

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

***CARACTERIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN
DE COMPUESTOS CON CAPACIDAD
ANTIOXIDANTE A PARTIR DE PATATAS
DE VARIEDADES ANDINAS***

TRABAJO FIN DE MÁSTER UNIVERSITARIO EN CIENCIA E
INGENIERÍA DE LOS ALIMENTOS

ALUMNO/A:

SILVANA CAROLINA CUASPUD CUAICAL

TUTOR/A ACADEMICO:

Dr. JUAN ANDRÉS CÁRCEL CARRIÓN

DIRECTORA EXPERIMENTAL:

MSc. CARLOTA MARTINA MORENO GUERRERO

Curso Académico:

2018/2019

VALENCIA, JULIO 2019

CARACTERIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE A PARTIR DE PATATAS DE VARIEDADES ANDINAS

Cuaspud-Cuaical, S^{1,2}., Moreno, C^{1,2}., Cárcel, J. A¹.

RESUMEN

La obtención de compuestos bioactivos a partir de matrices vegetales requiere de procesos de extracción eficientes. De ahí surge el interés en la aplicación de tecnologías alternativas para acelerar la cinética del proceso y que mejoren el rendimiento, como es el caso de la aplicación de ultrasonidos. En este trabajo se caracterizó la extracción de compuestos antioxidantes de dos variedades nativas de patatas andinas Yana Shungo (pulpa negra, PN) y Puca Shungo (pulpa roja, PR) mediante agitación mecánica y con aplicación de ultrasonidos. Para ello, se realizaron experiencias de extracción (25 °C) utilizando como disolvente una mezcla (200 mL) etanol-agua al 80 % (v/v) con diferente carga másica, 2.5, 5, 7.5 y 10 g en el caso de PN, y en PR, 15 y 20 g. En todos los casos se determinó la cinética de extracción de compuestos fenólicos (método de Folin-Ciocalteu) y la capacidad antioxidante (métodos de ABTS y DPPH). Se aplicó el modelo de Naik a los datos cinéticos para cuantificar la influencia de las variables estudiadas. Los resultados obtenidos en las dos variedades de patata estudiadas mostraron una cinética de extracción muy rápida que indica que los compuestos se encuentran muy accesibles. Esto explicaría por qué la aplicación de ultrasonidos, en general, no presentó diferencias significativas respecto a la extracción con agitación. En cuanto a la influencia de la carga másica, no se observó influencia en el rendimiento final de extracción.

PALABRAS CLAVE: Compuestos fenólicos, ABTS, DPPH, capacidad antioxidante, ultrasonido.

RESUM

L'obtenció de compostos bioactius a partir de matrius vegetals requereix de processos d'extracció eficients. D'aquí sorgeix l'interès en l'aplicació de tecnologies alternatives per accelerar la cinètica del procés i que milloren el rendiment, com és el cas de l'aplicació d'ultrasons. En aquest treball es va caracteritzar l'extracció de compostos antioxidants de dues varietats natives de patates andines Yana Shungo (polpa negra, PN) i Puca Shungo (polpa vermella, PR) mitjançant agitació mecànica i amb aplicació d'ultrasons. Per a

¹ Grupo de Análisis y Simulación de Procesos Agroalimentarios (ASPA), Departamento de Tecnología de Alimentos, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, E46022, Valencia.

² Facultad de Ciencias de la Ingeniería e Industrias. Universidad UTE. Av. Mariscal Sucre y Av. Mariana de Jesús s/n. Quito, Ecuador.

això, es van realitzar experiències d'extracció (25°C) utilitzant com a dissolvent etanol-aigua (200 ml) al 80% (v / v) amb diferent càrrega massica, 2.5, 5, 7.5 i 10 g en el cas de PN, i 15 i 20 g en PR. En tots els casos es va determinar la cinètica d'extracció de compostos fenòlics (mètode de Folin-Ciocalteu) i la capacitat antioxidant (mètodes de ABTS i DPPH). Es va aplicar el model de Naik a les dades cinètics per quantificar la influència de les variables estudiades. Els resultats obtinguts en les dues varietats de patata estudiades van mostrar una cinètica d'extracció molt ràpida que indica que els compostos es troben molt accessibles. Això explicaria per què l'aplicació d'ultrasons, en general, no va presentar diferències significatives respecte a l'extracció amb agitació. Pel que fa a la influència de la càrrega massica, no es va observar influència en el rendiment final d'extracció.

PARAULES CLAU: Compostos fenòlics, ABTS, DPPH, capacitat antioxidant, ultrasons.

ABSTRACT

Obtaining bioactive compounds from plant matrices requires efficient extraction processes. Thus, there is a growing interest in the application of alternative technologies to accelerate the kinetics of the process and improve the yield, as is the case of the application of ultrasound. In this work the extraction by mechanical agitation and with ultrasonic application of antioxidant compounds from two native varieties of potatoes, Andean Yana Shungo (black pulp, PN) and Puca Shungo (red pulp, PR) was studied. For this purpose, extraction experiments (25°C) were carried out using as a solvent ethanol-water (200mL) at 80% (v / v) with different mass load, 2.5, 5, 7.5 and 10 g in the case of PN, and 15 and 20 g in PR. In all cases, the extraction kinetics of phenolic compounds (Folin-Ciocalteu method) and the antioxidant capacity (ABTS and DPPH methods) were determined. The Naik model was applied to the kinetic data to quantify the influence of the variables studied. The results obtained in the two potato varieties studied showed a very fast extraction kinetics that indicates that the compounds are very accessible. This would explain why the application of ultrasound, in general, did not present significant differences with respect to extraction with agitation. Regarding the influence of the mass load, no influence on the final extraction yield was observed.

KEYWORDS: Phenolic compounds, ABTS, DPPH, antioxidant capacity, ultrasound.

1. INTRODUCCIÓN

El interés actual de los compuestos bioactivos y las metodologías para obtenerlos sin que estos sufran alteraciones, abren un gran campo de investigación con amplias posibilidades de desarrollo. En los últimos años, las tecnologías de extracción se han orientado a obtener altos rendimientos, minimizar los tiempos de operación, reducir el impacto en el medio ambiente y disminuir el coste. Entre las diferentes técnicas de extracción utilizadas destacan la extracción convencional por agitación mecánica, la aplicación de pulsos eléctricos, la utilización de fluidos supercríticos y la aplicación de ultrasonidos de alta intensidad. Ésta última técnica presenta una serie de ventajas frente a otras técnicas, como la posible reducción de la temperatura de operación que permitiría la extracción de compuestos termolábiles con un alto rendimiento (Mandal et al., 2015; Wen et al., 2018).

