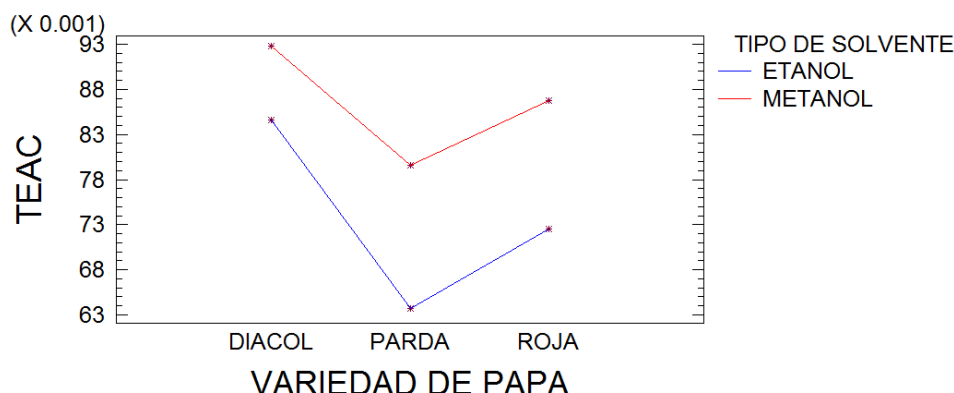
Gráfico 9. Gráfico de medias de LSD de Fisher para la actividad antioxidante (TEAC) con relación al tipo de solvente utilizado.



Fuente: Este estudio

En la gráfica 10 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 cáscara de papa de la variedad diacol capiro y metanol como solvente para la extracción.

Grafica 10. Gráfico de Interacciones para Actividad Antioxidante en TEAC



Fuente: Este estudio

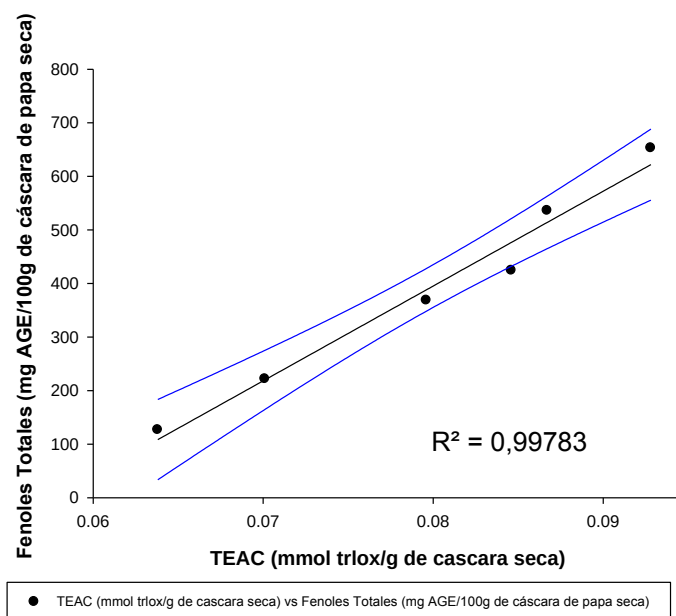
Los resultados encontrados para actividad antioxidante difieren de los resultados encontrados por Weshahy & Rao, (2009) puesto que se reportan resultados en el rango de 0.28 a 0.55 mmol de trolox/ gramos de cáscara de papa seca, para seis variedades de cáscara de papa, las diferencias en la actividad antioxidante reportada son debido a la variedad de papa ya que a estas variedades este se les atribuye altos contenidos de antocianinas.

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

Jiménez y Villareal, (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 g 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.

En el gráfico 11 se observa la correlación entre el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante expresada como TEAC, los cuales presenta una relación directamente proporcional, en la cual a medida que aumenta el contenido de fenoles aumenta la actividad antioxidante de manera lineal con una correlación de 0.9978

Grafica 11. Gráfico de correlación entre el contenido de fenoles y la actividad antioxidante expresada como TEAC



Fuente: Este estudio

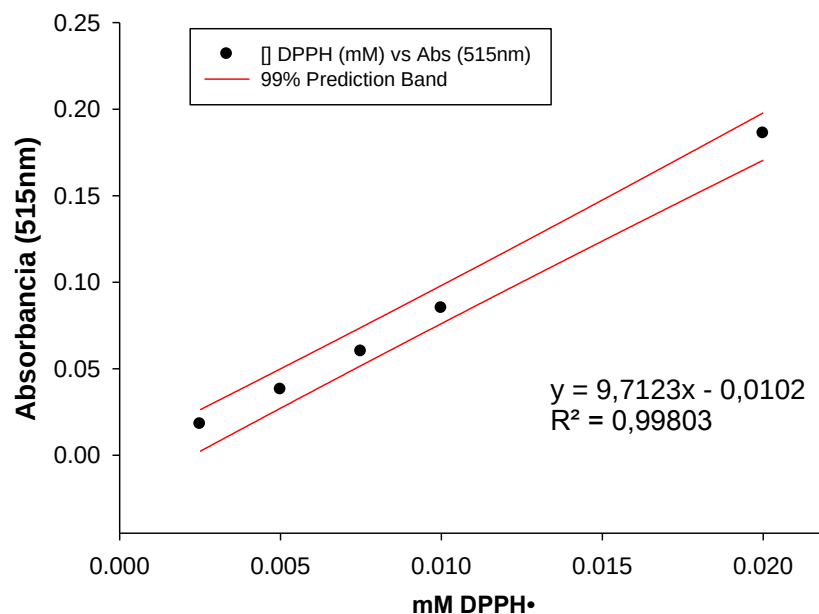
6.3.2.2 Ensayo DPPH. Se realizó una curva de calibración de Absorbancia vs. $C_{DPPH\cdot}$ (Tabla 16; Gráfico 12), de la que se obtuvo la siguiente ecuación matemática: $y = 9,7123x - 0,0102$ ($R^2 = 0,99803$), que se empleó para calcular la $[DPPH\cdot]$ en el tiempo t.

Tabla 16. Registros de absorbancia a diferentes concentraciones DPPH'

$C_{DPPH\cdot}$ (mM)	0,0025	0,005	0,0075	0,01	0,02
Abs (515nm)	0,018	0,038	0,060	0,085	0,186

Fuente: Este estudio

Gráfico 12. Curva de calibración del método DPPH•

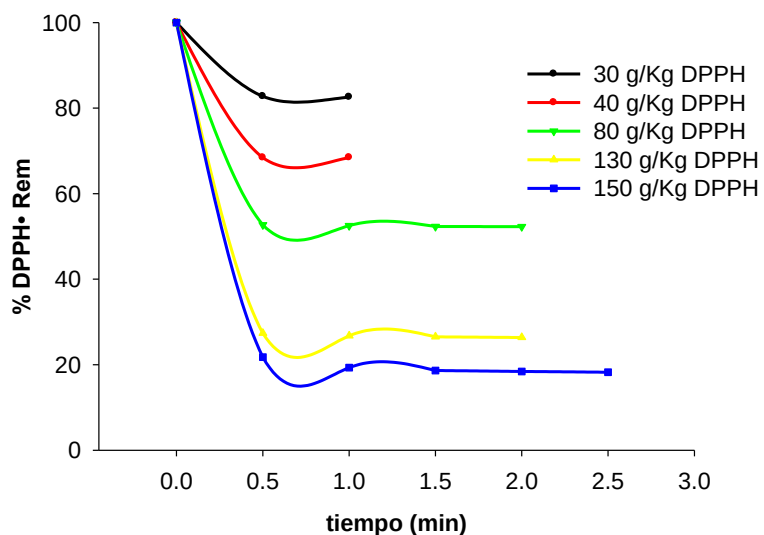


Fuente: Este estudio

De acuerdo a lo reportado por Sánchez *et al.* (1998), se realizaron las pruebas de eficiencia antiradical (EA), con el fin de obtener puntos de referencia en tres patrones: ácido ascórbico, ácido gálico y ácido cafeico.

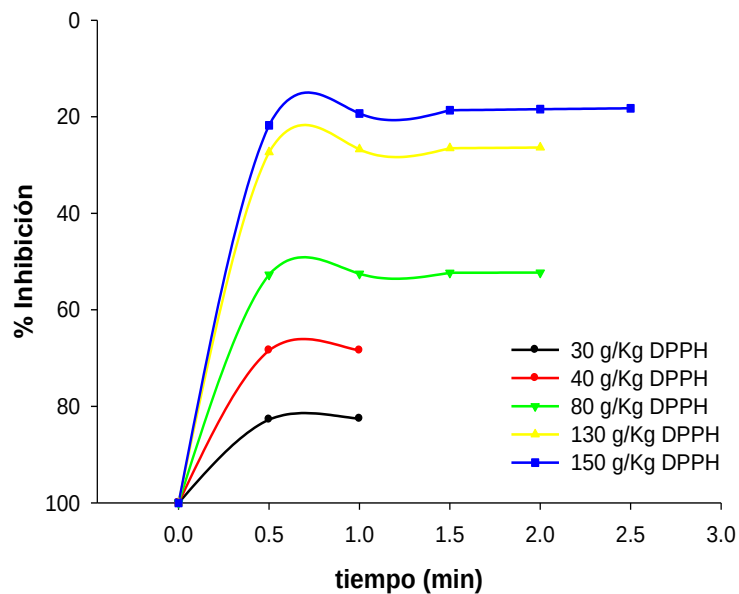
Las concentraciones de ácido ascórbico permitieron calcular el % DPPH• remanente y el E_{C50} en las soluciones y el tiempo en el cual se alcanza un estado estacionario para estas concentraciones.

Gráfico 13. Comportamiento de diferentes concentraciones de ácido ascórbico en el tiempo frente al porcentaje de DPPH[•] Remanente



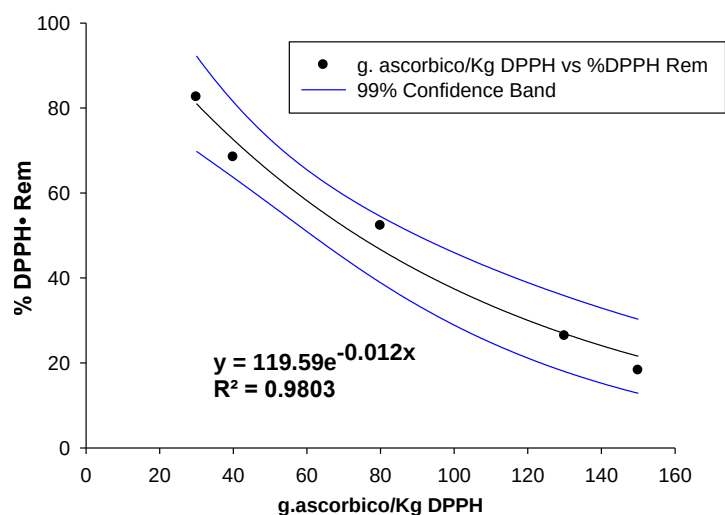
Fuente: Este estudio

Gráfico 14. Comportamiento de diferentes concentraciones de ácido ascórbico en el tiempo frente al porcentaje de Inhibición



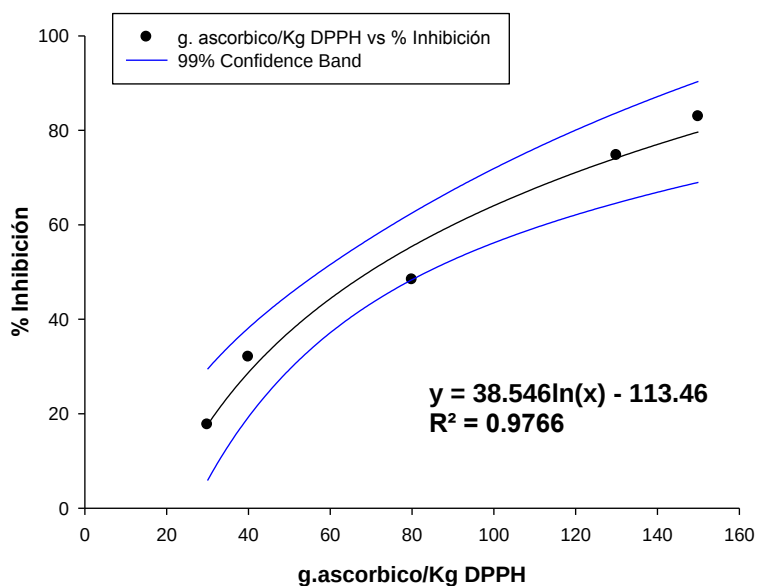
Fuente: Este estudio

Gráfico 15. Curva para determinar Ec_{50} con diferentes concentraciones de ácido ascórbico.



Fuente: Este estudio

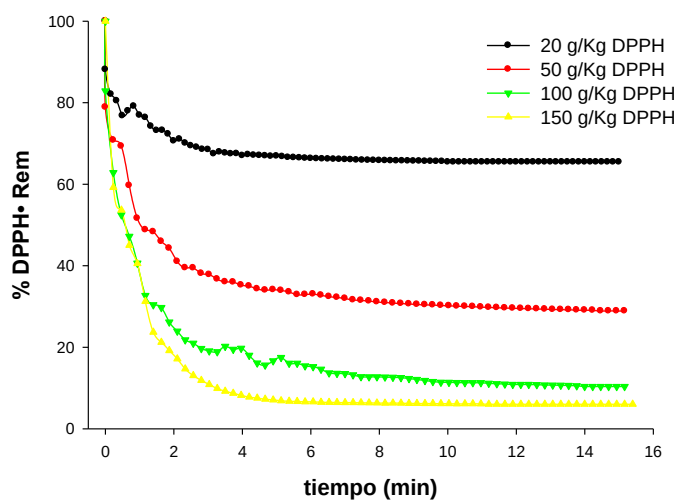
Gráfico 16. Comportamiento de diferentes concentraciones de ácido ascórbico en el tiempo frente al porcentaje de Inhibición



Fuente: Este estudio

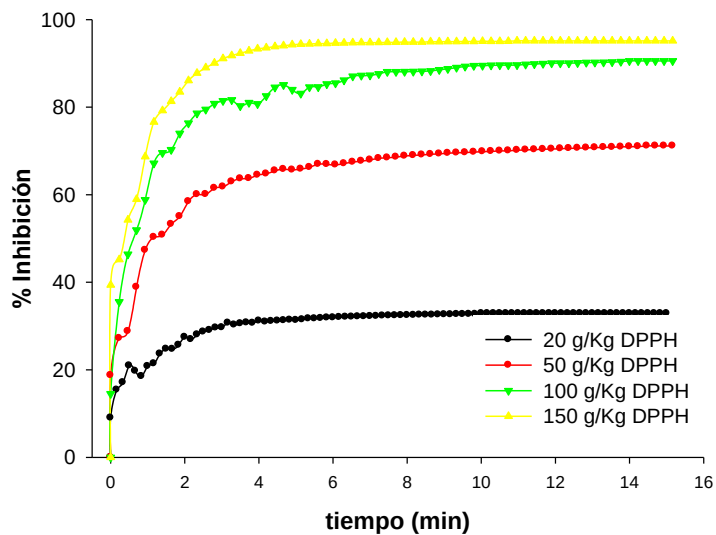
Se realizaron diferentes concentraciones de ácido gálico, calculando él % DPPH• remanente en las soluciones y el tiempo en el cual se alcanza un estado estacionario para estas concentraciones.

Gráfico 17. Comportamiento de diferentes concentraciones de ácido gálico en el tiempo frente al porcentaje de DPPH• Remanente



Fuente: Este estudio

Gráfico 18. Comportamiento de diferentes concentraciones de ácido gálico en el tiempo frente al porcentaje de Inhibición



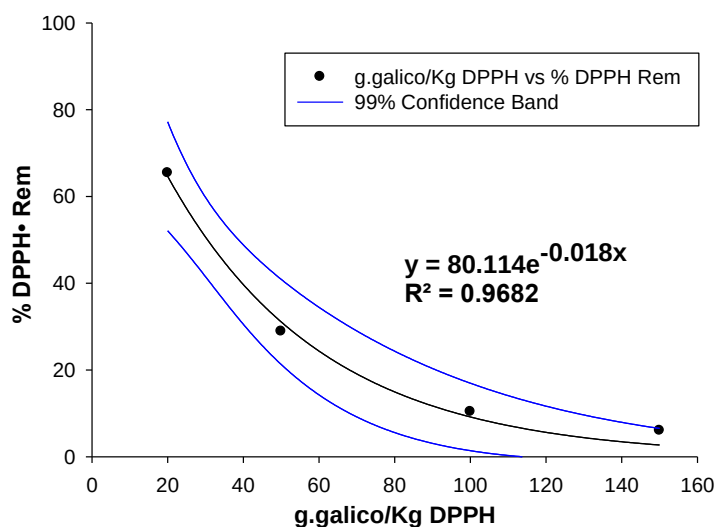
Fuente: Este estudio

El comportamiento del %DPPH• Remanente frente a las distintas concentraciones de ácido gálico muestra que este radical se reduce a la mitad cuando se utiliza una concentración entre 20 y 50 g antioxidante/Kg DPPH• respectivamente, similar al encontrado en el porcentaje de inhibición.

Además todas las concentraciones de ácido gálico evaluadas fueron estables en un tiempo superior a los 15 minutos e inferior a los 20 minutos.

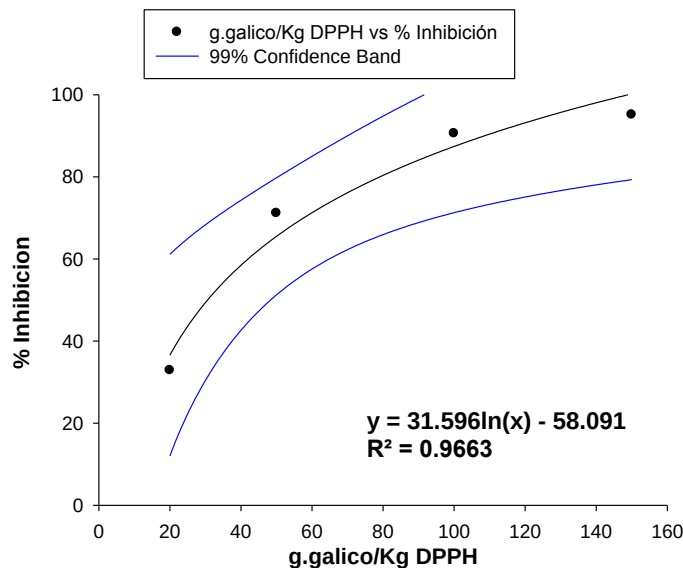
Con las distintas concentraciones del antioxidante se realizó una curva para determinar los parámetros Ec_{50} e IC_{50}

Gráfico 19. Curva para determinar Ec_{50} con diferentes concentraciones de ácido gálico.



Fuente: Este estudio

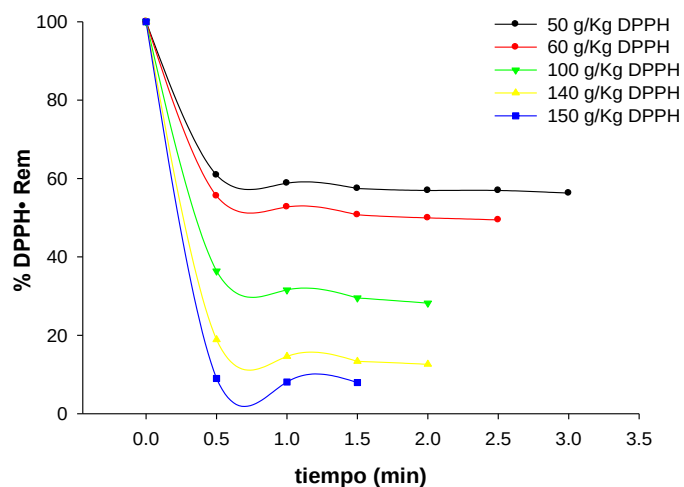
Gráfico 20. Curva para determinar IC_{50} con diferentes concentraciones de ácido gálico.



Fuente: Este estudio

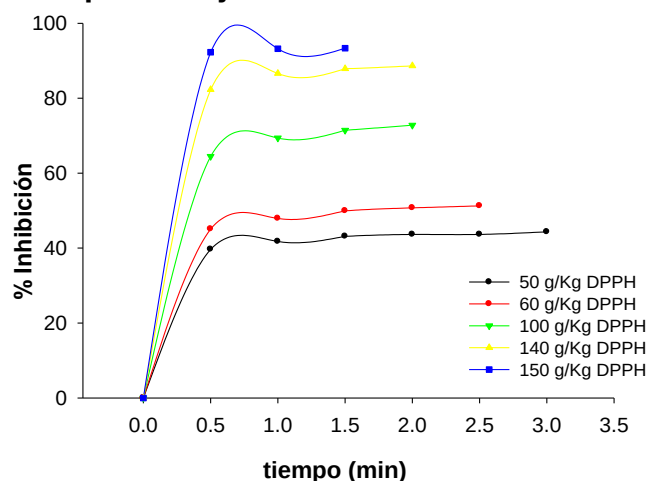
Se evaluó un último patrón de ácido cafeíco con el fin de obtener un punto de referencia más preciso, para evaluar el método con diferentes patrones.

Gráfico 21. Comportamiento de diferentes concentraciones de ácido cafeíco en el tiempo frente al porcentaje de DPPH• Remanente



Fuente: Este estudio

Gráfico 22. Comportamiento de diferentes concentraciones de ácido cafeíco en el tiempo frente al porcentaje de Inhibición



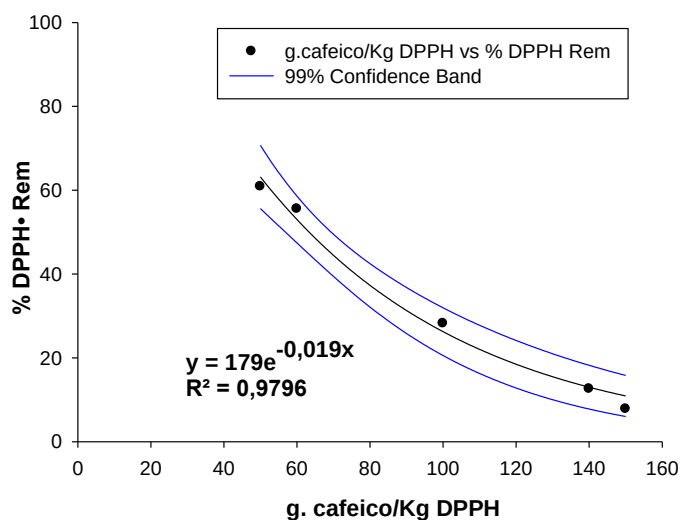
Fuente: Este estudio

El comportamiento del %DPPH• Remanente frente a las distintas concentraciones de ácido cafeíco muestra que este radical se reduce a la mitad cuando se utiliza una concentración entre 60 y 100 g antioxidante/Kg DPPH• respectivamente, similar al encontrado en el porcentaje de inhibición.

Además todas las concentraciones de ácido cafeico evaluadas fueron estables en un tiempo superior a los 2 minutos.

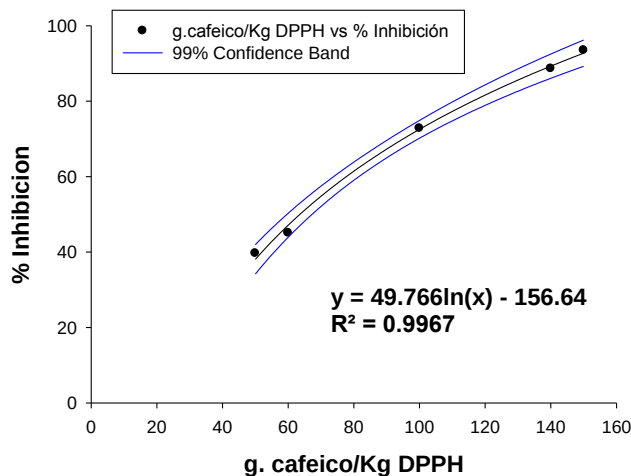
Con las distintas concentraciones del antioxidante se realizó una curva para determinar los parámetros Ec_{50} e IC_{50}

Gráfico 23. Curva para determinar Ec_{50} con diferentes concentraciones de ácido cafeico.



Fuente: Este estudio

Gráfico 24. Curva para determinar IC_{50} con diferentes concentraciones de ácido cafeico.



Fuente: Este estudio

Los patrones se expresaron como g antioxidante/Kg DPPH[•], con el objetivo de compararlos con los utilizados por Sánchez, *et al.*, (1998). El cálculo de estas concentraciones se realizó acuerdo a lo reportado por Jiménez y Villareal en 2008.

La tabla 17 indica los valores de los parámetros EC₅₀, IC₅₀, T_{EC50} y EA calculados para ácido ascórbico, gálico y cafeico en el ensayo de DPPH. Además se contempla una comparación de los valores de EA encontrados en la investigación y los reportados por Sánchez, *et al.*, (1998), para los cuales se puede observar que son similares, por lo cual se puede establecer que el método DPPH[•], aplicado para el análisis de los extractos de cáscara de papa fue adecuado.

Tabla 17. Parámetros calculados en el ensayo DPPH[•] para ácido ascórbico, gálico y cafeico.

<i>Patrón</i>	<i>C_{Patrón}^a</i>	<i>%[DPPH[•]] Rem</i>	<i>Tiempo (min)</i>	<i>EC₅₀</i>	<i>IC₅₀</i>	<i>T_{EC50} (min)</i>	<i>EA^a (x 10⁻³)</i>	<i>EA^b (x 10⁻³)</i>
Ácido Ascórbico	50	82,574	1,00	72,67	69,45	1,20	11,47	11,44
	60	68,437	1,00					
	80	52,298	1,50					
	130	26,340	2,00					
	150	18,236	2,50					
Ácido Gálico	20	65,40	10,00	26,19	30,60	15,078	2,53	2,620
	50	28,90	15,47					
	100	10,38	16,21					
	150	6,02	16,40					
Ácido Cafeico	50	60,85	6,00	67,12	63,58	5,365	2,78	2,75
	60	55,526	5,50					
	100	28,206	2,00					
	140	12,598	2,00					
	150	7,790	1,50					

a: g de antioxidante/ Kg DPPH[•]; b: Valor tomado de Sánchez (1998).

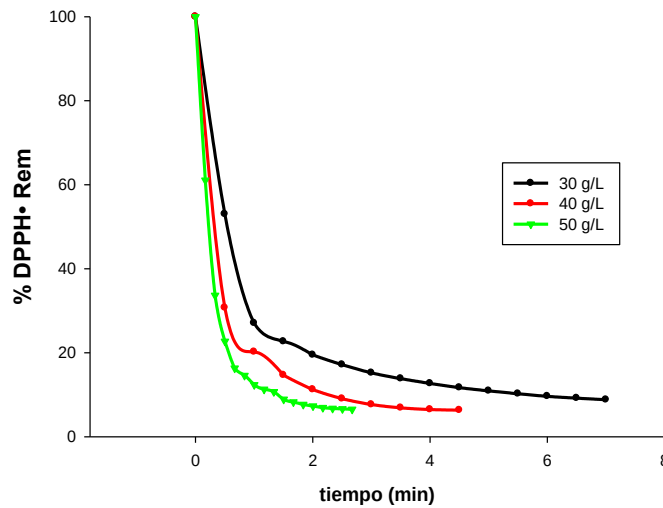
Fuente: Este estudio

Se evaluaron los extractos obtenidos de cáscara de papa determinando en cada uno de estos los parámetros establecidos en el método de DPPH[•].

Inicialmente se establecieron concentraciones similares a los antioxidantes evaluados (ácido ascórbico, gálico y cafeico) con el fin de realizar comparaciones entre compuestos naturales y sintéticos, sin embargo, en todos los extractos de papa fue necesario utilizar una mayor concentración con el fin de inhibir el radical a la mitad.

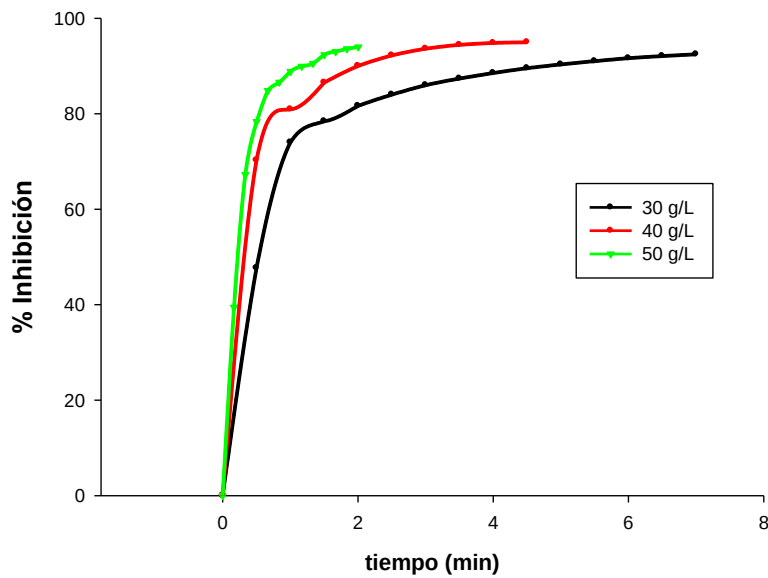
- **Extracto DM:**

Gráfico 25. Comportamiento de diferentes concentraciones del extracto DM en el tiempo frente al porcentaje de DPPH• Remanente



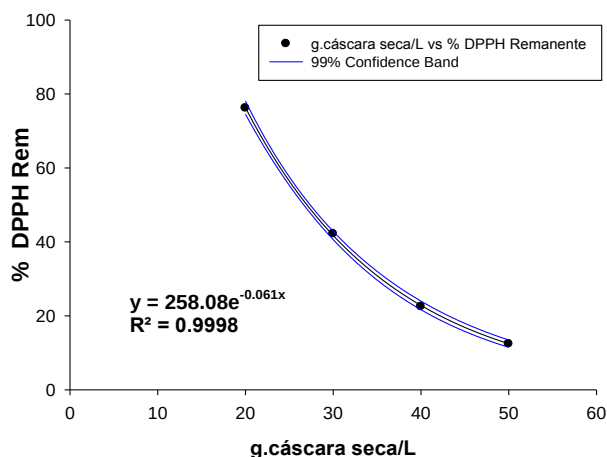
Fuente: Este estudio

Gráfico 26. Comportamiento de diferentes concentraciones del extracto DM en el tiempo frente al Porcentaje de Inhibición



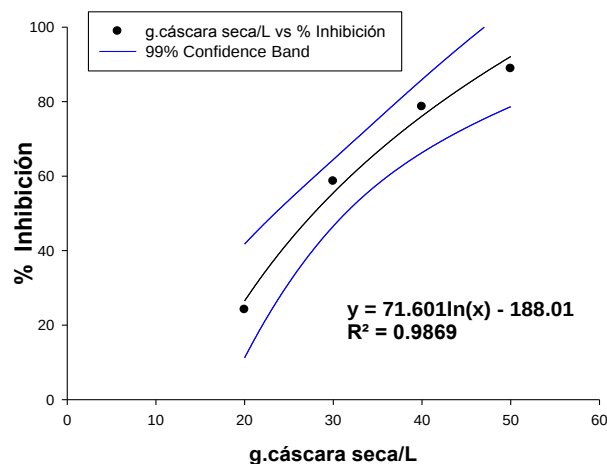
Fuente: Este estudio

Gráfico 27. Curva para determinar EC_{50} con diferentes concentraciones del extracto DM



Fuente: Este estudio

Gráfico 28. Curva para determinar IC_{50} con diferentes concentraciones del extracto DM



Fuente: Este estudio

Tabla 18. Eficiencia antirradical en extracto de DM.

Extracto	$C_{Patrón}^a$	$C_{Patrón}^b$	% DPPH• Rem	Tiempo (min)	EC_{50}	IC_{50}	T_{EC50} (min)	EA ($\times 10^{-3}$)
DM	25804,5	30	58,619	5,51	26,906	27,774	6,01	6,183
	34405,9	40	78,619	4,51				
	43007,4	50	88,840	3,17				

a: g de cáscara seca/Kg DPPH•; b: g de cáscara seca/L

Fuente: Este estudio.

La tabla 19 muestra el promedio de los parámetros calculados mediante el método de DPPH para los extractos de cáscaras de papa evaluados. Todos los extractos mostraron un comportamiento similar respecto a la concentración del antioxidante y la cantidad de DPPH remanente, es decir, que a mayor concentración se redujo una mayor cantidad del radical, sin embargo el tiempo no presentó un comportamiento homogéneo, por lo tanto la eficiencia antirradical permitió realizar una comparación precisa de los antioxidantes.

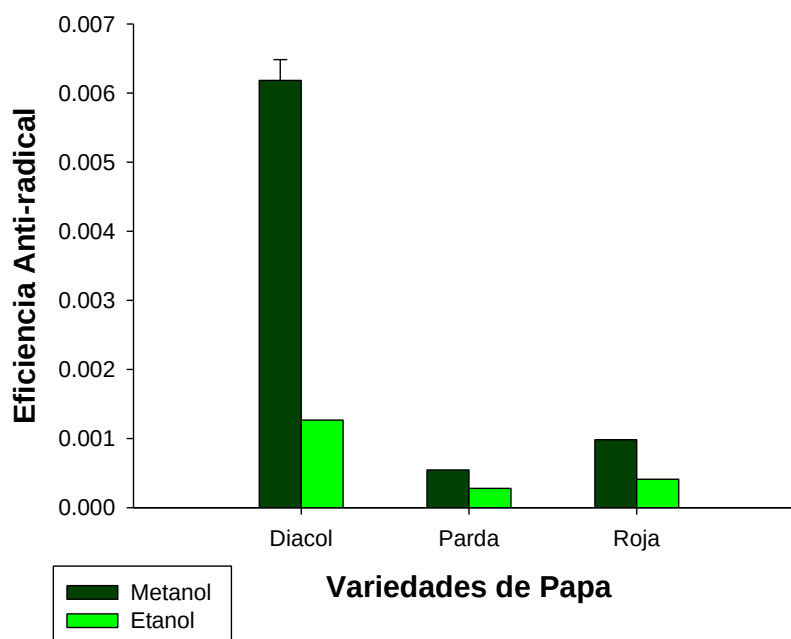
Tabla 19. Resumen de las eficiencias antirradical en los extractos evaluados

Extracto	$EC_{50}^a (\pm DE)$	IC_{50}^a	T_{EC50} (min)	$EA^b (\pm DE)$
Diacol Metanol	26,906 $\pm$ 0.027	27,774 $\pm$ 0.027	6,01	6,183 $\times 10^{-3} \pm$ 0.0003
Diacol Etanol	25,437 $\pm$ 0.044	23,070 $\pm$ 0.044	31,01	1,268 $\times 10^{-3} \pm$ 0.0001
Parda Metanol	29,765 $\pm$ 0.730	27,527 $\pm$ 0.730	61,43	5,469 $\times 10^{-4} \pm$ 0.0001
Parda Etanol	58,650 $\pm$ 2.540	58,172 $\pm$ 2.540	61,078	2,791 $\times 10^{-4} \pm$ 0.0001
Roja Metanol	25,00 $\pm$ 0.017	23,318 $\pm$ 0.017	40,67	9,835 $\times 10^{-4} \pm$ 0.0001
Roja Etanol	35,967 $\pm$ 0.072	35,526 $\pm$ 0.072	67,617	4,118 $\times 10^{-4} \pm$ 0.0001

a:g de cáscara seca/L; b:Eficiencia antirradical

Fuente: Este estudio

Grafica 29. Eficiencia antirradical en los extractos de cáscaras de papa evaluados



Fuente: Este estudio

En la tabla 20 se observa el análisis de varianza (ANOVA), en la cual se indica los factores más influyentes para la eficiencia antirradical, con un intervalo de confianza del 95%, de esta manera se establece que los factores evaluados: variedad de cáscara de papa (A) y tipo de solvente (B), presentan un efecto estadísticamente significativo al igual que la interacción variedad de cáscara de papa-tipo de solvente (AB), pues su p-valor es menor a 0.05, por lo cual se puede establecer que hay diferencias entre los diferentes tratamientos utilizados para la extracción.

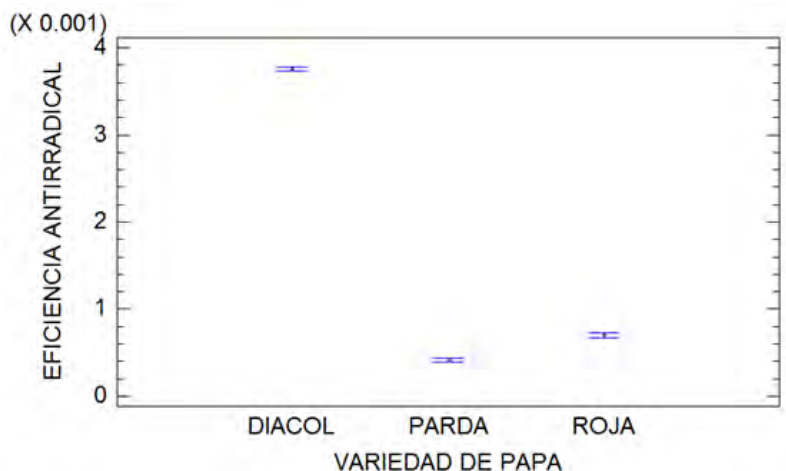
Tabla 20. Análisis de varianza para la eficiencia antirradical para los extractos de cáscara evaluados.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>de G.L.</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>p-valor</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: VARIEDAD DE PAPA	0.0000412963	2	0.0000206482	11405.52	0.0000
B: TIPO DE SOLVENTE	0.0000169436	1	0.0000169436	9359.19	0.0000
INTERACCIONES					
AB	0.0000209004	2	0.0000104502	5772.43	0.0000
RESIDUOS	2.17244E-8	12	1.81037E-9		
TOTAL (CORREGIDO)	0.0000791621	17			

Fuente: Este estudio

La diferencia de eficiencia antirradical para las cáscaras de papa de las tres variedades evaluadas se puede observar en el gráfico 30, en el cual se indica que las tres variedades empleadas para la extracción presentan diferencias estadísticamente significativas, además se puede determinar que se presentó un mayor eficiencia antirradical con la cáscara de papa de la variedad diacol capiro y un menor valor con la cáscara de la variedad parda pastusa.