La propagación de ultrasonidos de alta intensidad en un medio líquido produce una serie de desplazamientos moleculares debido a las sucesivas compresiones y descompresiones. Esto provoca la formación de burbujas de gas en el medio líquido que, si alcanzan un tamaño inestable, implosionan, generando presiones, esfuerzos cortantes y temperaturas que, aunque muy locales y cortas en el tiempo, son muy elevadas y pueden facilitar la transferencia de materia y energía. Este fenómeno se denomina cavitación (Ferarsa et al., 2018; Ozuna-López, 2014). En este contexto, la extracción asistida por ultrasonidos podría resultar de gran interés en la extracción de compuestos bioactivos.

El cultivo de patata es el cuarto más importante a nivel mundial. En los últimos años, ha crecido el interés en rescatar atributos genéticos que se encuentran en variedades ancestrales de América del Sur. Su elevado contenido de compuestos antioxidantes (de Haan & Rodriguez, 2016) hace que puedan ser una fuente importante de compuestos bioactivos. Esto ha hecho que parte de las industrias alimentarias pretendan utilizarlas como base para el desarrollo de alimentos funcionales, con alto valor nutritivo y que se asocian con la reducción del riesgo de enfermedades (INIAP, 2012). Este es el caso de dos variedades de patatas andinas, Yana Shungo (proveniente de una autofecundación de la variedad nativa Chaucha camote) y Puca Shungo (proveniente de una autofecundación de la variedad nativa Chaucha). Las dos variedades presentan pulpas pigmentadas con colores vistosos y originales, morado/lila y rojo/crema respectivamente (Monteros J. et al., 2011a; Monteros J. et al., 2011b) debido a compuestos con carácter antioxidante (Monteros & Reinoso, 2011).

Es por este motivo, resulta interesante el estudio del proceso de extracción de estos compuestos y la determinación de la influencia de las variables de operación en el mismo.

Por ello, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la influencia de la carga másica y de la aplicación de ultrasonidos de potencia sobre la extracción de compuestos fenólicos y con capacidad antioxidante de dos variedades nativas de patatas andinas, Yana Shungo y Puca Shungo.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Materia prima

Las patatas de las variedades Yana Sungo y Puca Shungo fueron suministradas por la empresa INALPROCES (Sangolquí, Pichincha, Ecuador). Posteriormente fueron trasladadas a la Universitat Politècnica de València (Valencia, España) para realizar los diferentes análisis experimentales.

2.2 Preparación de la muestra vegetal

Las patatas se pelaron manualmente y se cortaron en rodajas de 5 mm de espesor con ayuda de una mandolina de uso doméstico (Mandolina en V, Ibili). Seguidamente, se introdujeron en una solución al 1% de ácido cítrico y ácido ascórbico relación (p/v) durante 10 minutos. Transcurrido este tiempo, se extrajeron, se escurrió el exceso del líquido y se secaron superficialmente. Después se colocaron en bandejas y se introdujeron en una estufa de aire convectivo (Binder GmbH, modelo FD 260) donde se secaron a una temperatura de 50 °C hasta obtener una pérdida del 80 % de su peso inicial. La temperatura de secado se estableció como la más adecuada para la obtención de compuestos antioxidantes en experiencias previas. Una vez obtenidas las muestras secas, se procedió a molturarlas y tamizarlas con una malla de tamiz de 0.3 mm. El producto obtenido se almacenó herméticamente en bolsas plásticas protegidas contra la luz.

2.3 Extracción

Se plantearon dos tipos de experiencias de extracción, una extracción convencional con agitación mecánica y otra con aplicación de ultrasonidos de alta intensidad. En todos los casos, las extracciones se realizaron en 200 mL de una disolución etanol-agua (80:20 v/v). La carga másica varió en función de la variedad de patata considerada. Así, para la variedad Yana Shungo (patata de pulpa negra; PN), se consideró cargas de 2.5, 5, 7.5 y 10 g de muestra seca. En el caso de la variedad Puca Shungo (patata de pulpa roja; PR), se consideraron las cargas másicas más elevadas, 15 y 20 g de muestra seca, ya que el contenido de polifenoles es menor en esta variedad.

2.3.1 EXTRACCIÓN POR AGITACIÓN MECÁNICA

Este tipo de extracción se realizó en un vaso de precipitados de 250 mL de capacidad. La mezcla de patata deshidratada y disolución alcohólica se sometió a agitación utilizando un agitador de varilla (Heidolph RZR 1). La temperatura de extracción, 25 ± 1 °C, se controló manteniendo el recipiente de extracción dentro de un baño termostatado (Figura 1). Una vez comenzada la extracción, se tomaron alícuotas de 2 mL a tiempos determinados (1, 2, 3, 6, 9, 12, 15, 20, 25, 30, 60, 90 minutos y 2, 4, 6, 8, 20, 22 y 24 horas). En cada toma de muestra, los 2 mL extraídos se remplazaron por 2 mL de la disolución de extracción. Cada alícuota extraída se centrifugó a 5000 rpm durante 10

minutos a 4 °C utilizando una centrifugadora digital (Medifriger BL-S). Finalmente, cada extracto fue almacenado en refrigeración hasta la determinación del contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante. Las extracciones se realizaron por triplicado para las dos variedades de patatas y cada una de las condiciones consideradas.



FIGURA 1. Montaje de equipo de extracción convencional

2.3.2 EXTRACCIÓN POR ULTRASONIDO (EUS)

La extracción se llevó a cabo en un recipiente similar al utilizado en las experiencias con agitación, pero provisto de una camisa externa (Figura 2). El control de temperatura de extracción, 25 ± 1 °C, se realizó mediante un termopar tipo K introducido en la mezcla disolución-muestra de patata que, continuamente, envió la medida de temperatura a un controlador. Éste, al detectar una subida respecto al valor establecido, puso en marcha una bomba que hizo recircular una disolución de agua glicolada a través de la camisa exterior del vaso de precipitados. La aplicación de ultrasonidos se realizó con un sistema tipo sonda (Hielscher UP400S; 400 W, 24 kHz) provisto de una sonda de 22 mm de diámetro. La punta de la sonda se introdujo siempre una distancia de 1 cm dentro de la mezcla disolución-muestra de patata. En todos los casos se empleó la máxima potencia del equipo (400 W). Durante la extracción, se tomaron alícuotas de 2 mL a tiempos determinados (1, 2, 3, 6, 9, 12 y 15 minutos) con un máximo de tratamiento de 15 minutos para PN y de 12 minutos para PR. En cada toma de muestra, el líquido extraído se reemplazó por 2 ml de la disolución de extracción. Posteriormente se actuó como en el caso de las alícuotas obtenidas en las extracciones realizadas con agitación. Las extracciones también se realizaron por triplicado para cada variedad de patata y para cada una de las diferentes cargas másicas consideradas.