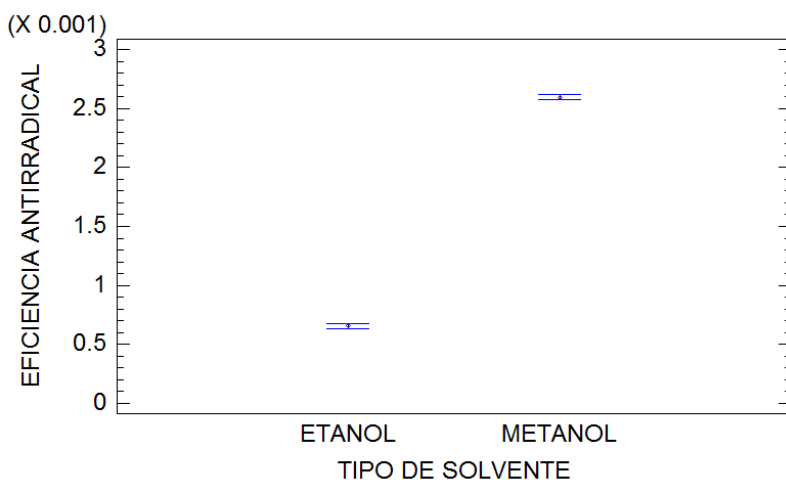
Gráfico 30. Gráfico de medias de LSD de Fisher la eficiencia antirradical con relación a la variedad de papa



Fuente: Este estudio

La diferencia de la eficiencia antirradical con relación al tipo de solvente empleado se puede analizar en el gráfico 31, en donde se puede establecer una diferencia estadísticamente significativa con relación a los dos solventes empleados para la extracción y se obtiene una mayor eficiencia antirradical cuando se emplea metanol como solvente para la extracción.

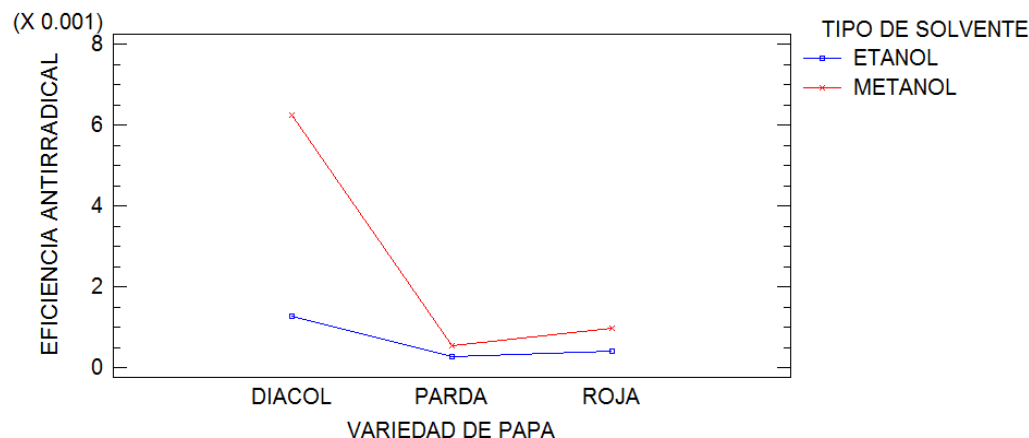
Gráfico 31. Gráfico de medias de LSD de Fisher la eficiencia Antirradical con relación al tipo de solvente



Fuente: Este estudio

La interacción de los dos factores evaluados frente a la eficiencia antirradical de los extractos se puede observar en el gráfico 32, en donde obtiene el mayor valor de eficiencia antirradical cuando se trabajó con cáscara de papa de la variedad diacol capiro y metanol HPLC como solvente para la extracción.

Gráfico 32. Gráfico de interacciones para la eficiencia antirradical con relación al tipo de solvente



Fuente: Este estudio

Los resultados anteriores indican que el extracto RM presenta un mejor comportamiento respecto a los parámetros EC_{50} e IC_{50} , puesto que la cantidad necesaria para disminuir la concentración del radical inicial a la mitad es de 25,00g/L y con 23,318g/L se inhibe el 50% del DPPH. Sin embargo el tiempo para alcanzar dicha concentración es superior al encontrado en el extracto DM disminuyendo la EA del extracto RM.

Los extractos DM presentaron un mejor comportamiento con una EA de $6,183 \times 10^{-3}$ bajo estas circunstancias este término permite realizar una comparación más clara acerca de la cinética de los extractos con características antioxidantes.

De acuerdo a la clasificación de Sánchez (1998), todos los extractos de cáscaras de papa presentaron una EA “baja”. El orden de EA de los extractos evaluados fue de DM>DE>RM>PM>RE>PE. Al relacionar los resultados con la prueba de ABTS se observa un orden similar en el comportamiento de los extractos de acuerdo a su capacidad antioxidante.

No obstante, cabe destacar que en la prueba del radical ABTS, el extracto DM apenas es 0,93 veces mayor que el extracto RM y en términos de EA esta diferencia es 6 veces mayor.

Este efecto demuestra la necesidad de realizar las dos pruebas (ABTS y DPPH) cuando se evalúan compuestos con actividad antioxidante, ya que cada una brinda información diferente pero a la vez complementaria en el estudio de los extractos, debido a que, cuando se utiliza el radical ABTS se determina la actividad antioxidante equivalente a un análogo hidrosoluble del alfa-tocofero (Trolox), mientras que el método DPPH permite evaluar el comportamiento del compuesto antioxidante durante el tiempo, es decir, la capacidad que tiene de inhibir el radical durante un lapso de tiempo. Además las diferencias termodinámicas de los radicales, propicia a que estos sean reducidos por compuestos fenólicos de diferentes potenciales redox. (Jiménez y Villareal, 2008).

Rumbaoa *et al.*, (2009) determinaron la actividad antioxidante de extractos metanólicos de cuatro variedades de papa (Bengueta, Ganza, Igorota y 125411.22), los resultados indican que la cantidad necesaria para reducir el radical DPPH a la mitad, es decir, el parámetro E_{C50} para las cuatro variedades fue superior a 30,6 e inferior a 48,6 mg/mL de muestra seca. Con estos resultados se puede establecer que la variedad DM presentó una mayor cantidad de compuestos fenólicos, puesto que se necesitó menor cantidad del extracto antioxidante para inhibir el 50% del radical.

6.4 ANÁLISIS DE ÁCIDO CAFEICO EN EXTRACTOS METANOLICOS DE CÁSCARAS DE PAPA POR HPLC-PDA.

Los resultados obtenidos del análisis de ácido cafeico en los extractos metanólicos de cáscara de papa de las variedades diacol capiro, parda pastusa y roja Nariño se registran en la tabla 21, en la cual se puede observar que la cáscara de papa de la variedad diacol capiro presentó un mayor contenido de ácido cafeico, con un valor de 0.375 mg/g de cáscara de papa seca, de esta manera se puede observar en un mayor pico en el perfil cromatográfico (CLAE-DAD) (Figura 17). Lo anterior confirma los resultados obtenidos en la determinación de fenoles totales en los extractos evaluados.

Con relación a otras variedades de papa, Weshahy *et al.*, (2011), encontró concentraciones de ácido cafeico de 1,06 y 0,38 mg/ g de cáscara de papa seca, para la variedades Penta y Marcy respectivamente, el mismo autor en 2009, reportó concentraciones de ácido cafeico de seis variedades de papa en un rango de 0,41 a 0,72 mg/ g de cáscara de papa seca y Koduvayur *et al.*, (2010), encontró concentraciones de 1,0 y 1,2 mg/g de cáscara de papa seca, con lo cual se puede establecer que las concentraciones en cuanto a ácido cafeico para las cáscaras de papa de la variedades diacol capiro, parda pastusa y roja Nariño son menores que las reportadas por los autores.

Tabla 21. Análisis de ácido cafeico en cascara de papa por HPLC-PDA.

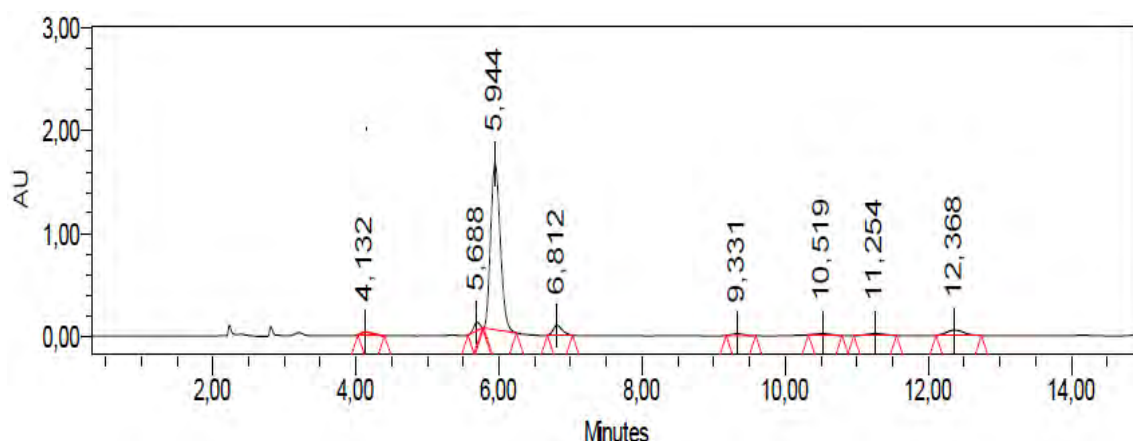
<i>Variedad</i>	<i>tR (minutos)</i>	<i>Concentración (mg/L)</i>	<i>Concentración (mg/g de cáscara de papa seca)</i>
Diacol Capiro	5,950	150	0.375
Parda Pastusa	5,952	11,5	0.029
Roja Nariño	5,932	81,6	0.204

tR: Tiempo de retención; Longitud de onda max = 330 nm

Fuente: Este estudio

La figura 17 muestra el perfil cromatográfico del extracto diacol -metanol, el cual presentó un mayor contenido de ácido cafeico.

Figura 17. Perfil cromatográfico (CLAE-DAD) del extracto DM



Fuente: Este estudio

6.5 ESTUDIO DEL EFECTO DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA Y EL TIEMPO DE CONTACTO SOBRE EL CONTENIDO DE FENOLES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.

Con los resultados anteriores se encontró que los extractos metanólicos de la cáscara de papa de la variedad diacol capiro, presentaron el mayor valor en todos los parámetros evaluados, frente a los otros extractos. Bajo estas condiciones se trabajó a diferentes niveles de tamaño de partícula de la cáscara de papa y a diferentes tiempos de extracción.

El tamaño de partícula se analizó utilizando el diámetro medio de las partículas de la cáscara de papa retenidas en los tamices número: 60, 80 y 100 en la serie de tamices A.S.T.M.E (Tabla 7), correspondientes a los diámetros de medios de

partícula de 0,335; 0,214; 0,163 mm respectivamente y se evaluaron tiempos de extracción de 16, 20 y 24 horas. De esta manera la combinación de los diferentes niveles de los dos factores evaluados se realizó de acuerdo a la matriz de diseño experimental propuesta en la metodología (Tabla 4).

6.5.1 Determinación de fenoles totales. La Tabla 22 muestra los resultados promedios del contenido de Fenoles Totales para los extractos de cascarás de papa de la variedad diacol capiro, utilizando metanol como solvente para la extracción.

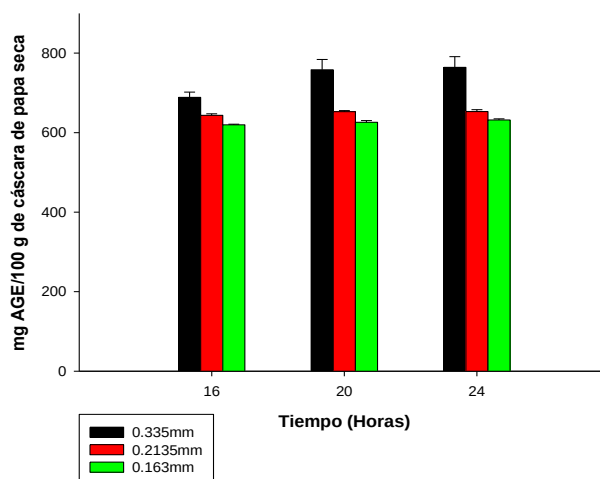
Tabla 22. Contenido de fenoles totales para los extractos de cascarás de papa

<i>Tamaño de Partícula (mm)</i>	<i>Tiempo de Contacto (Horas)</i>	<i>FENOLES TOTALES (mg AGE/100g de cáscara de papa seca) ($\pm DE^a$)</i>
0.335	16	688.875 $\pm$ 12.990
0.335	20	758.042 $\pm$ 26.051
0.335	24	764.292 $\pm$ 26.877
0.214	16	643.458 $\pm$ 3.819
0.214	20	652.625 $\pm$ 2.887
0.214	20	639.292 $\pm$ 4.330
0.214	24	653.042 $\pm$ 4.732
0.163	16	619.708 $\pm$ 1.443
0.163	20	625.958 $\pm$ 4.390
0.163	24	631.792 $\pm$ 2.887

Fuente: Este estudio

En el gráfico 33 se presentan los resultados del contenido de fenoles totales para los factores analizados (Tamaño de partícula y tiempo), de la cual se puede establecer que el mayor valor de fenoles totales es de 764.292 mg AGE/100g de cáscara de papa seca, lo cual se consigue empleando un tamaño de partícula de medio de 0,335 mm y un tiempo de extracción de 24 horas.

Gráfico 33. Contenido de Fenoles Totales



Fuente: Este estudio

La significancia estadística de los factores evaluados frente al contenido de fenoles totales se realizó utilizando un análisis de varianza (Tabla 23), en la cual se indica los parámetros más influyentes en la extracción de fenoles totales, con un nivel de confianza del 95%, es decir, con un error máximo permisible del 5%. Los factores e interacciones que presentaron un efecto estadísticamente significativo ($P < 0.05$) fueron: tamaño de partícula (A), la interacción tamaño de partícula-tamaño de partícula (AA), el tiempo (B) y la interacción tamaño de partícula-tiempo, las demás interacciones no mostraron efectos significativos sobre la variable respuesta en los niveles evaluados.

Tabla 23. Análisis de varianza para el contenido de fenoles totales

<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: Tamaño de Partícula	55694.5	1	55694.5	621.71	0.0001
B: Tiempo	4712.59	1	4712.59	52.61	0.0054
AA	8913.7	1	8913.7	99.50	0.0021
AB	3008.33	1	3008.33	33.58	0.0102
BB	455.363	1	455.363	5.08	0.1095
Bloques	526.354	2	263.177	2.94	0.1965
Falta de ajuste	5505.74	19	289.776	3.23	0.1815
Error puro	268.75	3	89.5833		
Total (corr.)	78662.3	29			

R-cuadrada = 92.659 porciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 91.1298porciento

Estadístico Durbin-Watson = 2.31121 ($P = 0.5755$)

Autocorrelación residual de Lag 1 = -0.205156

Fuente: Este estudio

El estadístico R-cuadrado indica que el modelo explica en un 92.659% la variabilidad del contenido de fenoles totales, con lo cual se puede deducir que el diseño cuenta con un buen ajuste, permitiendo hacer un análisis confiable sobre la variable implicada. El valor-P encontrado para el estadístico Durbin-Watson ($P=0.5755$), es mayor que 5.0%, lo que indica que no hay indicación de autocorrelación serial en los residuos de los datos, es decir que los experimentos fueron realizados aleatoriamente de manera adecuada.

La prueba de falta de ajuste que se muestra en la tabla 23, diseñada para determinar si el modelo seleccionado es adecuado para describir los datos observados o si un modelo más complejo debe ser usado. Dado que el p-valor para esta prueba fue mayor a 0,05; se puede establecer que el modelo empleado, es adecuado para describir los datos de fenoles totales encontrados con un 95% de nivel de confianza.

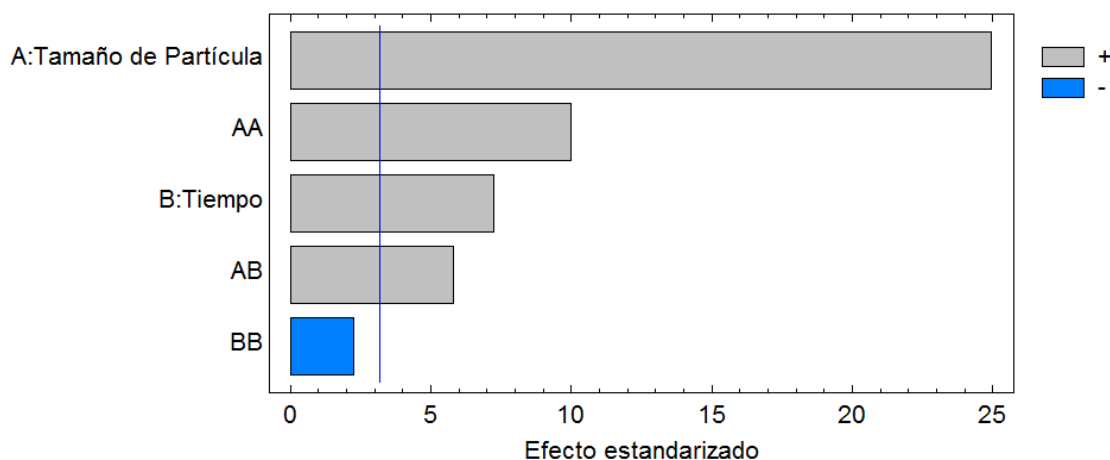
El modelo matemático encontrado para estimar el contenido de fenoles totales en función los dos factores y sus interacciones es el siguiente:

$$\text{Fenoles Totales} = 735.904 - 2676.51 \cdot \text{Diametro de partícula} + 12.7481 \cdot \text{Tiempo} + 4824.84 \cdot \text{Diametro de partícula}^2 + 46.0271 \cdot \text{Diametro de partícula} \cdot \text{Tiempo} - 0.504092 \cdot \text{Tiempo}^2$$

El gráfico 34 muestra el diagrama de Pareto estandarizado, el cual es una representación gráfica del análisis de varianza donde igualmente se observa los factores más influyentes, en su respectivo orden sobre el contenido de fenoles totales, los factores tamaño de partícula y tiempo ejercen un efecto positivo (+), por lo cual son directamente proporcionales a la variable de respuesta (Fenoles totales), de esta manera, la variable de respuesta aumenta a medida que aumenta el tamaño de partícula y el tiempo de extracción bajo los niveles evaluados.

El diagrama incluye una línea vertical cuya ubicación depende del intervalo de confianza determinado (95%), de esta manera los efectos que sobrepasen la línea son considerados como significativos para el procesos de extracción de fenoles totales, observando claramente en el diagrama que los factores más influyentes sobre el contenido de fenoles totales son, en su orden, tamaño de partícula (A), la interacción tamaño de partícula-tamaño de partícula (AA), el tiempo (B) y la interacción tamaño de partícula-tiempo (AB), esto indica que un cambio en el factor diámetro de partícula tendrá un efecto más relevante que cualquier cambio de otra variable como el tiempo de extracción, por su parte la interacción tiempo-tiempo presentó un efecto negativo en el contenido de fenoles totales, pero este efecto no es significativo

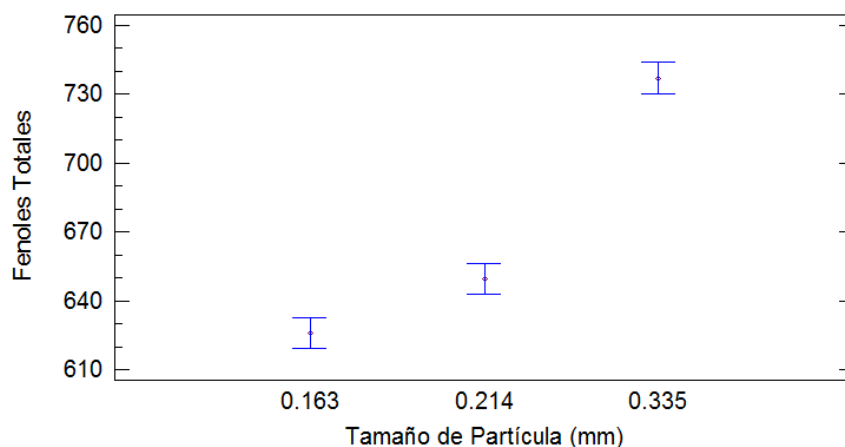
Gráfico 34. Gráfico de Pareto estandarizado para el contenido de fenoles totales



Fuente: Este estudio

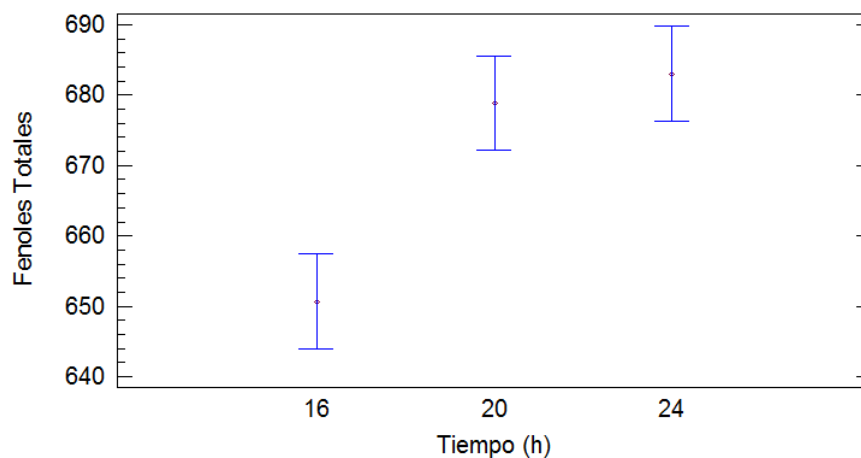
Se realizó un análisis de diferencias mínimas significativas (Gráficos 35 y 36), con el fin de conocer entre cuales niveles de los factores se presentaron diferencias significativas, de esta manera se puede observar que para el factor tamaño de partícula, los tres niveles evaluados presentaron diferencias estadísticamente significativas. Con relación al tiempo se puede establecer que no existe una diferencia estadísticamente significativa cuando se trabaja con tiempos de 20 y 24 horas en los cuales se obtiene una mayor extracción de compuestos fenólicos.

Gráfico 35. Gráfico de medias para el contenido de fenoles totales con relación al tamaño de partícula.



Fuente: Este estudio

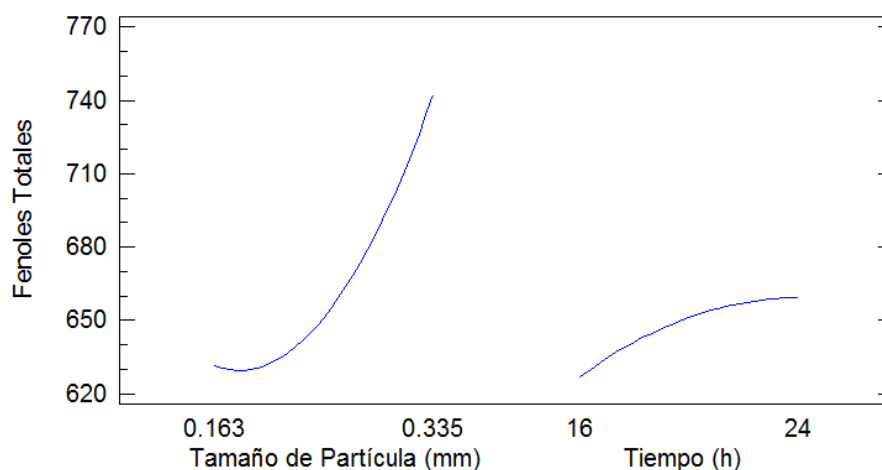
Gráfico 36. Gráfico de medias para el contenido de fenoles totales con relación al tiempo



Fuente: Este estudio

El gráfico 37 muestra el efecto particular de cada uno de los factores en estudio sobre la variable de respuesta (Fenoles totales), de esta manera, las representaciones de los efectos del tamaño de partícula y el tiempo presentan pendientes que explican la significancia de estos efectos para el proceso y la sensibilidad de la variable de respuesta a estos factores, comportamiento que ya se observaba en el diagrama de pareto estandarizado. El efecto del factor diámetro de partícula, presenta una pendiente más pronunciada y que a medida que aumenta el tamaño de partícula aumenta el contenido de compuestos fenólicos, lo que hace que esta variable sea de gran importancia para la extracción de compuestos fenólicos, mientras que el factor tiempo presenta un bajo valor de pendiente; esto indica que un pequeño cambio en el factor tamaño de partícula puede representar un gran aumento o disminución en el contenido de compuestos fenólicos

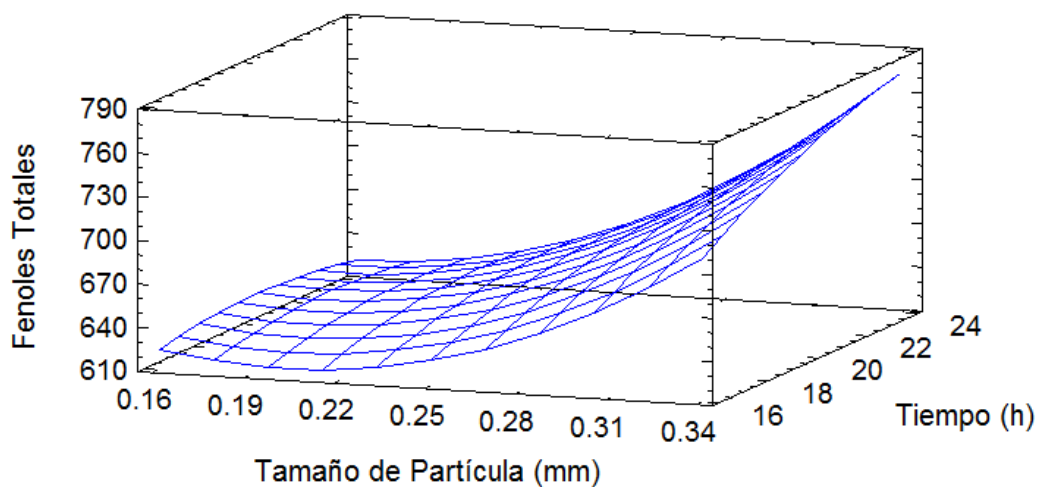
Gráfico 37. Gráfico de efectos principales para el contenido de fenoles totales



Fuente: Este estudio

El análisis de superficie de respuesta del gráfico 38, indica que las condiciones óptimas de extracción de compuestos fenólicos bajo los niveles evaluados, se alcanza trabajando con un tamaño de partícula de 0.335 mm y un tiempo de 24 horas, con las cuales se logra un contenido de fenoles de 766.4mg AGE/g de cáscara de papa seca, valores que se pueden verificar en la tabla de respuesta optima (Tabla 24), donde se encuentran los puntos óptimos arrojados por el programa estadístico para el proceso de extracción en el rango experimental estudiado.

Gráfico 38. Superficie de respuestas estimada para fenoles totales



Fuente: Este estudio

Tabla 24. Óptima Respuesta para el contenido de fenoles totales

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo</i>
Tamaño de partícula	0.163	0.335	0.335
Tiempo	16.0	24.0	24.0

Respuesta Optimizada

Meta: Maximizar Fenoles Totales

Valor Optimo = 766.4mg AGE/g de cáscara de papa seca

Fuente: Este estudio.

6.5.2 Determinación de la actividad antioxidante:

6.5.2.1 Ensayo ABTS. En la tabla 25, se observan los promedios de los resultados de la prueba de actividad antioxidante expresada como TEAC para los extractos de cáscara de papa evaluados a diferente tamaño de partícula y tiempo de contacto.

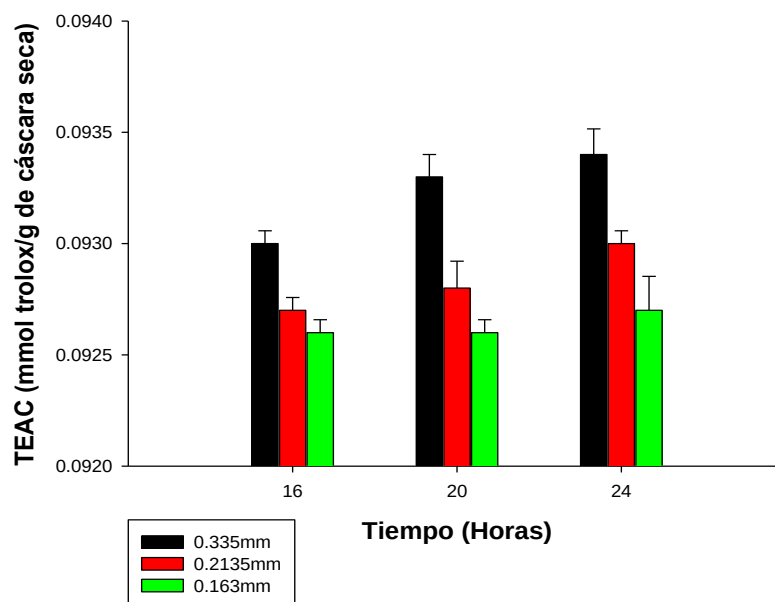
Tabla 25. Valores de actividad antioxidante expresados en TEAC

<i>Diámetro de Partícula (mm)</i>	<i>Tiempo de Contacto (Horas)</i>	<i>TEAC (mmol Trolox/g de cáscara de papa seca) ($\pm DE^a$)</i>
0.335	16	0,0930 $\pm$ 0.00006
0.335	20	0,0933 $\pm$ 0.00010
0.335	24	0,0934 $\pm$ 0.00012
0.214	16	0,0927 $\pm$ 0.00006
0.214	20	0,0928 $\pm$ 0.00013
0.214	20	0,0926 $\pm$ 0.00013
0.214	24	0,0930 $\pm$ 0.00006
0.163	16	0,0926 $\pm$ 0.00006
0.163	20	0,0926 $\pm$ 0.00006
0.163	24	0,0927 $\pm$ 0.00015

Fuente: Este estudio

El gráfico 39 muestra los resultados para las diferentes combinaciones de los factores evaluados (tamaño de partícula y Tiempo), de lo cual se puede establecer que se presentó una mayor actividad antioxidante con 0,0934 mmol trolox/g de cáscara de papa seca, cuando se trabajó a un tamaño de partícula de 0.335 mm y un tiempo de extracción de 24 horas.

Gráfico 39. Actividad antioxidante en TEAC para los extractos evaluados:



Fuente: Este estudio

El análisis de varianza (Tabla 26) para la actividad antioxidantes expresada como TEAC indica que un factor tamaño de partícula (A), presentó un efecto estadísticamente significativo ($P < 0,05$) sobre la actividad antioxidante, el factor tiempo y las interacciones no 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 90.25% 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 ($P = 0.9359$), es mayor que 5.0%, lo que indica que no hay indicación de autocorrelación, fue mayor a 0,05, se puede establecer que el modelo empleado, es adecuado para describir los datos de fenoles totales encontrados con un 95% de nivel de confianza.

Tabla 26. Análisis de varianza para la actividad antioxidante expresada en TEAC

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>de G.L.</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>p-valor</i>
A: Tamaño de Partícula	0.000001805	1	0.000001805	77,36	0.0031
B: Tiempo	2.22222E-7	1	2.22222E-7	9,52	0.0539
AA	9.92063E-8	1	9.92063E-8	4,25	0.1312
AB	4.08333E-8	1	4.08333E-8	1,75	0.2777
BB	8.92857E-9	1	8.92857E-9	0,38	0.5800
Bloques	1.86667E-8	2	9.33333E-9	0,40	0.7015
Falta de ajuste	1.68516E-7	19	8.86926E-9	0,38	0.9202
Error total	7 E-8	3	1.08416E-8		
Total (corr.)	0.00000244667	29			

R-cuadrada = 90.2514 porciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 88.2204 porciento

Estadístico Durbin-Watson = 2.79649 (P=0.9359)

Autocorrelación residual de Lag 1 = -0.432267

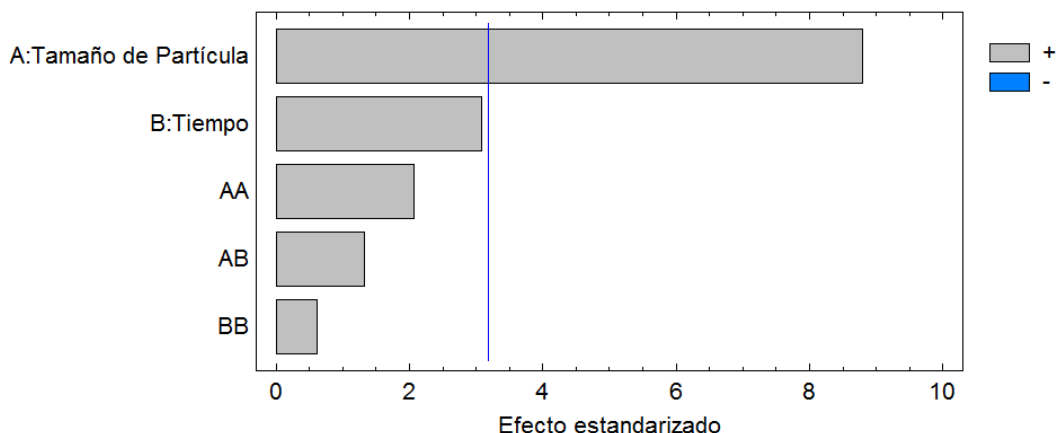
Fuente: Este estudio

El modelo matemático encontrado para estimar la actividad antioxidante en TEAC en función los dos factores y sus interacciones es el siguiente

$$\text{TEAC} = 0.0940367 - 0.00772522 \cdot \text{Tamaño de Partícula} - 0.000103732 \cdot \text{Tiempo} + 0.0160962 \cdot \text{Tamaño de Partícula}^2 + 0.000169574 \cdot \text{Tamaño de Partícula} \cdot \text{Tiempo} + 0.00000223214 \cdot \text{Tiempo}^2$$

En el gráfico 40 se observa el diagrama de Pareto estandarizado, el cual muestra los factores e iteraciones más significativos con relación a la actividad antioxidante, se puede observar que los factores diámetro de partícula y el tiempo, así como las interacciones ejercen un efecto positivo (+) sobre la actividad antioxidante, pero solo el tamaño de partícula ejerce un efecto estadísticamente significativo sobre la variable de respuesta evaluada, es decir que a medida que aumenta tamaño de partícula aumenta la actividad antioxidante.

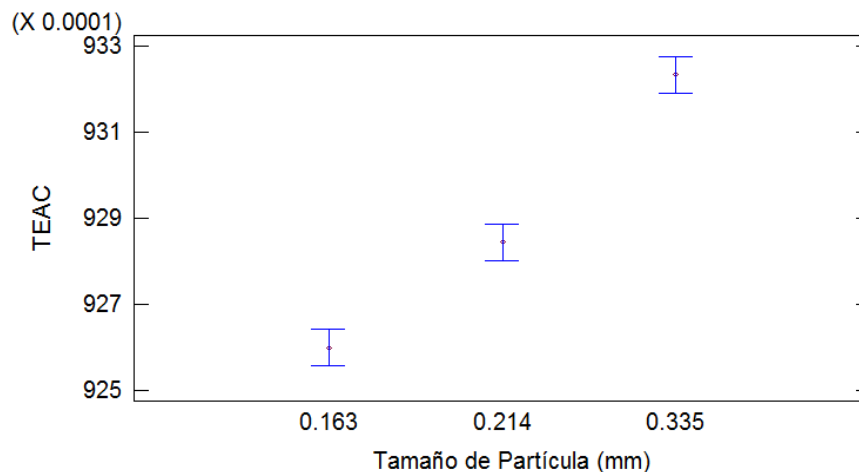
Gráfico 40. Gráfico de Pareto estandarizado para la actividad antioxidante expresada en TEAC



Fuente: Este estudio

Como la tabla ANOVA y el gráfico de Pareto indicaron que solo el tamaño de partícula ejerce 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 41, 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 0.335 mm

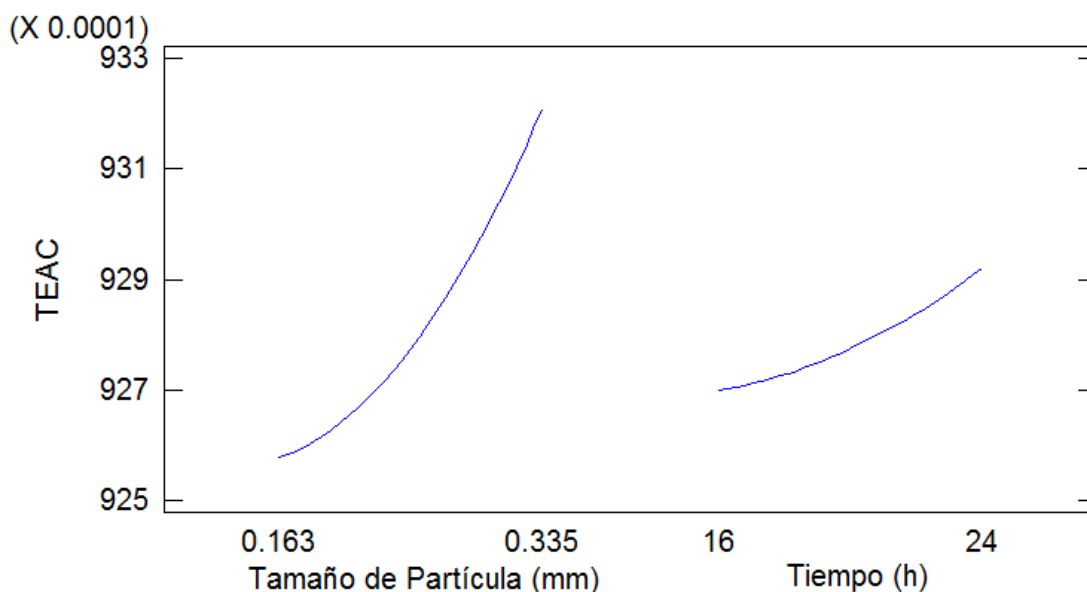
Gráfico 41. Gráfico de medias para la actividad antioxidante en TEAC con relación al tamaño de partícula.



Fuente: Este estudio

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 42, 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).