FIGURA 2. Montaje de equipo de extracción con ultrasonidos

2.4 Determinación de contenido de fenoles totales (CFT)

El contenido de compuestos fenólicos totales de los diferentes extractos obtenidos se midió según el método de Folin-Ciocalteu. Para ello, en tubos de ensayo, se añadió una cantidad de 1110 a 1170 μL de agua bidestilada, dependiendo del extracto utilizado. A continuación, se añadieron 100 μL de la solución de Folin-Ciocalteu y agua destilada (1:1). La mezcla se homogenizó en un vortex (VWR International) y se mantuvo a temperatura ambiente durante 3 min. Seguidamente, se mezcló el contenido con 200 μL de Na_2CO_3 20% p/v en NaOH 0.1 N, se protegió de la luz y se mantuvo a temperatura ambiente ($25\pm 1^\circ\text{C}$) durante 60 minutos antes de medir su absorbancia. Los resultados finales se expresaron en mg de ácido gálico equivalente/g de muestra seca.

2.5 Determinación de capacidad antioxidante método ABTS

En este apartado se siguió la metodología descrita por Kuskoski (2005). Así, el radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ se obtuvo tras la reacción de $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (7mM) con persulfato de potasio (2.45 mM). La solución se incubó en oscuridad durante 16 h a temperatura ambiente ($25\pm 1^\circ\text{C}$). Posteriormente, se diluyó el reactivo con etanol (96 %) hasta que se obtuvo un valor de absorbancia del 0.70 ± 0.05 a una longitud de onda de 734 nm. Una vez estabilizado el reactivo, se prepararon tubos de ensayo con 1000 μL de la dilución del radical y se adicionó de 30 a 50 μL del extracto, obteniendo un volumen final de la reacción de 1030 a 1050 μL . La mezcla se homogenizó en un vortex y se dejó en reposo durante 30 minutos. Posteriormente se midió la absorbancia en un espectrofotómetro (Helios Gamma, Thermo Spectronic). Los resultados finales se expresaron en mg de trolox/ g de muestra seca.

2.6 Determinación de capacidad antioxidante método DPPH

El método empleado para este análisis se basa en los descrito por Brand-Williams (1995). Para ello, se preparó 250 ml de DPPH+ a una concentración de 40 mg/L en etanol (96 %). La mezcla se dejó en agitación durante 5 horas

y luego se mantuvo refrigerada (4 °C) durante 24 horas antes de su uso. Posteriormente, se diluyeron 140 mL del reactivo de DPPH+ en 45 mL de etanol y se dejó un tiempo en agitación hasta alcanzar su estabilidad, determinado por una absorbancia de 0.8 ± 0.05 . Luego, un volumen de etanol comprendido entre 150 a 220 μL se colocó en tubos de ensayo y se añadió 1000 μL del reactivo de DPPH+. Finalmente, se adicionó un volumen del extracto comprendido entre 30 y 100 μL hasta obtener un volumen final de reacción de 1250 μL . La mezcla se homogenizó en un vortex y se dejó en reposo durante 60 minutos, antes de medir su absorbancia a una longitud de onda de 515 nm. Además, se calculó el porcentaje de inhibición de DPPH empleando la ecuación 1.

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Absorbancia}_{\text{blanco}} - \text{Absorbancia}_{\text{muestra}}}{\text{Absorbancia}_{\text{blanco}}} * 100 \quad (1)$$

Los resultados finales se expresaron en mg de trolox/ g de muestra seca.

2.7 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza (ANOVA $p < 0.005$) utilizando la prueba de Tukey. Para ello, se empleó el programa estadístico Infostat/L versión 2018.

2.8 Modelo matemático de extracción

La evolución del contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante determinada por el método ABTS y DPPH se modelizó con el modelo matemático de Naik (ecuación 2):

$$Y = \frac{Y_{\infty} t}{B + t} \quad (2)$$

Donde Y es el rendimiento de extracción de antioxidantes, Y_{∞} determina el rendimiento obtenido en el equilibrio y t es el tiempo de extracción, es decir el tiempo de contacto entre el solvente de extracción y el soluto (Naik et al., 1989). Los parámetros del modelo, Y_{∞} y B , se identificaron minimizando la suma de los errores cuadráticos entre el rendimiento de extracción experimental y calculado. Para ello, se utilizó la herramienta Solver de Microsoft Excel que aplica el método de optimización del Gradiente Reducido Generalizado.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de los resultados permitió establecer la influencia de la carga másica y de la aplicación de ultrasonidos en la extracción de compuestos con capacidad antioxidante de pulpa de patata de las variedades Yana shungo (PN) y Puca shungo (PR).

3.1 Contenido de fenoles totales

3.1.1 RESULTADOS EXPERIMENTALES

Los resultados obtenidos en la cinética de extracción por agitación mostraron que la obtención de los compuestos fenólicos fue relativamente rápida en las dos variedades de patata estudiadas (Figura 3 y 4). Aunque, las experiencias de extracción se prolongaron hasta las 24 horas, el equilibrio se alcanzó aproximadamente a los 6 minutos de la extracción.