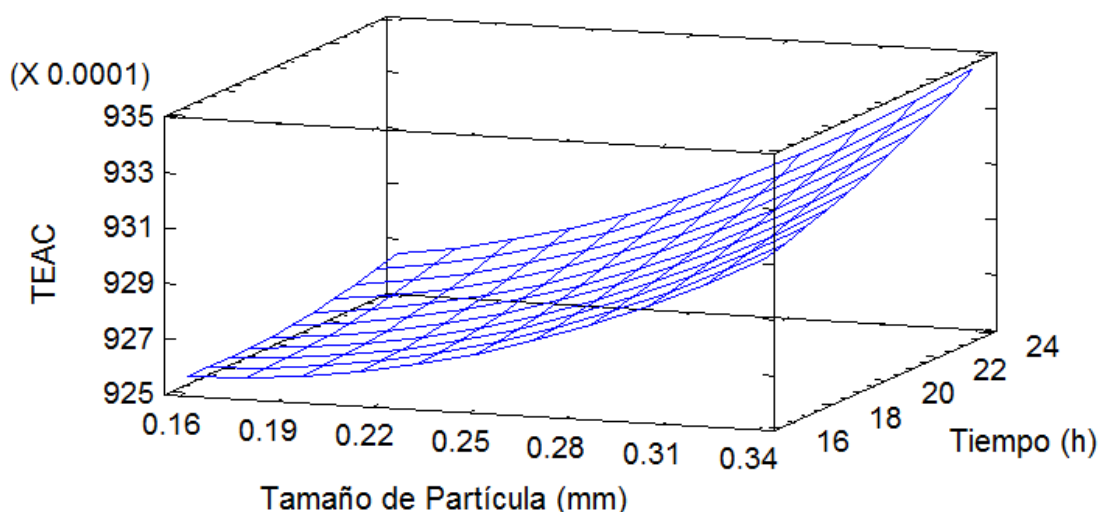
Gráfico 42. Gráfico de efectos principales de actividad antioxidante en TEAC



Fuente: Este estudio

El análisis de superficie de respuesta del gráfico 43, indica que las condiciones óptimas para alcanzar la mayor actividad antioxidante, bajo los niveles evaluados, se alcanza trabajando con un tamaño de partícula de 0.335 mm y un tiempo de 24 horas, con las cuales se logra una actividad antioxidante de 0,0934mm de Trolox/g de cáscara de papa seca, valores que se pueden verificar en la tabla de respuesta optima (Tabla 27), donde se encuentran los puntos óptimos arrojados por el programa estadístico para el proceso de extracción en el rango experimental estudiado.

Gráfico 43. Superficie de respuestas estimada para actividad antioxidante en TEAC.



Fuente: Este estudio

Tabla 27. Óptima respuesta para la actividad antioxidante en TEAC

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo</i>
Tamaño de partícula	0.163	0.335	0.335
Tiempo	16.0	24.0	24.0

Fuente: Este estudio

Respuesta Optimizada

Meta: Maximizar TEAC

Valor Optimo= 0.0934 mmol de Trolox/g de cáscara de papa seca

6.5.2.2 Ensayo DPPH. Se determinó la eficiencia antirradical de los extractos DM para las diferentes combinaciones de tamaño de partícula y tiempo de contacto evaluados.

En la tabla 28, se indican los promedios de los resultados de la prueba de actividad antioxidante expresados como eficiencia antirradical para los extractos de cáscara evaluados a diferente tamaño de partícula y tiempo de contacto.

Tabla 28. Valores de eficiencia antirradical para los extractos evaluados

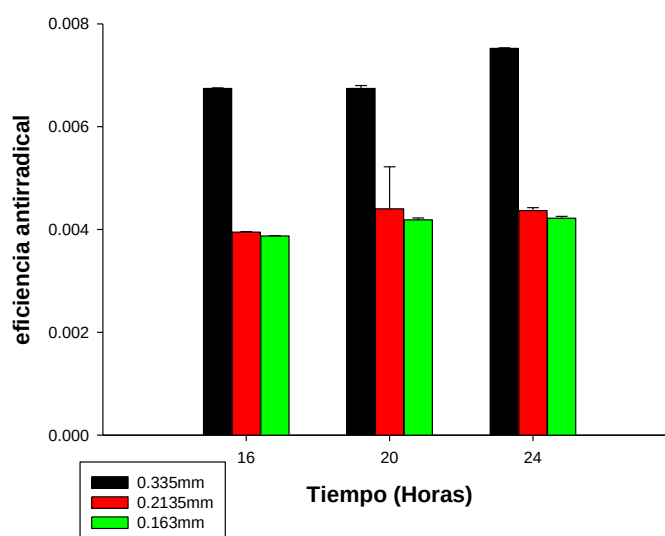
<i>Díámetro de Partícula (mm)</i>	<i>Tiempo de Contacto (Horas)</i>	<i>EC₅₀^a</i>	<i>IC₅₀^a</i>	<i>T_{EC50} (min)</i>	<i>EA^b (x 10⁻³) (±DE^c)</i>
0.335	16	25,81	24,54	5,75	6,743 ± 0.000012
0.335	20	25,77	24,60	6,10	6,743 ± 0.000058
0.335	24	21,76	24,448	6,10	7,523 ± 0.000012
0.214	16	29,18	28,05	8,70	3,947 ± 0.000012
0.214	20	27,23	24,36	8,76	4,187 ± 0.000815
0.214	20	27,45	24,79	8,30	4,403 ± 0.000815
0.214	24	26,13	19,20	8,70	4,367 ± 0.000058
0.163	16	28,38	28,72	9,10	3,874 ± 0.000005
0.163	20	28,15	28,10	8,50	4,187 ± 0.000037
0.163	24	27,44	27,22	8,60	4,220± 0.000035

a: g de cáscara seca/L; b:eficiencia antirradical; c: Desviación estándar

Fuente: Este estudio

La gráfico 44, muestra los resultados para las diferentes combinaciones de los factores evaluados (tamaño de partícula y tiempo) para la eficiencia antirradical, de lo cual se puede establecer que se presentó una mayor eficiencia antirradical de actividad antioxidante con $7,523 \times 10^{-3}$, cuando se trabajó a un tamaño de partícula de 0.335 mm y un tiempo de extracción de 24 horas.

Gráfico 44. Eficiencia antirradical para las diferentes combinaciones de los factores evaluados



Fuente: Este estudio

El análisis de varianza (Tabla 29) indica los parámetros más influyentes en la eficiencia antirradical, con un nivel de confianza del 95%, es decir, con un error máximo permisible del 5%. Los factores e interacciones que presentaron una influencia estadísticamente significativa fueron el factor tamaño de partícula (A) y la interacción tamaño de partícula-tamaño (AA) de partícula, el factor tiempo de extracción y las demás interacciones no mostraron efectos significativos sobre la variable respuesta en los niveles evaluados.

El estadístico R-cuadrado indica que el modelo explica en un 89.77% la variabilidad de la eficiencia antirradical. 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 ($P=0.5259$), es mayor que 5.0%, lo que indica que no hay indicación de autocorrelación serial en los residuos de los datos, además dado que el p-valor para la prueba de falta de ajuste fue mayor a 0,05, se puede establecer que el modelo empleado, es adecuado para describir los datos de fenoles totales encontrados con un 95% de nivel de confianza.

Tabla 29. Análisis de varianza para la eficiencia antirradical

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>de G.L.</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>p-valor</i>
A: Tamaño de partícula	0.0000319094	1	0.0000319094	49.77	0.0059
B: TIEMPO	0.00000187405	1	0.00000187405	2.92	0.1858
AA	0.00000695009	1	0.00000695009	10.84	0.0460
AB	5.09232E-7	1	5.09232E-7	0.79	0.4385
BB	1.3184E-7	1	1.3184E-7	0.21	0.6810
Bloques	2.74186E-7	2	1.37093E-7	0.21	0.8188
Falta de ajuste	0.00000280613	19	1.47691E-7	0.23	0.9828
Error puro	0.0000019233	3	6.411E-7		
Total (corr.)	0.0000462524	29			

R-cuadrada = 89.7747 porciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 87.6445 porciento

Estadístico Durbin-Watson = 2.2632 ($P=0.5259$)

Autocorrelación residual de Lag 1 = -0.432267

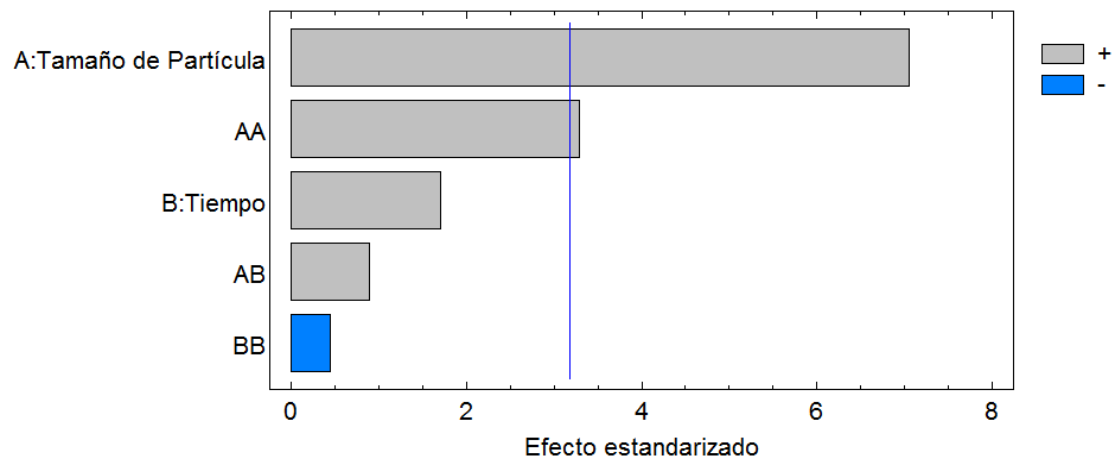
Fuente: Este estudio

El modelo matemático encontrado para estimar el contenido de fenoles totales en función los dos factores y sus interacciones es el siguiente

$$\text{Eficiencia Antirradical} = 0.00695632 - 0.063588 \cdot \text{Tamaño de Partícula} + 0.000274651 \cdot \text{Tiempo} + 0.134725 \cdot \text{Tamaño de Partícula}^2 + 0.000598837 \cdot \text{Tamaño de Partícula} \cdot \text{Tiempo} - 0.00000857738 \cdot \text{Tiempo}^2$$

El gráfico 45 muestra los factores e interacciones más significativos con relación a la eficiencia antirradical, los factores tamaño de partícula y tiempo y las interacciones a acepción de la interacción tiempo-tiempo ejercen un efecto positivo, es decir una relación directamente proporcional, con la eficiencia antirradical, pero que solo el factor tamaño de partícula y la interacción tamaño de partícula-tamaño de partícula ejercen un efecto estadísticamente significativa a la variable de respuesta bajo los niveles evaluados

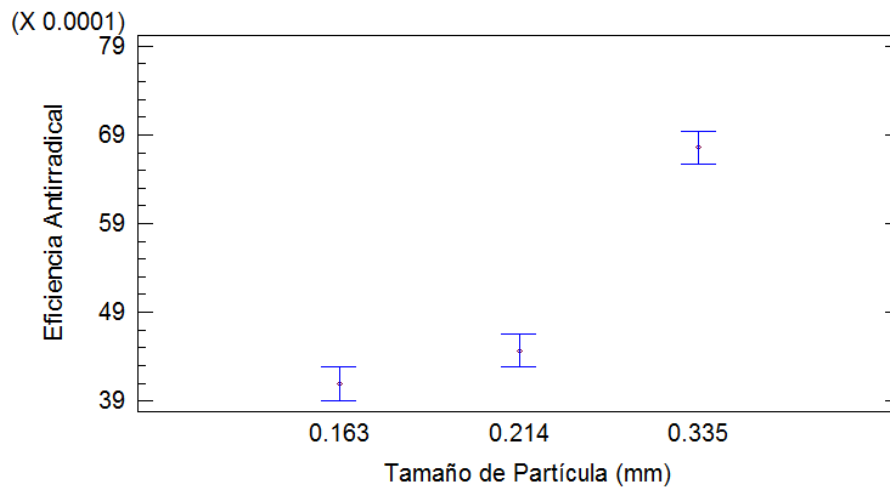
Gráfico 45. Gráfico de Pareto estandarizado para la eficiencia antirradical



Fuente: Este estudio

El gráfico 46 indica los tres niveles de tamaño de partícula evaluados presenta una diferencia estadísticamente significativa con relación a la eficiencia antirradical y que se presenta un mayor valor cuando se trabajo con un tamaño de partícula de 0.335 mm

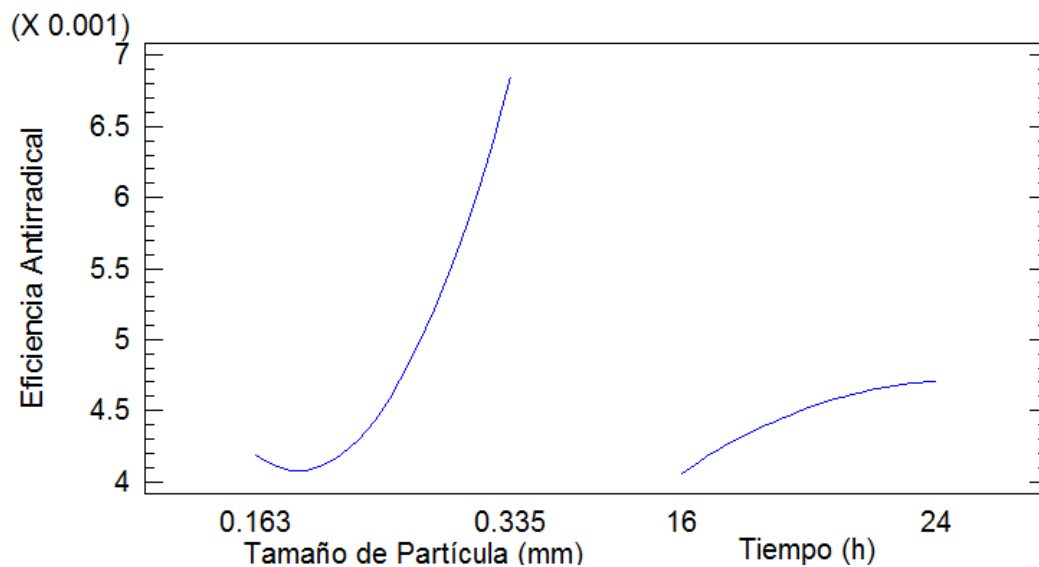
Gráfico 46. Gráfico de medias para la eficiencia antirradical con relación al tamaño de partícula.



Fuente: Este estudio

El efecto principal de cada uno de los efectos en estudio sobre la variable de respuesta eficiencia antirradical puede observarse con mayor claridad en la gráfico 47, 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 eficiencia antirradical.

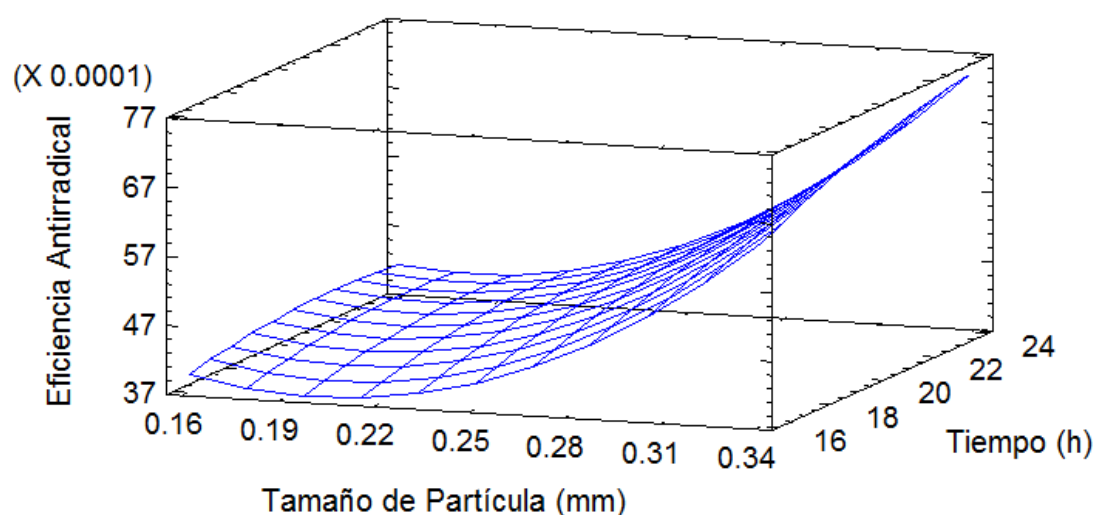
Gráfico 47. Gráfico de efectos principales para la eficiencia antirradical



Fuente: Este estudio

El análisis de superficie de respuesta del gráfico 48, indica que las condiciones óptimas de para obtener una mayor eficiencia antirradical bajo los niveles evaluados, se alcanza trabajando con un tamaño de partícula de 0.335 mm y un tiempo de 24 horas, con las cuales se logra una eficiencia antirradical de 0.00724, valores que se pueden verificar en la tabla de respuesta optima (Tabla 30), donde se encuentran los puntos óptimos arrojados por el programa estadístico para el proceso de extracción en el rango experimental estudiado.

Gráfico 48. Superficie de respuestas estimada para actividad antioxidante expresada en EA.



Fuente: Este estudio

Tabla 30. Óptima Respuesta para la eficiencia antirradical

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo</i>
Tamaño de partícula	0.163	0.335	0.335
Tiempo	16.0	24.0	24.0

Fuente: Este estudio

Respuesta Optimizada

Meta: Maximizar Eficiencia antirradical

Valor Optimo = 0.00724

6.6 COMPARACIÓN ENTRE LOS RESULTADOS DE LOS EXTRACTOS DE CÁSCARA DE PAPA Y OTROS PRODUCTOS.

Se llevó a cabo una comparación de los resultados de fenoles totales y actividad antioxidante de los extractos de cáscara de papa con pulpas de frutas conocidas y consumidas normalmente en la dieta alimentaria, de esta manera se tomó como referencia los estudios realizados por Kuskoski, *et al.*, (2005) y Jiménez y Villareal 2008, puesto a que la metodología empleada por estos autores son similares a la utilizada en la presente investigación, Además se realizó la comparación con jugos comerciales, de esta manera en la tabla 31 se presenta los resultados del estudio en el cual se contempla el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante en TEAC

Tabla 31 Contenido de fenoles totales y actividad antioxidante en diferentes productos