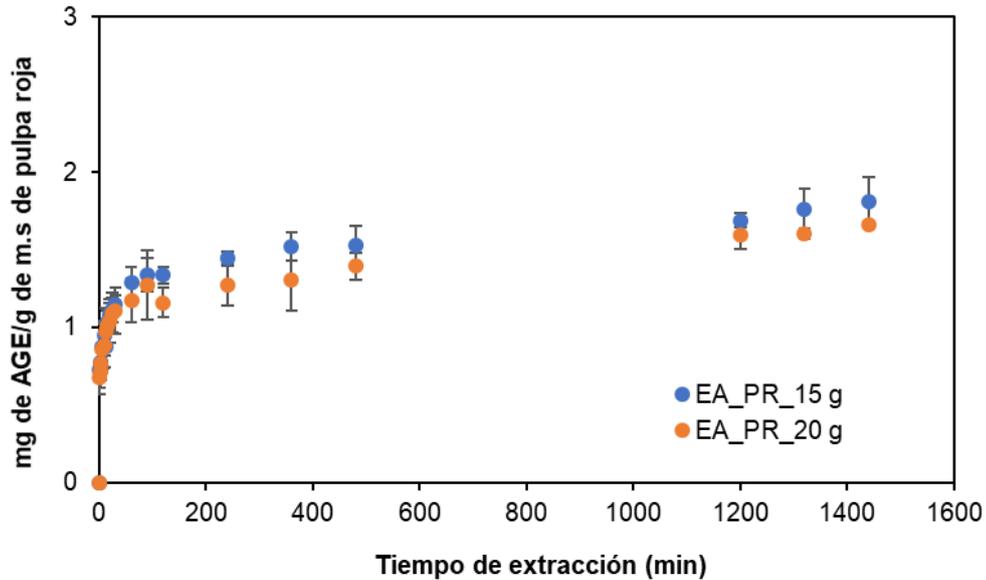


FIGURA 3. Cinética de extracción en patata de pulpa roja (PR) con agitación mecánica a las diferentes cargas másicas ensayadas

Estos resultados indicarían que los compuestos fenólicos existentes en las dos variedades de patatas se encuentran muy disponibles. Por este motivo, las experiencias posteriores con aplicación de ultrasonidos, tanto para PN como para PR, se prolongaron sólo hasta los 15 y 12 minutos respectivamente.

Como era de esperar, ya que los pigmentos de sus pulpas tenían coloraciones más intensas, la cantidad de fenoles totales obtenidos en la PN fue superior que en la PR. Por otra parte, no se observó una influencia significativa de la carga másica, lo que indicaría que, en ningún caso ensayado, el solvente llega a saturarse (Figura 4). Por esta razón, se podría aumentar la carga másica con objeto de obtener extractos con mayor concentración de componentes antioxidantes.

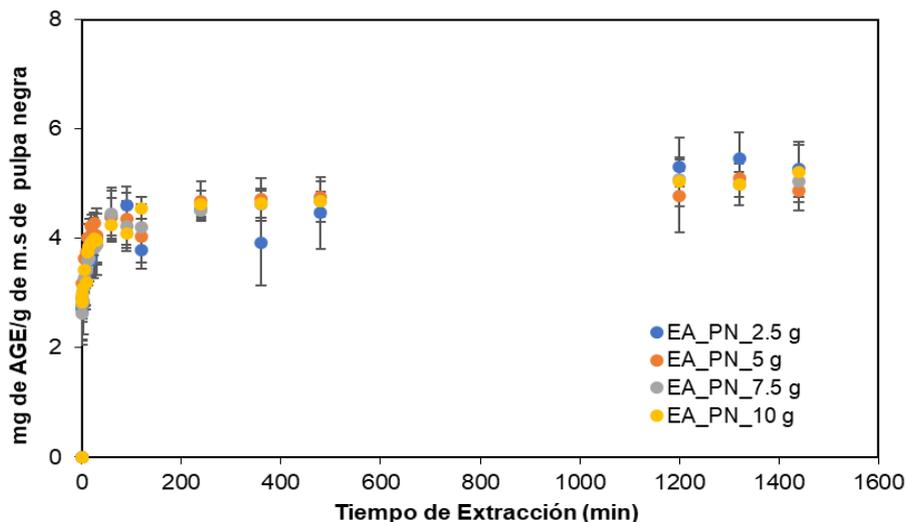


FIGURA 4. Influencia de la carga másica sobre la cinética de extracción de compuestos fenólicos de patata de pulpa negra (PN) con agitación mecánica

Con respecto a la aplicación de US durante la extracción, también se alcanzó el equilibrio de extracción en muy poco tiempo. En este aspecto, no se observaron diferencias importantes entre la PN y la PR (Figuras 5 y 6).

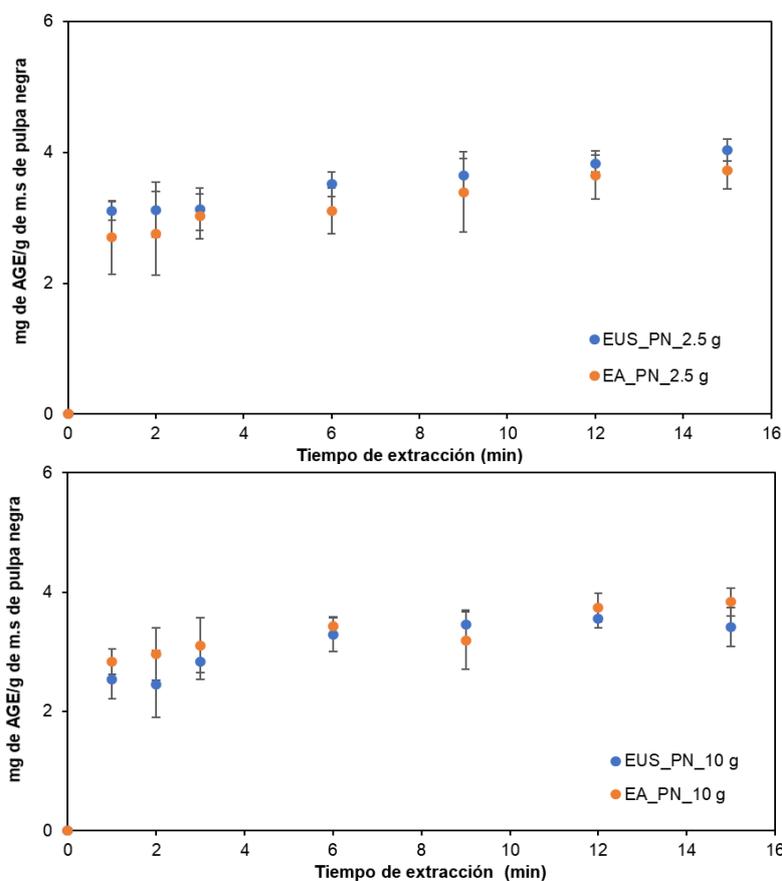


FIGURA 5. Cinética de extracción de compuestos fenólicos de patata de pulpa negra (PN) con ultrasonido (EUS) y con agitación mecánica a diferentes cargas másicas

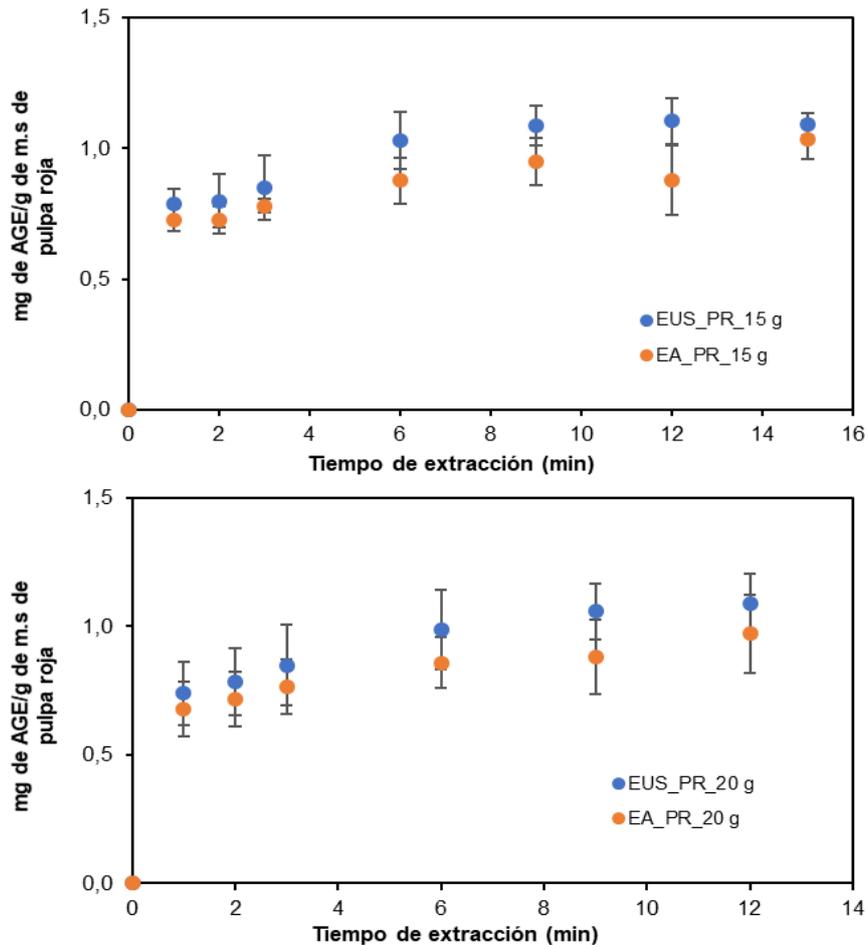


FIGURA 6. Cinética de extracción de compuestos fenólicos de patata de pulpa roja (PR) con ultrasonido (EUS) y agitación mecánica a diferentes cargas másicas

En cuanto a la comparación con las extracciones realizadas con agitación mecánica, tanto la cinética como la cantidad final extraída resultaron muy similares. Por lo tanto, la aplicación de ultrasonidos no supuso una ventaja frente al método convencional. Como se ha comentado antes, los compuestos antioxidantes se encontrarían muy accesibles por lo que la extracción se completó en un tiempo relativamente corto. Menor-García (2019), encontró resultados similares en un estudio realizado en remolacha, otro alimento con compuestos antioxidantes fácilmente accesibles.

3.1.2 MODELIZACIÓN

El modelo de Naik se ajustó correctamente a los datos cinéticos de extracción de fenoles totales tanto en la patata negra como en la patata roja como se puede observar en los valores de porcentaje de varianza explicado (%var) y coeficiente de correlación (R^2) obtenidos (Tabla 1) y en la tendencia similar de datos experimentales y calculados (Figura 7).

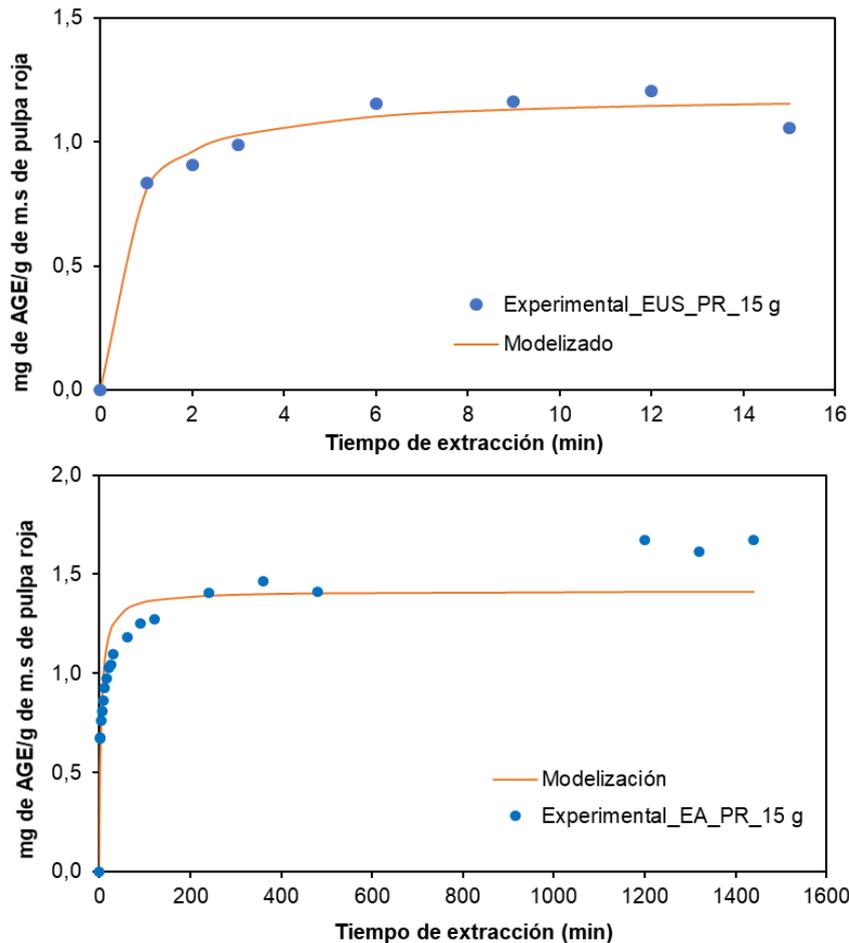


FIGURA 7. Datos experimentales y calculados con el modelo de Naik de la extracción de compuestos fenólicos de patata de pulpa roja (PR) con ultrasonidos (EUS) y agitación mecánica.