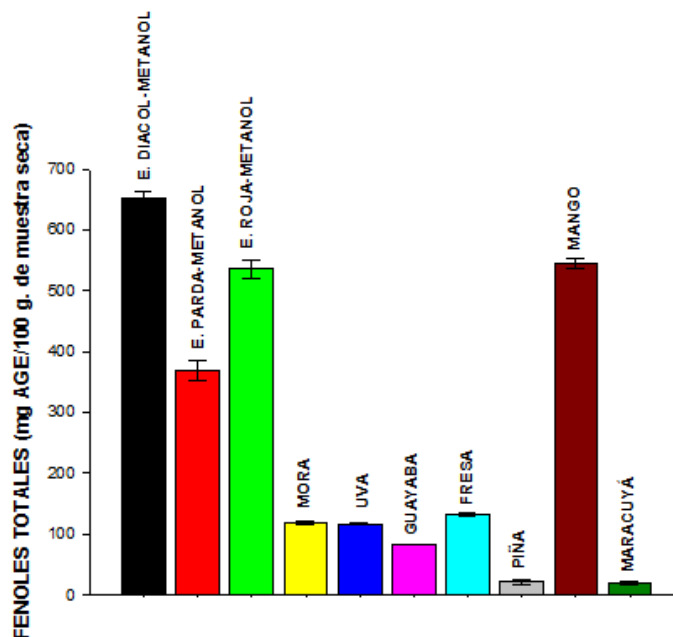
PRODUCTO	FENOLES TOTALES^a (±DE^e)	TEAC^b(±DE)	REFERENCIA
E. diacol- metanol	652.90 (± 10.58)	0.0928 (± 0.0002)	Esta investigación
E. parda- metanol	368.32 (± 16.38)	0.0796 (± 0.0011)	Esta investigación
E. roja-metanol	535.96 (± 15.73)	0.0867 (± 10.58)	Esta investigación
Pulpas de frutas^c			
Motilón	3895.39 (±30,769)	0.245 (±0.002)	(Jiménez y Villareal, 2008)
Mora	118.9 (±2.1)	0.0071 (±0.2)	(Kuskoski, <i>et al.</i> , 2005)
Uva	117.1 (±0.6)	0.0092 (±0.2)	(Kuskoski, <i>et al.</i> , 2005)
Guayaba	83.0 (±1.3)	0.0082 (±0.4)	(Kuskoski, <i>et al.</i> , 2005)
Fresa	132.1 (±3.8)	0.0120 (±0.3)	(Kuskoski, <i>et al.</i> , 2005)
Piña	21.7 (±4.5)	0.0034 (±0.3)	(Kuskoski, <i>et al.</i> , 2005)
Mango	544.9 (±7.3)	0.013.2 (±0.3)	(Kuskoski, <i>et al.</i> , 2005)
Maracuyá	20.0 (±2.6)	0.0027 (±0.1)	(Kuskoski, <i>et al.</i> , 2005)
Jugos comerciales^d			
Manzana	339 (± 43)	No reporta	(Gardner., <i>et al</i> 2000)
Naranja	755 (± 18)	No reporta	(Gardner., <i>et al</i> 2000)
Piña	358 (± 3)	No reporta	(Gardner., <i>et al</i> 2000)
Uva (Roja)	1728 (± 12)	No reporta	(Sanchez-Moreno <i>et al.</i> ,1999)
Uva (blanca)	519 (± 8)	No reporta	(Sanchez-Moreno <i>et al.</i> ,1999)

a: mg AGE/100 g de cáscara de papa seca; b:mmol trolox/g de cáscara seca;

c: mg AGE/100 g de peso de muestra; d: mg AGE/L; e:Desviación estándar

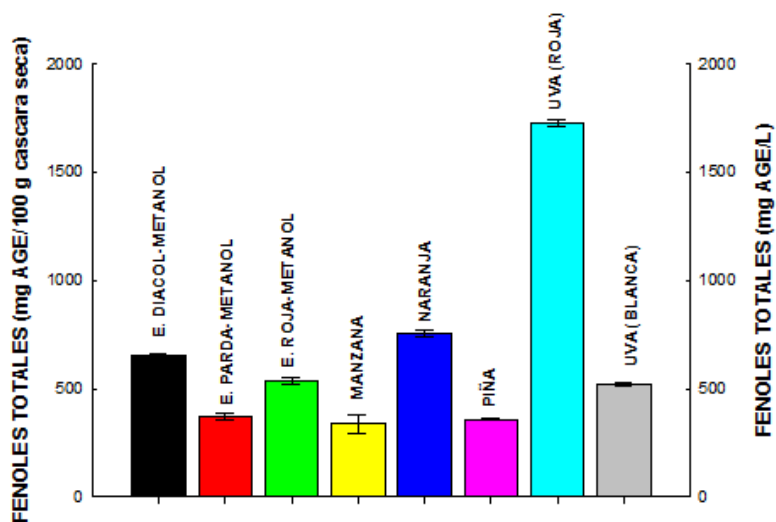
Fuente: Este estudio

Gráfico 49. Fenoles totales presentes en los extractos evaluados y diferentes pulpas de frutas



Fuente: Este estudio

Gráfico 50. Fenoles totales presentes los extractos evaluados y diferentes jugos comerciales.



Fuente: Este estudio

Al comparar contenido de fenoles totales presentes los extractos de cáscara de papa con las pulpas de los frutos y los jugos comerciales presentados en la tabla 31 (Gráfico 49 y 50), se aprecia que los extractos metanólicos de las cáscaras de papa de la variedad diacol capiro y roja nariño, tienen un contenido fenólico y actividad antioxidante superior a las pulpas de mora, uva, guayaba, fresa, piña, mango, maracuyá, aunque la pulpa de motilón presenta valores superiores que los encontrados para los extractos de cáscara de papa y para los reportados para las pulpas, puesto que este fruto es conocido como fuente de polifenoles entre los que se destaca las antocianinas (Jimenez y Villareal, 2008).

Con relación a los jugos se puede observar que los extractos de las variedades diacol capiro y roja Nariño presentan un mayor contenido de fenoles totales que los jugos de manzana, piña y uva (blanca), pero el contenido fenólico del jugo de naranja y uva (roja) es mayor que el de los extractos evaluados. Es importante destacar que las unidades de los extractos de cáscara de papa están expresados en mg AGE/100 g de cáscara de papa seca y las de los jugos en mg AGE/L

De acuerdo a lo anterior se puede afirmar que la cáscara de papa puede ser una fuente de compuestos fenólicos que constituye una alternativa para la extracción de compuestos antioxidantes, o de incluirla en la dieta humana, teniendo en cuenta los beneficios que muchos polifenoles traen a la salud humana, ya que el contenido fenólico y actividad antioxidante es superior que la mayoría de pulpas y algunos jugos comerciales reportados.

7. CONCLUSIONES

Los extractos metanólicos de la variedad diacol capiro presentaron el mayor contenido de compuestos fenólicos frente a las otras variedades evaluadas, de esta manera el contenido de fenoles totales en los extractos diacol-metanol fue de 652,90 mg AGE/100 g de cáscara de papa seca.

Se observaron diferencias significativas en la actividad antioxidante de los extractos de cascara debido a la variedad de papa y el tipo de solvente utilizada para la extracción, al aplicar el método ABTS, el extracto diacol-metanol, presentó la mayor actividad antioxidante con 0,0928 mmol de trolox/g de cáscara seca, frente a los otros extractos evaluados. En términos de eficiencia antirradical se observó el mismo comportamiento, con una mayor diferencia entre los extractos diacol-metanol frente a los demás extractos evaluados, demostrando la necesidad de realizar los dos métodos, para observar la evaluación del antioxidante similar a pruebas *in vivo*.

También se observaron diferencias estadísticamente significativas en el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante a diferentes tamaños de partícula y tiempos de extracción. El contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante fue mayor a un mayor tamaño de partícula y un mayor tiempo de extracción, encontrándose un valor óptimo a 24 horas y un tamaño promedio de partícula de 0.335 mm. Cabe destacar, que para la actividad antioxidante expresada en TEAC y la eficiencia antirradical el tiempo no tuvo un efecto significativo, ya que las variaciones en estos parámetros, fueron mínimas entre 16 a 24 horas de extracción.

El análisis HPLC de los extractos evaluados, demostró la presencia de compuestos fenólicos como el ácido cafeico con un valor de 0,375 mg/g de cáscara de papa seca para el extracto diacol-metanol que fue el que presentó el mayor contenido en los extractos evaluados, aunque este valor es menor a los reportados en la literatura para extractos de cáscara de papa de otras variedades.

Al realizar la comparación de los extractos de cáscara de papa evaluados en la investigación con otros productos, se puede afirmar que la cáscara de papa es fuente de compuestos fenólicos y que puede ser una gran alternativa para la extracción de compuestos antioxidantes, ya que el contenido fenólico y actividad antioxidante es superior a la mayoría de pulpas y algunos jugos de frutas comerciales reportados.

8. RECOMENDACIONES

Los resultados para la extracción de compuestos antioxidantes, sugieren que el tiempo de contacto entre la muestra y el solvente, puede ser menor sin que existan diferencias considerables en el contenido de fenoles y en la actividad antioxidante. Por lo tanto se recomienda para futuros estudios diseñar experimentos que exploren menores tiempos de extracción, puesto que este es un parámetro importante, desde el punto de vista de los costos en el diseño de una planta de extracción.

Los extractos de cáscara de papa, gracias a su poder antioxidante, pueden llegar a jugar un papel importante en la reducción del daño oxidativo a nivel celular, sin embargo no existen en la actualidad estudios que demuestran estas pruebas a nivel *in vivo*. Por lo tanto se deben realizar los esfuerzos necesarios para que las cáscaras de papa sean incluidas en la dieta humana, de tal manera que se realicen estudios donde esta sea aprovechada por el consumidor.

Los resultados del análisis proximal de la cáscara de papa de las tres variedades evaluadas evidencian diferencias en cuanto a su composición, por tanto se recomienda realizar un estudio que permita determinar qué influencia existe entre los componentes de la cáscara y su actividad antioxidante.

Evaluar la estabilidad del contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de los extractos de cáscara de papa a diferentes temperaturas y tiempos de almacenamiento.

Estudiar la extracción de compuestos con actividad antioxidantes utilizando tecnologías no convencionales como la extracción con fluidos supercríticos, ultrasonido y microondas, con el fin de evaluar la extracción frente al procedimiento convencional con solventes orgánicos.

Realizar estudios financieros que permitan establecer la viabilidad de la utilización de la cáscara de papa en la extracción de antioxidantes.

Realizar un estudio del efecto de los antioxidantes extraídos de la cáscara de estas variedades de papa sobre una base oleosa, que permita observar la posible aplicación de estos compuestos en un producto alimenticio.

BIBLIOGRAFÍA

ABDELAZIM, M. A., SARHAN, M. A., MAHMOUD, A., RAMADAN, M. F., SMETANSKA., I. (2010). Antioxidant efficacy of potato peels and sugar beet pulp extracts in vegetable oils protection. *Food Chemistry*. Vol 123: 1019-1026.

AMR, A., Y AL-TAMIMI, E. (2007). Stability of the crude extracts of *Ranunculus asiaticus* anthocyanins and their use as food colorants. *Journal of Food Science and Technology*. Vol 42: 985-991.

ANDERSSON A., GEKAS V., LIND I., OLIVEIRA F., ÖSTE R. (1994). Effect of preheating on potato texture. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Vol 34:229-251.

ANDRE, C., GHISLAIN, M., BERTIN, P., OUFIR, M., HERRERA, M., HOFFMANN, L., HAUSMAN, J., LARONDELLE, Y., & EVERS, D. (2007) Andean potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.) as a source of antioxidant and mineral micronutrients. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol 55 (2): 366- 378.

ANTOLOLOVICH, M., PRENZLER, P.D., PATSALIDES, E., MCDONALD, S., & ROBARDS, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127, 183-198.

ARAVENA, N., & LAGOS G. (2004). Evaluación de un extracto obtenido a partir de la fracción no exportable de mora cultivada var. Black satin (*rubus* sp.) Para su posible utilización como colorante natural. Universidad del Bío-Bío Facultad De Ciencias de la Salud y Alimentos, Chile.

ARNAO, M.B. (2000) Some methodological problems in the determination of antioxidant activity uusing chromogen radicals: a practical case. *Trends Food Sci. Technol.*, Vol11, 419-421.

ARNOUS, A.; MAKRRIS, D.; & KEFALAS, P. (2002). Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. *J. Food Comp. Anal.*, 15, 655-665.

ÁVILA, M., NASCIMENTO N., & MARTINS, L. (2002). Antioxidant action over extracts of the potato peel (*Solanum tuberosum*). Federal University of Santa Maria, *Food Science and Technology Department*. Vol 97: 105-900.

AWIKA, J. M., ROONEY, L. W., & WANISKA, R. D. (2005). Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. *Food Chemistry*. Vol 90: 293-301.

BANNAWART, G.C.M.C., & TOLEDO, M.C.F. (1999). Aspectos toxicológicos dos antioxidantes BHA, BHT y TBHQ. *Bol SBCTA Vol 33*: 245-255.

BORRUEY A., COTRINA F., MULA J., VEGA C. (2000). Calidad industrial y culinaria de las variedades de papa, pp. 1-15. In: Congreso Iberoamericano de Investigación y Desarrollo en papa. papa 2000. 3-6 Julio, Vitoria–Gastéis, España.

BOUCHER, F. En: IICA-PRODAR. Congreso Nacional de Ciencias y Tecnología de Alimentos. Lima: Centro Regional Andino, Santa Fe de Bogotá, Colombia. 1999.16 p.

BRAND-WILLAMS, W., CUVELIER, M., & BERSET, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft. Und-Technologie-Food Science And Technology. Vol 28*: 25-30

BROWN, C. Antioxidants in potato. (2005). *American Journal of Potato Research. Vol 82*: 163-172.

BRUNETTI, L., MENGHINI, L., ORLANDO, G., RECINELLA, L., LEONE, S., & EPIFANO, F. (2009). Antioxidant effects of garlic in young and aged rat brain in vitro. *Journal of Medicinal Food*, 12(5), 1166–1169.

CARIDI, D., TRENERRY, V. C., ROCHFORT, S., DUONG, S., LAUGHER, D., & JONES, R. (2007). Profiling and quantifying quercetin glucosides in onion (*Allium cepa* L.) varieties using capillary zone electrophoresis and high performance liquid chromatography. *Food Chemistry. Vol 105*: 691-699.

CASTAÑEDA, C., RAMOS, LL., IBÁÑEZ, V. (2008). Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Revista Horizonte Médico. Vol 8 (1)*: 56-72.

CHOI, Y., JEONG, H. S. y LEE, J. (2007). Antioxidant activity of methanolic extracts from some grains consumed in Korea. *Food Chemistry. Vol 103(1)*:130-138.

CORRALES, M., FERNANDEZ GARCIA, A., BUTZ, P., & TAUSCHER, B. (2009). Extraction of anthocyanins from grape skins assisted by high hydrostatic pressure. *Journal of Food Engineering. Vol 90*: 415-421.

DAVIES KJA. (1995). Oxidative stres: the paradox of aerobic life. In: Rice-Evans C, Halliwell B, Lunt GG eds. Free radicals and oxidative stress: Environment. Drugs and Food Additives. London: Portland Press. 1-35 pag

DURACKOVÁ, Z. (2010). Some current insights into oxidative stress. *Physiology Research*, 59, 459-469

EGUSQUIZA B.R. (2000). La papa: producción, transformación, comercialización. Cimagraf. SRL. Perú.

ESCARPA, A., MORALES, M. D., & GONZALEZ, M. C. (2002). Analytical performance of commercially available and unavailable phenolic compounds using real samples by high-performance liquid chromatography-diode array detection. *Analytica Chimica Acta*. Vol 460: 61-72.

FAN, J., DING, X. y GU, W. (2007). Radical-scavenging proanthocyanidins from sea buckthorn seed. *Food Chemistry*. Vol 102 (1): 168-177.

FEDEPAPA. (2005). La Cadena de la Papa en Colombia. "Una Mirada Global de su Estructura y Dinámica". Documento de Trabajo No.54.

FERNÁNDEZ DE SIMÓN, B., CADAHÍA, E., CONDE, E. Y GARCÍA-VALLEJO, M. C. (1996). Low molecular weight phenolic compounds in Spanish oakwoods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44, 1507-1511.

FOGLIANO, V., VERDE, V., RANDAZZO, G., RITIENI, A. (1999.). Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. *J. Agric. Food Chem*. Vol 47, 1035-1040.

FOLINN, C., & CIOCALTEAU, V. (1927). Tyrosine and tryptophan determination in proteins. *J. Biol. Chem*. Vol 73, 627-650.

FRANKEL EN, AESCHBACH SW, PRIOR RE (1996) Antioxidant activity of a Rosemary extract and its constituents, Carnosic acid, Carnosol, and Rosmarinic acid, in bulk oil and oil-in-water emulsion. *J Agric Food Chem Vol 44*:131–135

FRIEDMAN, M. (1997). Chemistry, biochemistry, and dietary role of potato polyphenols: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol 45 (5): 1523-1540.

FUENZALIDA GAJARDO, N.F. (2008). Determinación de la cantidad de fenoles totales y la actividad antioxidante en papas nativas pigmentadas. Tesis de pregrado. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de Agronomía. Valdivia-Chile.

GARCÍA B. (2005). Absorción in vivo de oligómeros de epicatequina. Departamento de bioquímica y biotecnología, facultad de Química de Tarragona Universidad Rovira y Virgili. Tarragona. España.

GARDNER, P. T., WHITE, T. A. C., McPhail, D. B & Duthie, G. G. (2000). The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. *Food Chemistry*, 68, 471–474

GIUSTI, M.M., WROLSTAD, R. E. (2001) Unit. F1. 2.1-13. Anthocyanins. Characterization and measurement with UV-Visible spectroscopy. In: *Current Protocols in Food Anal.Chem.*, Wrolstad, R.E., E.; John Wiley & Sons: New York.

Gobernación de Nariño. (2012). Plan de Desarrollo Departamental “Nariño Mejor” 2012 – 2015. Nariño, San Juan de Pasto.

GOLI, A. H., BARZEGAR, M., & SAHARI, M. A. (2005). Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry. Vol 92*: 521-525.

HALLIWELL B., & Gutteridge J.M.C. Free radical in biology and medicine.» Oxford, Clarendon. 1989. 142 p.

HAYOUNI, E. A., ABEDRABBA, M., BOUIX, M., & HAMDI, M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts.*Food Chemistry.Vol 105*:1126-1134.

IGNAT, I., VOLF. I & POPA, V. I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry Vol. 126*: 1821-1835

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TECNICAS Y CERTIFICACIÓN (ICONTEC). Industria Alimentaria. Papa Para Consumo. Clasificación: Bogotá 2003. (NTC 341).

IQBAL, S., BHANGER, M. (2007). Stabilization of sunflower oil and garlic extract during accelerated storage. *Food Chem. Vol 100*:246-254.

JIMÉNEZ MORA, J. P., VILLARREAL LATORRE, J. H. (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.

JULKUNEN-TIITO, R. (1985). Phenolic constituents in the leaves of northern willows, methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33, 213-217.

KANATT, S., CHANDER, R., RADHAKRISHNA, P., & SHARMA, A. (2005). Potato peel extracts a natural antioxidant for retarding lipid peroxidation in radiation processed lamb meat. *Journal of agricultural and food chemistry*. Vol 5: 1499-1504.

KHANDRIKA, L., KUMAR, B., KOUL, S., MARONI, P., & KOUL, H. K. (2009). Oxidative stress in prostate cancer. *Cancer Letters*. Vol 282(2), 125–136.

KIM SY, KIM JH, KIM SK, OH MJ, JUNG MY (1994) Antioxidant activities of selected oriental herb extracts. *J Am Oil Chem Soc*. Vol 71:633–640

KIM, D-O.; LEE, K.W.; LEE, H.J.; LEE, C.Y. (2002). Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolics phytochemicals. *J. Agric. Food Chem*. Vol 50:3713-3717.

KINSELLA J., Frankel E., German B., & Kanner J. (1993). Possible mechanisms for the protective role of antioxidants in wine and plant foods. *Food technology*. Vol 47: 85-89.

KODUVAYUR, S., NIELSEN, N., & JACOBSEN, C. (2010) Antioxidant Activity of Potato Peel Extracts in a Fish-Rapeseed Oil Mixture and in Oil-in-Water Emulsions. *J Am Oil Chem Soc*. Vol 87: 1319-1332.

KOWALCZEWSKI, P., CELKA, K., BIAŁAS, W & LEWANDOWICZ, G. (2012). ANTIOXIDANT ACTIVITY OF POTATO JUICE. Department of Biotechnology and Food Microbiology, Poznań University of Life Sciences . *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment*. Vol 11(2): 175-181

KUSKOSKI, M., ASUERO, A., GARCÍA-PARILLA, C., TRONCOSO, A., & FETT, R. (2004). Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos. *Ciencia y Tecnología de Alimentos (Brasil)*. Vol 24 (4): 691- 693.

KUSKOSKI, E. M; ASUERO, A. G; TRONCOSO, A. M. MANCINI-FILHO⁴, J & FETT, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciencia y Tecnología de Alimentos, (Campinas)* Vol 25(4): 726-732.

LAPORNIK, B., PROSEK, M., & GOLC, WONDRA.A. (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering*. Vol 71: 214-222.