En la Tabla 1 se muestran los parámetros del modelo identificados. Los resultados mostraron que tanto en el caso de muestras PN como en las PR, a una misma carga másica, el rendimiento de extracción en el equilibrio (Y_{∞}) fue superior en las extracciones con agitación mecánica que con aplicación de ultrasonidos. Estas diferencias, aunque fueron significativas ($p < 0.05$), son relativamente pequeñas. Como ya se ha comentado los compuestos de interés se encuentran muy accesibles en la matriz con lo que la aplicación de ultrasonidos no supone una ventaja añadida. Rojas-Llanes et al. (2014) obtuvieron resultados contrapuestos en la extracción de compuestos fenólicos a partir de moras. Así, el contenido de compuestos fenólicos de los extractos obtenidos con ultrasonidos fue mayor que en las extracciones con agitación mecánica.

En cuanto al parámetro cinético (B), los valores identificados en ambas variedades fueron menores en las experiencias EUS que en EA. Dada la relación inversa con la velocidad de extracción, esto indica una cinética más rápida en las experiencias realizadas con ultrasonidos. En cuanto a la carga másica, no se observó una influencia clara en el parámetro cinético.

TABLA 1. Parámetros del modelo de Naik identificados para la extracción de fenoles totales con aplicación de ultrasonidos y con agitación mecánica en patatas de pulpa negra y pulpa roja.

| Método de extracción | Carga másica (g) | Y_{∞} (mg AGE/g de m.s de Pulpa) | B | % var | R^2 |
|-----------------------------------|------------------|---|-----------|------------|-----------|
| Patata de pulpa negra (PN) | | | | | |
| EUS | 2.5 | 3.84±0.06 | 0.35±0.14 | 97.38±1.63 | 0.95±0.03 |
| | 5 | 3.71±0.35 | 0.49±0.19 | 97.52±1.42 | 0.95±0.03 |
| | 7.5 | 3.72±0.14 | 0.45±0.24 | 98.29±1.02 | 0.97±0.02 |
| | 10 | 3.60±0.16 | 0.61±0.16 | 97.22±3.87 | 0.95±0.07 |
| EA | 2.5 | 4.51±0.26 | 1.91±1.51 | 87.82±4.28 | 0.77±0.08 |
| | 5 | 4.50±0.37 | 0.91±0.19 | 93.77±3.70 | 0.88±0.07 |
| | 7.5 | 4.49±0.21 | 1.70±0.91 | 92.92±2.57 | 0.86±0.05 |
| | 10 | 4.51±0.26 | 1.41±0.93 | 91.81±2.78 | 0.84±0.05 |
| Patata de pulpa roja (PR) | | | | | |
| EUS | 15.00 | 1.13±0.07 | 0.64±0.25 | 98.00±0.75 | 0.96±0.01 |
| | 20.00 | 1.11±0.12 | 0.68±0.17 | 98.81±0.73 | 0.98±0.01 |
| EA | 15.00 | 1.50±0.09 | 4.19±0.45 | 87.76±1.09 | 0.77±0.02 |
| | 20.00 | 1.36±0.08 | 3.15±1.28 | 87.72±2.74 | 0.77±0.05 |

3.2 Capacidad antioxidante, método ABTS

3.2.1 RESULTADOS EXPERIMENTALES

La evolución de la capacidad antioxidante de los extractos de EA durante 24 horas de extracción (Figura 8) mostró que el equilibrio se alcanzó en un tiempo muy corto, concretamente entre los 6 y 9 minutos de extracción.

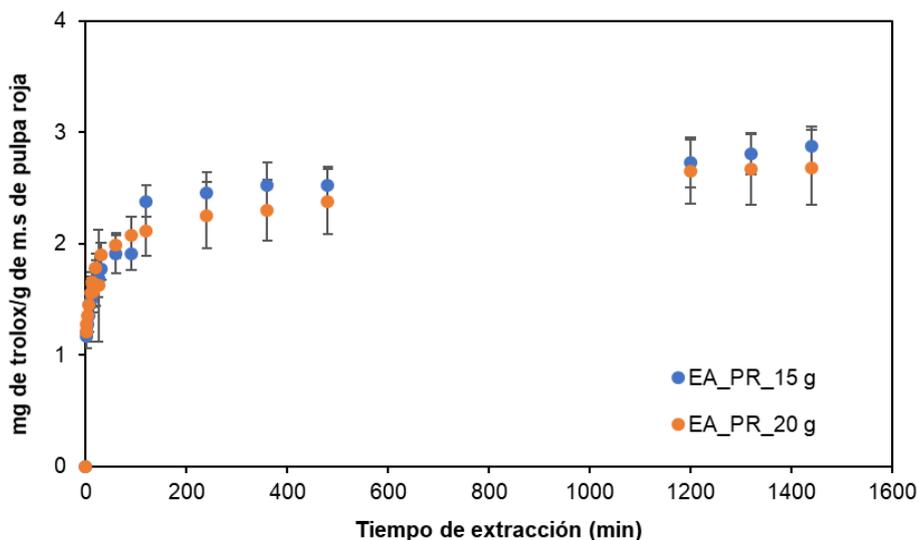


FIGURA 8. Evolución de la capacidad antioxidante determinada por el método ABTS en patata de pulpa roja (PR) durante la extracción con agitación mecánica.

Los resultados indicaron que la evolución de la capacidad antioxidante fue similar para PN y PR. Evidentemente, la capacidad antioxidante de los extractos de la variedad PN fue mayor que los de la variedad PR, como cabría esperar por la coloración más intensa de la pulpa. La variación de carga másica no afectó de manera estadísticamente significativa ($p < 0.05$) a la evolución de la capacidad antioxidante (Figura 9) aunque se podría distinguir que, a menores valores de la carga másica, los extractos presentaron un valor de capacidad antioxidante más alto. Esto puede deberse a que el solvente de extracción puede penetrar mejor en la matriz vegetal. Este comportamiento fue similar en las dos variedades de patatas analizadas.

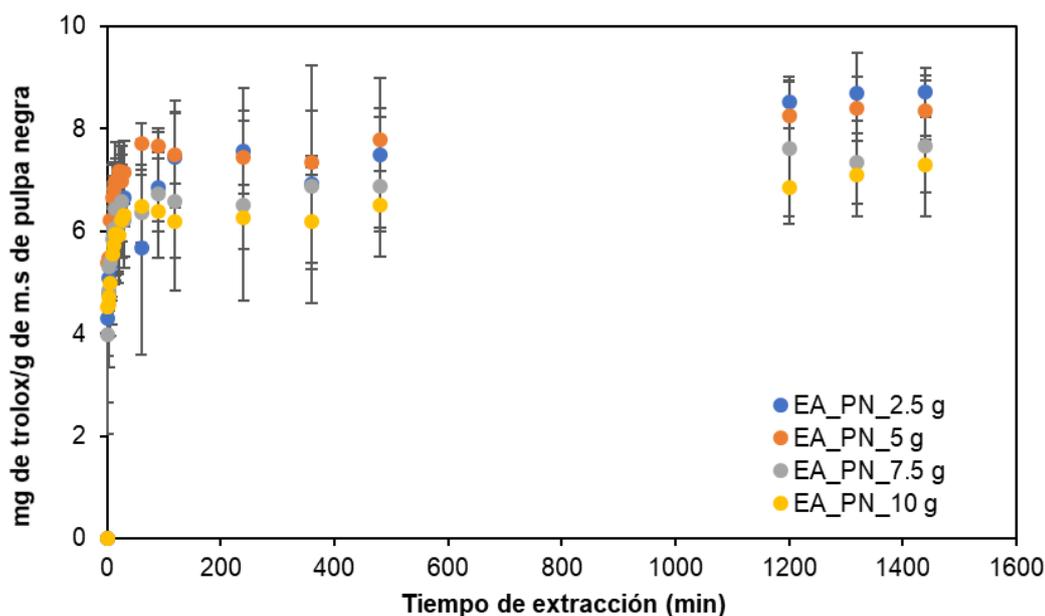


FIGURA 9. Influencia de la carga másica sobre la evolución de la capacidad antioxidante determinada con el método ABTS de extractos de patata de pulpa negra (PN) obtenidos con agitación mecánica.

Por otra parte, como se observa en la Figura 10. La aplicación de ultrasonidos durante la extracción en muestras PN produjo cinéticas similares que las obtenidas mediante extracción por agitación. Otros autores muestran que los efectos mecánicos de los ultrasonidos promueven una penetración mayor del solvente en los materiales celulares y mejoran la transferencia de masa (Mason et al., 1996) obteniéndose de esta manera extractos con mayor capacidad antioxidante. Como se ha comentado en el caso de la extracción de compuestos fenólicos, los resultados obtenidos en este estudio indicarían que los compuestos con capacidad antioxidante estarían muy accesibles al solvente, con lo que la aplicación de ultrasonidos no supondría una ventaja significativa frente a la agitación convencional mecánica.

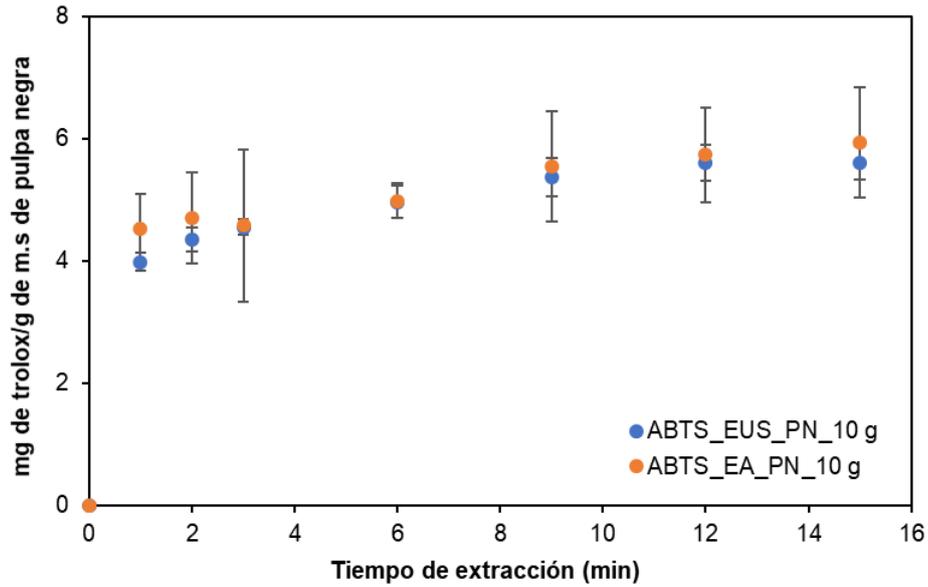


FIGURA 10. Evolución de la capacidad antioxidante determinada por el método ABTS en patata de pulpa negra (PN) con US y agitación mecánica.

Se observó un comportamiento similar en el caso de la variedad PR.

3.2.2 MODELIZACIÓN

El ajuste del modelo de Naik a los datos de evolución de la capacidad antioxidante determinada por el método ABTS, tanto para PN como para PR, fue aceptable (Figura 11), aunque el ajuste fue mejor en las extracciones EUS que EA, como muestran los valores más elevados de porcentaje de varianza explicada (%var) y coeficiente de correlación (R^2) (Tabla 2).