LINDERSCHMIDT R, TRYLKA A, GOAD M, WITSCHI H (2006). The effects of dietary butylated hydroxytoluene on liver and colon tumor development in mice. *Toxicol*. Vol 38:151–160

LISINSKA, G., AND LESZCZYNSKI, W. (1989). Potato Science and Technology. Elsevier Applied Science Publishers Ltd., London, New York. Vol 42.

LLANOS, E. (2009). Capacidad antioxidante de tres variedades de papa (*Solanum tuberosum*) con y sin cáscara: blanca, amarilla y rosada". Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Medicina Humana E. A. P de nutrición. Tesis de Licenciatura en Nutrición. Lima, Perú.

MARINOVA, E. M. Y YANISHLIEVA, N. V. (1997). Antioxidative activity of extracts from selected species of the family Lamiaceae in sunflower oil. Food Chemistry, 58, 245-248.

MARTÍNEZ J., PERIAGO M., ROS G. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Archivos latinoamericanos de nutrición 50 (1): 5-18.

MARTÍNEZ, HÉCTOR. (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, Bogotá. 30 p.

MATTILA, P., & HELLSTROM, J. (2007). Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. *Journal of Food Composition and Analysis*. Vol 20: 152-160.

MATTILA, P., & KUMPULAINEN, J. J. (2002). Determination of free and total phenolic acids in plant derived foods by HPLC and diode array detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol 48: 3660-3667.

MEDINA, L. A. Técnicas para la determinación de compuestos antioxidante en alimentos. Revista de la educación en Extremadura. ISSN: 1989-9041, Autodidacta. D.L: BA-000098-2010

MERKEN, H. M., & BEECHER, G. R. (2000). Measurement of food flavonoids by highperformance liquid chromatography: A review. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol 48: 577-599.

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. (2006). Observatorio Agrocadenas Informe de coyuntura papa primer trimestre. Bogotá

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. Evaluaciones Agropecuarias. Producción en el Departamento de Nariño. Disponible en: www.agronet.gov.co. Fecha de consulta 2 de Mayo de 2013.

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA. (2007). Dirección Central Oriental. Caracterización de la Agrocadena de Papa, Cartago, Costa Rica.

MOHDALY, A. A. A., SARHAN, M. A., MAHMOUD, A., RAMADAN, M. F., & SMETANSKA, I. (2010). Antioxidant efficacy of potato peels and sugar beet pulp extracts in vegetable oils protection. *Food Chemistry*. Vol 123(4):1019-1026.

MOLYNEUX P. (2004). The use of the stable free radical diphenyl picryl hidrazyl (DPPH•) for estimating antioxidant activity. *Journal of science and technology*. : 211-219.

MONTI, M. (2000). Variedades de papa para uso diferenciado. Balcarce, Argentina: INTA. (Documento oficial 10).

MONTOYA, B.H.; LEMESHKO, V.; LÓPEZ, J.B.; PAREJA, A.; URREGO, R.; TORRES, R. (2003) Actividad antioxidativa de algunos extractos vegetales. *Vitae*, 10 (2): 72-79,

MORGANTI, P. (2009). The photoprotective activity of nutraceuticals. *Clinics in Dermatology*, 27(2):166–174.

NAVARRE, D. A., PILLAI, S. S., SHAKYA, R., & HOLDEN, M. J. (2011). HPLC profiling of phenolics in diverse potato genotypes. *Food Chemistry*. Vol 127(1), 2011: 34-41.

NEIRA, A. Y YURI, J. (2004). El valor nutritivo de la Fruta. Boletín Técnico. POMACEAS. Universidad de Talca. Vol 4. No 4.

OKEZIE I. Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. *Mutation research*. Vol 523 (24). 2002. 280 p.

ONYENEHO, S. N., & HETTIARACHCHY, N. S. (1993). Antioxidant activity, fatty acids and phenolic acids composition of potato peels. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol 62: 345-350.

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). (2008) El Año Internacional de la Papa. Las papas, la nutrición y la alimentación. Nueva luz sobre un tesoro enterrado. Roma. p. 24.

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. FAOSTAT. (2011). Disponible en: <http://www.fao.org/corp/statistics/es/>. Fecha de consulta: 25 de Mayo de 2013

PALADINO, C., ZURIT C. (2007). "Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (*Vitis vinifera* L.)". Tesis de Maestría. Universidades Nacionales de Cuyo, La Rioja, San Juan y San Luis. Sede Mendoza: Facultad de Ciencias Agrarias - Uncuyo.

PALOMINO, L., GARCÍA, C., GIL, J., ROJANO, B., & DURANGO, D. (2009) Determinación del contenido de fenoles y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento de Antioquia (Colombia). Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. 388-395 p.

PÉREZ, J. J & SAURA, C, F. (2006) Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Food Research internacional*, 39, 791-800.

PÉREZ TORTOSA, V. (2007). Proyecto de investigación de los antioxidantes del tomillo, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica Departamento de Ciencia y Tecnología Agraria. Universidad Politécnica de Cartagena

PERÓN, J. M. R.; LÓPEZ, J. R. M.; LÓPEZ, Y. T. (2001). Radicales Libres en la Biomedicina y Estrés Oxidativo.»*Revista Cubana de Medicina Militar*. Vol 30(1): 15-20.

PESCHEL, W., SANCHEZ, F., DIEKMANN, W., PLESCHER, A., GARTZI, I., JIMENEZ, D., LAMUELA, R., BUXADERAS, S., CODINA, C. (2006). An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. Departament de Productes Naturals, Biologia Vegetal Edafologia, Facultat de Farmacia, Universitat de Barcelona, Catalunya, Spain. *Journal of Food Engineering*. Vol 97:137-150.

PINELO, M., RUBILAR, M., SINEIRO, J., & NUNEZ, M. J. (2004). Extraction of antioxidant phenolics from almond hulls (*Prunus amygdalus*) and pine sawdust (*Pinus pinaster*). *Food Chemistry*. Vol 85: 267-273.

POKORNY, J., YANISHLIEVA, N., & GORDON, M. (2005). Antioxidantes de los alimentos, aplicaciones prácticas. Editorial Acibia, S.A. Zaragoza. (España). 750p

PORTILLA, A. (2012). Plan Estratégico Departamental en CTel de Nariño, Potencializar la inteligencia, alcanzar el bienestar. Camara de Comercio de Pasto, Nariño, Pasto.

PRIOR, R.L., & CAO, G. (1999). In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Rad. Biol. Med.*, 27, 11/12, 1173-1181.

PRIOR, R. L., CAO, G., MARTIN, A., SOFIC, E., MCE-WAN, J., OBRIEN, C.; LISCHNER, N.; EHLENFELDT, M.; KALT, W., KREWER, G., MAINLAND, C.M. (1998). Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity and variety of *Vaccinium* specie. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 2686-2693.

PRITCHARD M.K., ADAM L.R. (1994). Relationship between fry color and sugar concentration in stored Russet, Burbank and Shepody potatoes. *American Potato Journal*. Vol 71:59-66

PUTZ, B. (1991). Kartoffeln. 1. Auflage. Hamburg: Behris Verlag.

PYLER, E.J. (1973). Baking science and technology. Segunda edición. Vol 1 y 2. Scibel Publishing, Chicago.

QUINTERO, I., MONTERO, F., ZAMBRANO, J., MEZA, N., MAFFEI, M., VALERA, A., Y ALVAREZ, R. (2009). Evaluación de once clones promisorios de papa (*Solanum tuberosum* L.) en el estado Trujillo. Crecimiento, desarrollo y rendimiento. *Rev. Fac. Agron.* Vol 26(3): 362-381.

RAMIREZ C., ANDERSEN O., GARDNER P., MORRICE P., WOOD S., DUTHIE S., COLLINS A., DUTHIE G. (2000). Anthocyanin-rich extract decreases indices of lipid peroxidation and DNA damage in vitamin e depleted rats. free radadicals, *Journal of biological medicine*. Vol 31(9):1033-1037

RANDUZ, A.E., LARD, G.P., BAUER, M.L., MARCHELLO, J.M., & BERG, P.T. (2003). Influence of steam-peeled potato-processing waste inclusion level in beef finishing diets: Effects on digestion, feedlot performance, and meat quality. *Journal Animal Science*. Vol 81: 2675-2875.

RE R.; PELLEGRINI N., PROTEGGENTE A., PANNALA A., YANG M., RICE C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS•+ radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*. Vol 26, 1998:1231-1237.

REDDIVARI, L.; HALE, A. y MILLER, C. (2007). Genotipe, location, and year influence antioxidant activity, carotenoid content, phenolic content, and composition in specialty potatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol 55 (20): 8073- 8079.

REHMAN Z, HABIB F, SHAH W. (2004). Utilization of potato peels extract as a natural antioxidant in soy bean oil. *Food Chemistry*. Vol 85(2): 215 - 220.

RESTREPO, D., SÁNCHEZ, C., RESTREPO, L. (2009). Extracción de compuestos con actividad antioxidante de frutos de guayaba cultivada en Vélez-

Santander, Colombia. Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Ciudad Universitaria, Bogotá-Colombia.

ROBBINS, R. (2003). Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *J. Agric. Food Chem. Vol. 51*: 2866-2887.

RODRÍGUEZ DE SOTILLO, D., HADLEY, M., & HOLM, E. T. (1994). Phenolics in aqueous potato peel extract: extraction, identification and degradation. *Journal of Food Science, Vol 59*: 649-651.

RODRÍGUEZ J., MENÉNDEZ L., TRUJILLO L. (2001). Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo, revista cubana de medicina militar, Vol 5:36-44

RUBILAR, M., PINELO, M., FRANCO, D., SINEIRO, J., & NUNEZ, M. J. (2003). Residuos agroindustriales como fuente de antioxidantes. *Afinidad. Vol 60*: 153-160.

RUMBAOA, R. G., CORNAGO, D. F., INACRIST M. G. (2009). Phenolic content and antioxidant capacity of Philippine potato (*Solanum tuberosum*) tubers. *Journal of Food Composition and Analysis 22*: 546–550

RUSSELL, W. R., SCOBIE L., LABAT, A., DUNCAN, G. J. DUTHIE, G. G. (2008). Phenolic acid content of fruits commonly consumed and locally produced in Scotland. *Food Chemistry. Vol 10*: 1016-1028.

SALAWU, S., GIACCHERINI, C., INNOCENTI, M., VINCIERI, F., AKINDAHUNSI, A., & MULINACCI, N. (2009). HPLC/DAD/MS. Characterisation and analysis of flavonoids and cinnamoyl derivatives in four Nigerian green-leafy vegetables. *Food chemistry. Vol 115*: 1568-1574

SÁNCHEZ, C., LARRAURI, J., SAURA, C. (1998). A Procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of science of food and agriculture. Vol 76(2)*: 270-276

SANCHEZ-MORENO, C., LARRAURI, J. A., & SAURA-CALIXTO, F. (1999). Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic compounds. *Food Research International, 32*: 407-412.

SCALBERT, A., MANACH, C., MORAND, C., REMESY, C., & JIMENEZ, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition. Vol 45(4)*: 287-306.

SECRETARIA DE AGRICULTURA Y MEDIO AMBIENTE DE NARIÑO. (2011). Umatas Del Departamento. Consolidado Agropecuario De Nariño.

SELLAPPAN., S., AKOH, C. C., & KREWER, G. (2002). Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-Grown blueberries and blackberries. *J. Agric. Food Chem.*, Vol 50: 2432-2438.

SHAHIDI F., & NACZK M. (1995). Food phenolics sources chemistry effects application. Technomic publishing co. 80-82.

SIDDHURAJU, P., & BECKER, K. (2007). The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.)Walp.) seed extracts. *Food Chemistry. Vol. 101 (1)*: 10-19.

SLOAN, E. (2002). The natural and organic foods marketplace.»*Journal of Food Technology Vol 56 (1)*: 28-40

SOBEDIO, JL., KAITARAMITA J., GRANDGIRAL, A., & MALKKL Y. (1991) Quality assessment of industrial pre-fried french fries. *J Am Oil Chem Soc Vol 68*:299–302

THOMAS, M. J. (2000). The role of free radical and antioxidants. Nutrition, *J Food Sci Vol 16*: 716-718.

TOMA RB., ORR PH., D'APPOLONIA., DINTZIS FR., & TABEKHIA MM. (1979) Physical and chemical properties of potato peel as a source of dietary fiber in bread. *J Food Sci. Vol 44*:1403–1407

TOMAS-BARBERAN, F. A., FERRERES, F., & GIL, M. I. (2000). Antioxidant phenolic metabolites from fruit and vegetables and changes during postharvest storage and processing. *Bioactive natural products. Vol 10* : 739-795.

TOSHIDA M. INABA Y., MAEKAWA T., TAKEDA Y., YAMAGUCHI H., NAKAMOTO K., KUNINAGA H., NISHIZATO S., NONAKA A. (2003). Simple detection method of powerful antiradical compounds in the raw extract of plants and its application for the identification of antiradical plant constituents. *Journal of agricultural and food chemistry. Vol 51(7)*: 1831-1838.

VELIOGLU, Y. S., MAZZA, G., GAO, L & OMAH, B. D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural Food & Chemistry. Vol 46*: 4113-4117.

WESHAHY, A., & Rao, A. (2009). Isolation and characterization of functional components from peel samples of six potatoes varieties growing in Ontario. *Food Research International. Vol 42*: 1062-1066.

WESHAHY, A., NOKETY M., BAKHETE, M., RAO, V. (2011). Effect of storage on antioxidant activity of freeze-dried potato peels. *Journal Food Research International Elsevier. Vol 10*: 12.014.

WIJNGAARD, H., BALLAY, M., & BRUNTON, N. *The* (2012). optimisation of extraction of antioxidants from potato peel by pressurised liquids. *Food Chemistry*. Vol 133: 1123-1130.

XIAOYUN, XU., WENDE, LI., ZHANHUI, LU., TRUST, BETA., & ARNIE W. HYDAMAKA. (2009). Phenolic Content, Composition, Antioxidant Activity, and Their Changes during Domestic Cooking of Potatoes. *Journal of agricultural and food chemistry*. Vol 57: 10231-10238.

YANISHLIEVA, N. V., & MARINOVA, E. M. (2001). Stabilisation of edible oils with natural antioxidants. *European Journal of Lipid Science and Technology*. Vol 103: 752-767.

YÉPEZ, B., M. ESPINOSA., S. LÓPEZ. Y G, BOLANOS. (2002). Producing antioxidant fractions from herbaceous matrices by supercritical fluid extraction. *Fluid Phase Equilibria*. Vol 194: 879 – 884.

ZANCAN., K. C., MARQUES M. O. M., PETENATE, A. J. & M. A. A. MEIRELES. (2002). Extraction of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) oleoresin with CO₂ and cosolvents: a study of the antioxidant action of the extracts, *J. Supercrit Fluids*. Vol 24: 57-76.

ZHENG, W; WANG, S.Y. (2001). Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Select Herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol 49(11): 5165-5170.

ZIA-UR-REHMAN., HABIB F., & SHAH WH (2004) Utilization of potato peels extract as a natural antioxidant in soy bean oil. *Food Chem*. Vol 85:215–220

ANEXOS

Anexo 1. Resultados análisis proximal de las cascarás de Papa Variedad Diacol Capiro

 Universidad de Nariño	SECCIÓN DE LABORATORIOS REPORTE DE RESULTADOS LABORATORIO BROMATOLOGÍA	Código: LBE-PRS-FR-76 Página: 1 de 1 Versión: 1 Vigente a partir de: 26/04/2010
---	---	---

DATOS USUARIO	DATOS MUESTRA	Reporte No. LB-R-018A-13
Solicitante: Grupo Investigación TEA	Muestra Cáscara de Papa. Variedad: Diacol Capiro	Código lab 068
Dirección: Universidad de Nariño	Procedencia Pasto	
Sede Torobajo.Pasto		
cc / nit: 800.118.954-1		
Teléfono: 7 31 44 81	Fecha de Muestreo DD 00 MM 00 AA 00	
e-mail ivandres89@hotmail.com	Fecha Recepción Muestra DD 18 MM 02 AA 13	
	Fecha Reporte DD 04 MM 03 AA 13	
ANÁLISIS SOLICITADO	Proximal	

PARÁMETRO	MÉTODO	TÉCNICA	UNIDAD DE MEDIDA	LÍMITE DE DETECCIÓN	Cáscara papa	
					B.P.S.	B.S.
Humedad	Secado estufa	Gravimétrica	g/100g	-	9,39	
Materia seca	Secado estufa	Gravimétrica	g/100g	-	90,6	
Ceniza	Incineración mufla	Gravimétrica	g/100g	-	5,32	5,87
Extracto etéreo	Extracción Soxhlet	Gravimétrica	g/100g	-	1,47	1,62
Fibra cruda	Digestión ácida-básica. Crisol Gooch	Gravimétrica	g/100g	-	32,2	35,5
Proteína	Kjeldahl (N*6,25)	Volumétrica	g/100g	-	10,7	11,8
Extracto No Nitrogenado	Cálculo matemático	Cálculo matemático	g/100g	-	40,9	45,2

OBSERVACIONES	RESULTADOS VÁLIDOS ÚNICAMENTE PARA LA MUESTRA ANALIZADA B.P.S.: Base Parcialmente Seca B.S.: Base Seca
Aseguramiento de Calidad de Resultados	Certificado Icontec GP-CER 112092 NTCPR 100:2009 Certificado Icontec S-G-CER 110449 ISO 9001:2008 - NTC ISO 9001 : 2008 Certificado IQNET CO-SE-CER 110449

Anexo 2. Resultados análisis proximal de las cascarás de Papa Variedad Parda Pastusa

 Universidad de Nariño	SECCIÓN DE LABORATORIOS REPORTE DE RESULTADOS LABORATORIO BROMATOLOGÍA		Código: LBE-PRS-FR-76	
			Página: 1 de 1	
			Versión: 1	
			Vigente a partir de: 26/04/2010	

DATOS USUARIO		DATOS MUESTRA		Reporte No. LB-R-018B-13	
Solicitante: Grupo Investigación TEA		Muestra: Cáscara de Papa. Variedad: Parda pastusa		Código lab 069	
Dirección: Universidad de Nariño Sede Torobajo.Pasto		Procedencia: Pasto			
cc / nit: 800.118.954-1					
Teléfono: 7 31 44 81		Fecha de Muestreo		DD 00 MM 00 AA 00	
e-mail: ivandres89@hotmail.com		Fecha Recepción Muestra		DD 18 MM 02 AA 13	
		Fecha Reporte		DD 04 MM 03 AA 13	
ANÁLISIS SOLICITADO		Proximal			

PARÁMETRO	MÉTODO	TÉCNICA	UNIDAD DE MEDIDA	LÍMITE DE DETECCIÓN	Cáscara papa	
					B.P.S.	B.S.
Humedad	Secado estufa	Gravimétrica	g/100g	-	9,18	
Materia seca	Secado estufa	Gravimétrica	g/100g	-	90,8	
Ceniza	Incineración mufla	Gravimétrica	g/100g	-	8,32	9,16
Extracto etéreo	Extracción Soxhlet	Gravimétrica	g/100g	-	0,82	0,90
Fibra cruda	Digestión ácida-básica. Crisol Gooch	Gravimétrica	g/100g	-	14,4	15,9
Proteína	Kjeldahl (N*6,25)	Volumétrica	g/100g	-	17,3	19,0
Extracto No Nitrogenado	Cálculo matemático	Cálculo matemático	g/100g	-	50,0	55,1

OBSERVACIONES	RESULTADOS VÁLIDOS ÚNICAMENTE PARA LA MUESTRA ANALIZADA	
	B.P.S.: Base Parcialmente Seca	B.S.: Base Seca
Aseguramiento de Calidad de Resultados	Certificado Icontec GP-CER 112092 NTCPR 100:2009 Certificado Icontec SG-CER 110449 ISO 9001:2008 - NTC ISO 9001 : 2008 Certificado IQNET CO-SE-CER 110449	

Anexo 3. Resultados análisis proximal de las cascarás de Papa Variedad Roja Nariño

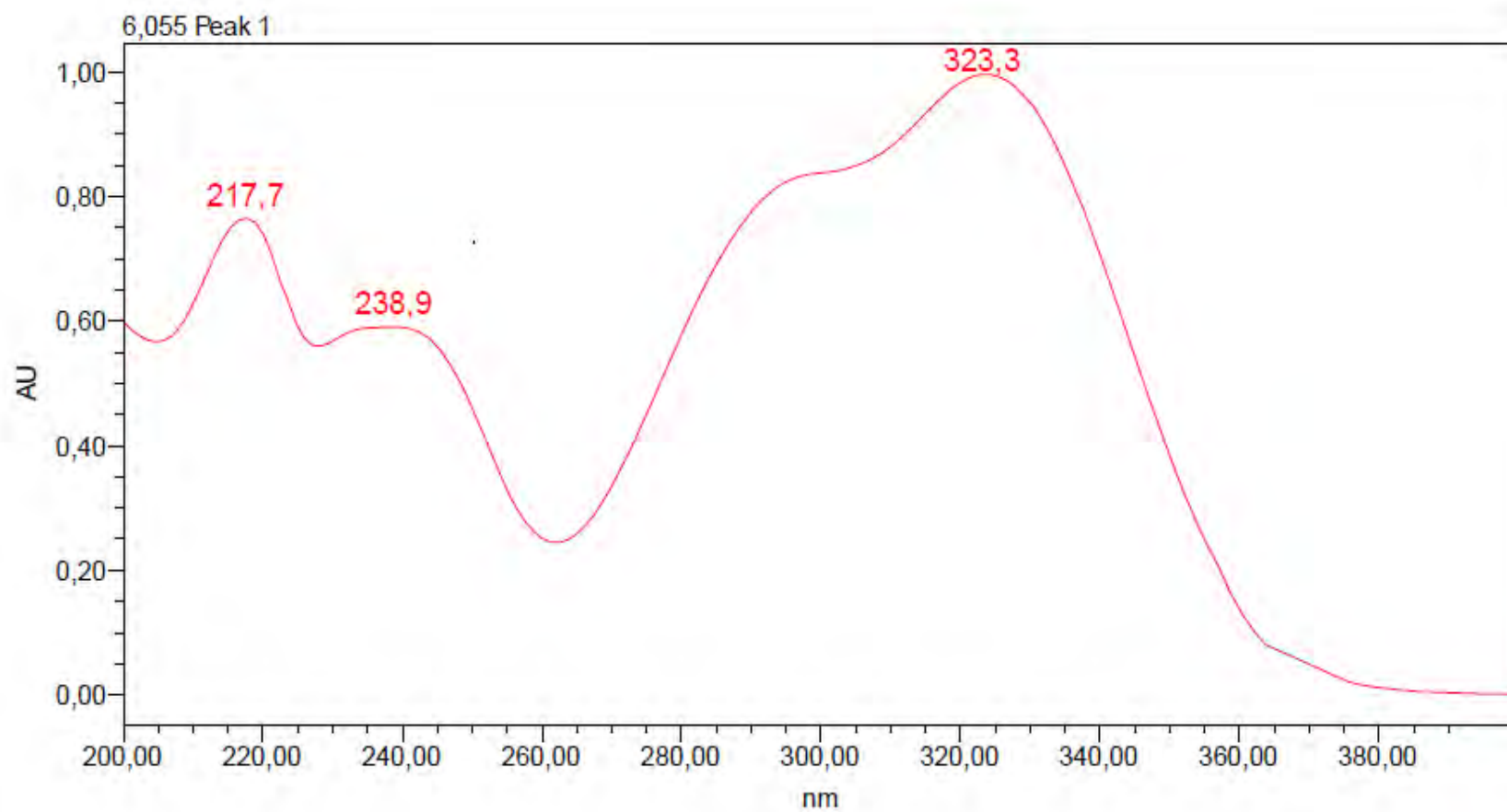
 Universidad de Nariño	SECCIÓN DE LABORATORIOS REPORTE DE RESULTADOS LABORATORIO BROMATOLOGÍA		Código: LBE-PRS-FR-76	
			Página: 1 de 1	
			Versión: 1	
			Vigente a partir de: 26/04/2010	

DATOS USUARIO		DATOS MUESTRA		Reporte No. LB-R-018C-13	
Solicitante: Grupo Investigación TEA		Muestra Cáscara de Papa. Variedad: Roja Huila		Código lab 070	
Dirección: Universidad de Nariño		Procedencia Pasto			
Sede Torobajo.Pasto					
cc / nit: 800.118.954-1		Fecha de Muestreo DD 00 MM 00 AA 00			
Teléfono: 7 31 44 81		Fecha Recepción Muestra DD 18 MM 02 AA 13			
e-mail ivandres89@hotmail.com		Fecha Reporte DD 04 MM 03 AA 13			
ANÁLISIS SOLICITADO		Proximal			

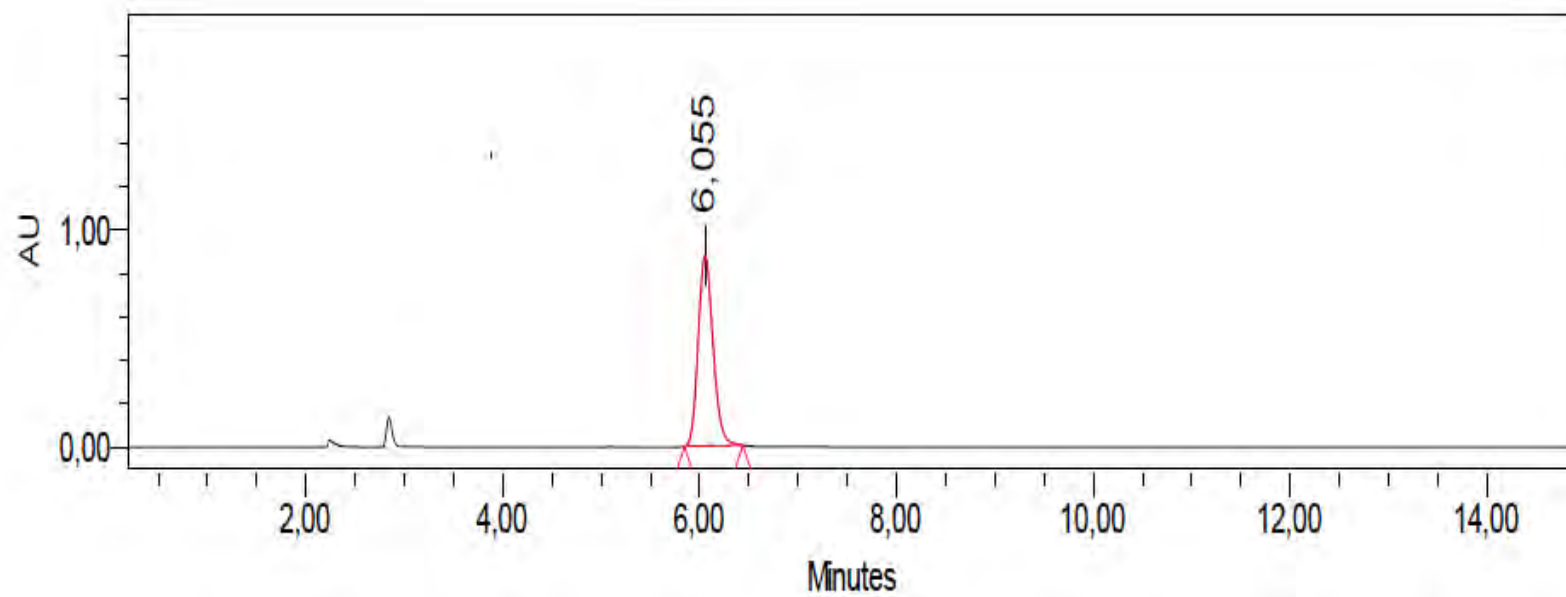
PARÁMETRO	MÉTODO	TÉCNICA	UNIDAD DE MEDIDA	LÍMITE DE DETECCIÓN	Cáscara papa	
					B.P.S.	B.S.
Humedad	Secado estufa	Gravimétrica	g/100g	-	11,79	
Materia seca	Secado estufa	Gravimétrica	g/100g	-	88,2	
Ceniza	Incineración mufla	Gravimétrica	g/100g	-	5,25	5,95
Extracto etéreo	Extracción Soxhlet	Gravimétrica	g/100g	-	0,63	0,71
Fibra cruda	Digestión ácida-básica. Crisol Gooch	Gravimétrica	g/100g	-	11,7	13,3
Proteína	Kjeldahl (N*6,25)	Volumétrica	g/100g	-	14,5	16,5
Extracto No Nitrogenado	Cálculo matemático	Cálculo matemático	g/100g	-	56,1	63,6

OBSERVACIONES	RESULTADOS VÁLIDOS ÚNICAMENTE PARA LA MUESTRA ANALIZADA B.P.S.: Base Parcialmente Seca B.S.: Base Seca
Aseguramiento de Calidad de Resultados	Certificado Icontec GP-CER 112092 NTCPR 100:2009 Certificado Icontec SG-CER 110449 ISO 9001:2008 - NTC ISO 9001 : 2008 Certificado IQNET CO-SE-CER 110449

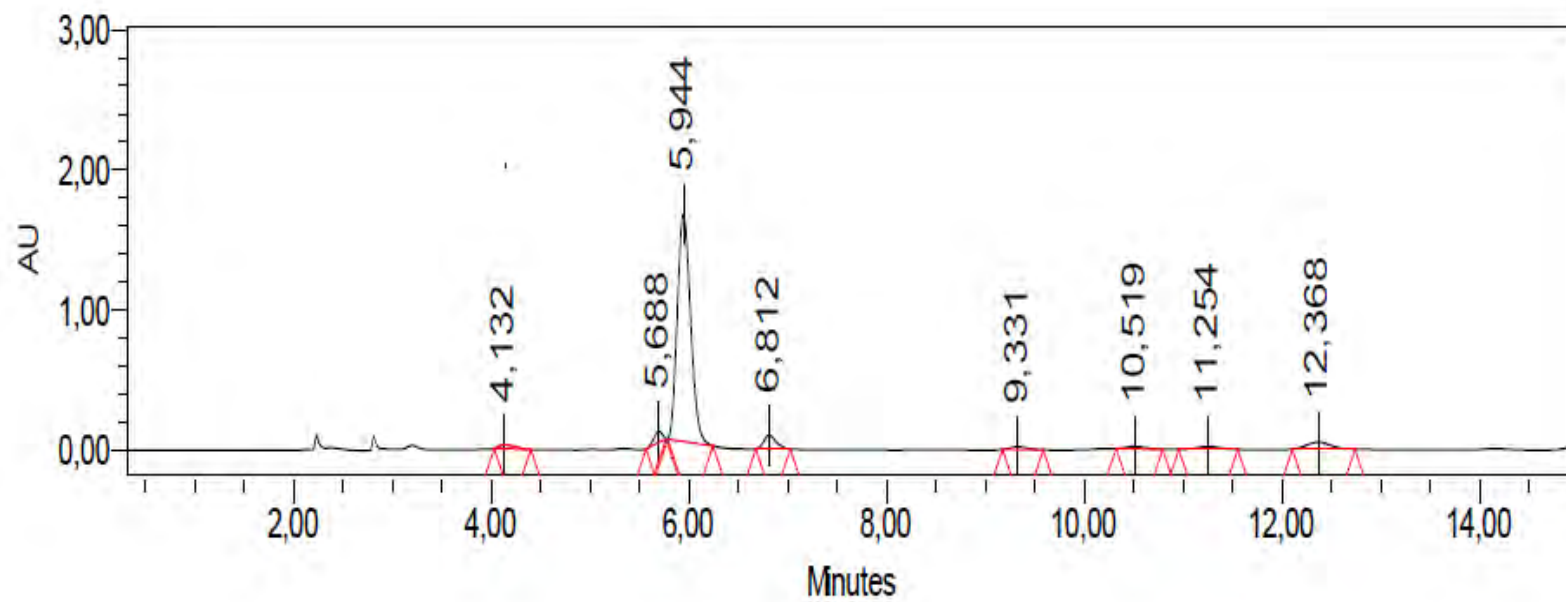
Anexo 4. Espectro UV Acido Cafeico



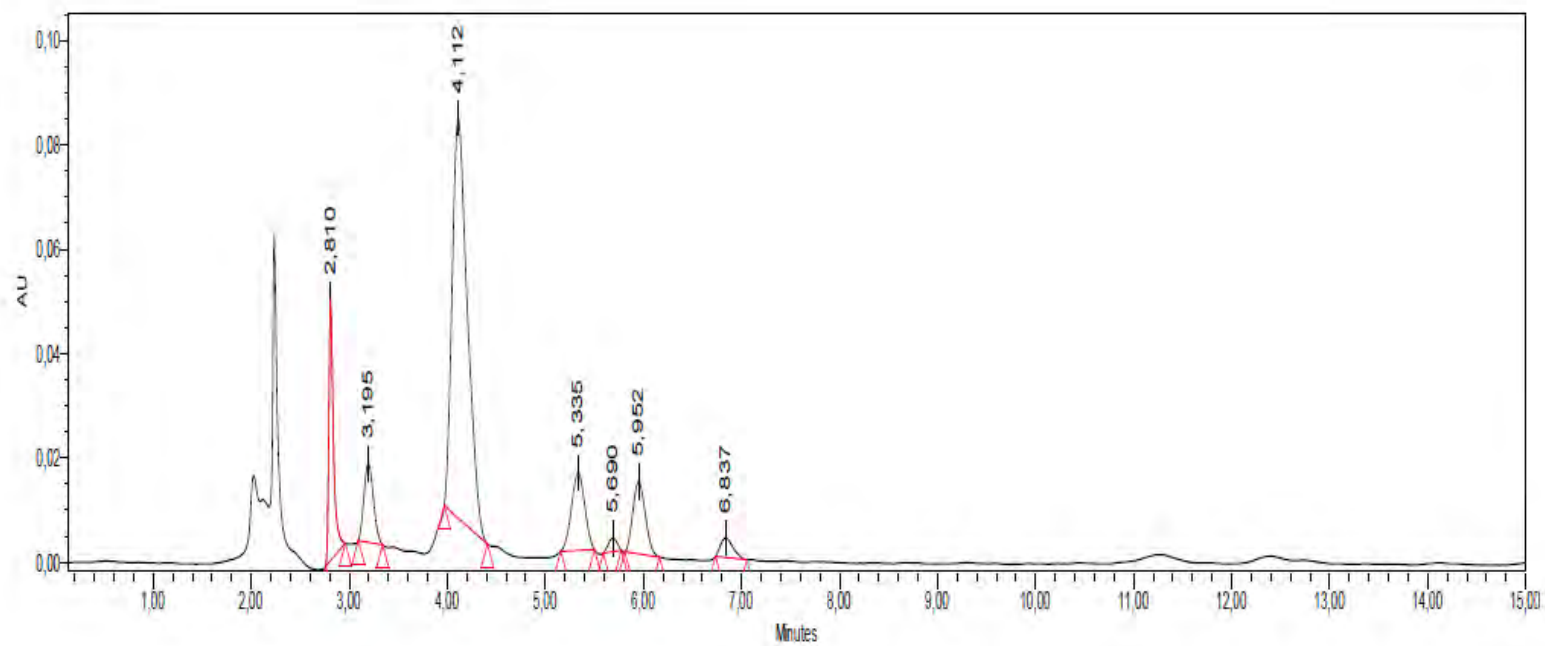
Anexo 5. Tiempo de retención cromatograma de acido cafeico



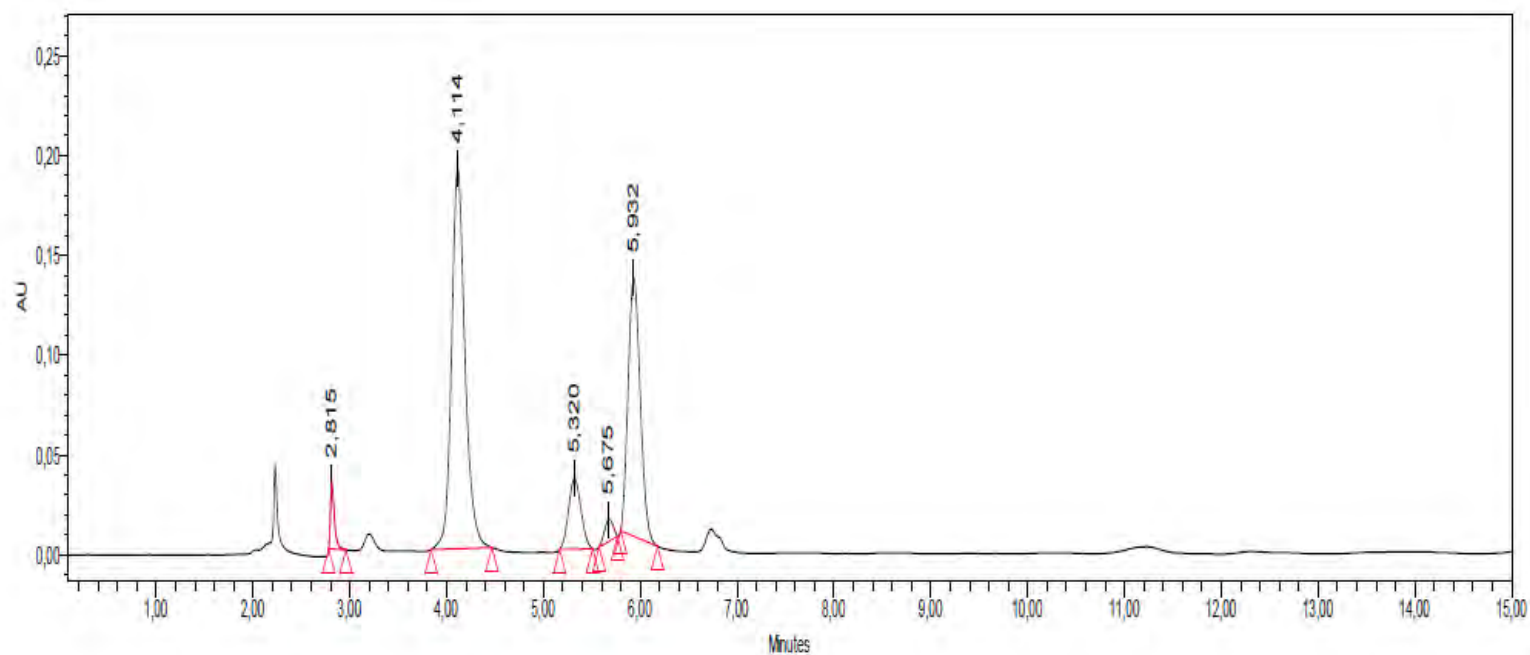
Anexo 6. Resultado análisis cromatograficos cáscaras de papa variedad Diacol Capiro



Anexo 7. Resultado análisis cromatograficos cáscaras de papa variedad Parda Pastusa



Anexo 8. Resultado análisis cromatograficos cáscaras de papa variedad Roja Nariño



Anexo 9. Diagrama de flujo para la obtención de los extractos a partir de cáscaras de tres variedades de papa