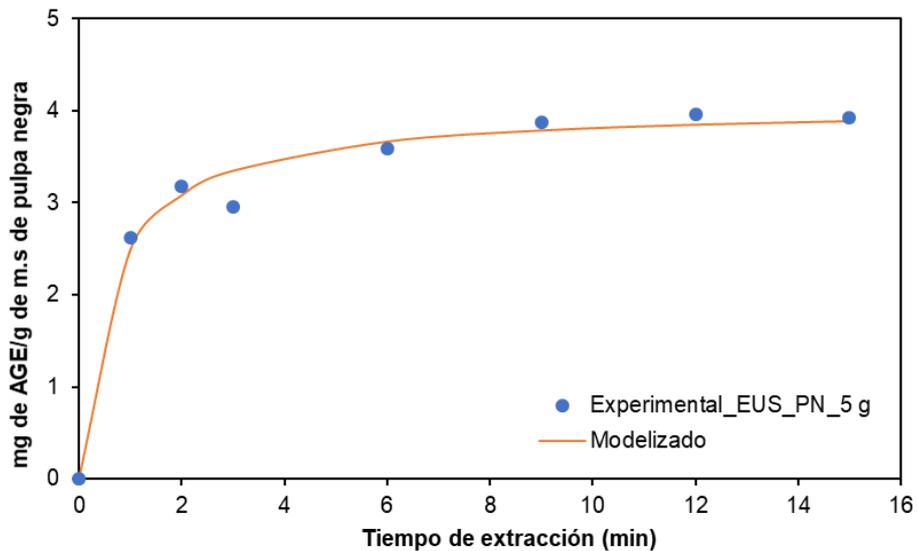


FIGURA 11. Modelización de capacidad antioxidante determinada por el método ABTS en patata de pulpa negra (PN) con US

TABLA 2. Parámetros del modelo de Naik identificados para la evolución de la capacidad antioxidante determinada con el método ABTS de la cinética de extracción con ultrasonidos (EUS) y con agitación mecánica para patata de pulpa negra y de pulpa roja.

| Método de extracción | Carga másica (g) | Y_{∞} (mg de trolox/g de m.s de pulpa) | B | % var | R^2 |
|-----------------------------------|------------------|---|-----------|-------------|-----------|
| Patata de pulpa negra (PN) | | | | | |
| EUS | 2.5 | 5.62±0.30 | 0.59±0.43 | 98.97±0.67 | 0.98±0.01 |
| | 5 | 5.20±0.55 | 0.32±0.04 | 91.51±10.11 | 0.84±0.18 |
| | 7.5 | 5.80±0.63 | 0.46±0.05 | 98.55±1.14 | 0.97±0.02 |
| | 10 | 5.65±0.37 | 0.52±0.20 | 99.16±0.38 | 0.98±0.01 |
| EA | 2.5 | 7.29±0.92 | 1.42±0.76 | 86.96±6.53 | 0.76±0.11 |
| | 5 | 7.64±0.46 | 0.83±0.41 | 95.44±2.49 | 0.91±0.05 |
| | 7.5 | 6.87±1.09 | 1.19±1.14 | 93.60±2.51 | 0.88±0.05 |
| | 10 | 6.44±0.64 | 0.79±0.19 | 93.98±1.92 | 0.88±0.04 |
| Patata de pulpa roja (PR) | | | | | |
| EUS | 15 | 1.64±0.10 | 0.71±0.22 | 97.55±1.85 | 0.95±0.04 |
| | 20 | 1.60±0.26 | 0.80±0.35 | 97.37±2.42 | 0.95±0.05 |
| EA | 15 | 2.43±0.17 | 4.99±2.31 | 86.53±1.81 | 0.75±0.03 |
| | 20 | 2.26±0.29 | 2.59±1.12 | 86.86±2.61 | 0.75±0.05 |

El rendimiento de extracción en el equilibrio (Y_{∞}) para la determinación de la capacidad antioxidante por ABTS, se observó una tendencia decreciente al aumentar la carga másica. También se observaron valores superiores en las experiencias de extracción con agitación mecánica que en las extracciones con aplicación de ultrasonidos siendo las diferencias mayores en la variedad PR que en la PN. En cuanto al parámetro cinético, B, los valores obtenidos fueron inferiores en el caso de las extracciones EUS lo que indicaría una mayor velocidad de extracción. Estas diferencias son especialmente importantes en el caso de la variedad PR.

3.3 Capacidad antioxidante, método DPPH

3.3.1 RESULTADOS EXPERIMENTALES

La evolución de la capacidad antioxidante medida por el método DPPH en las extracciones EA mostró un comportamiento similar al obtenido mediante el método ABTS (Figura 12). Al igual que en el caso anterior, la evolución de la actividad antioxidante de los extractos alcanzó un equilibrio a un tiempo relativamente corto. Esto se repitió en las dos variedades de patata analizada, aunque la capacidad antioxidante de los extractos de PN fue significativamente superior que la de los de PR.

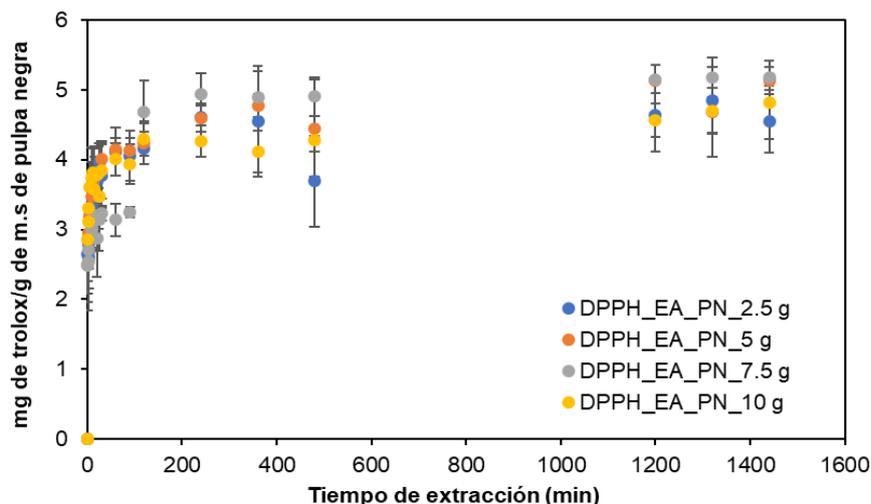


FIGURA 12. Evolución de la capacidad antioxidante determinada por el método DPPH de extractos de patata de pulpa negra (PN) obtenidos con agitación mecánica a diferentes cargas másicas y 200 ml de solvente.

La influencia de la carga másica en la evolución de la capacidad antioxidante no fue estadísticamente significativa, lo que indicaría que el solvente está lejos de la saturación en cualquiera de las condiciones ensayadas.

En cuanto a la evolución de la capacidad antioxidante obtenida en las experiencias de extracción EUS, se obtuvieron valores muy similares a los conseguidos en las extracciones EA en el caso de PN (Figura 13) y ligeramente inferiores en el caso de PR (Figura 14). Espert-Muñoz et al. (2013) encontraron resultados similares en hojas de estevia, donde la extracción convencional permitió obtener extractos con valores de capacidad antioxidante mayores que los observados en extractos obtenidos con aplicación de ultrasonidos.

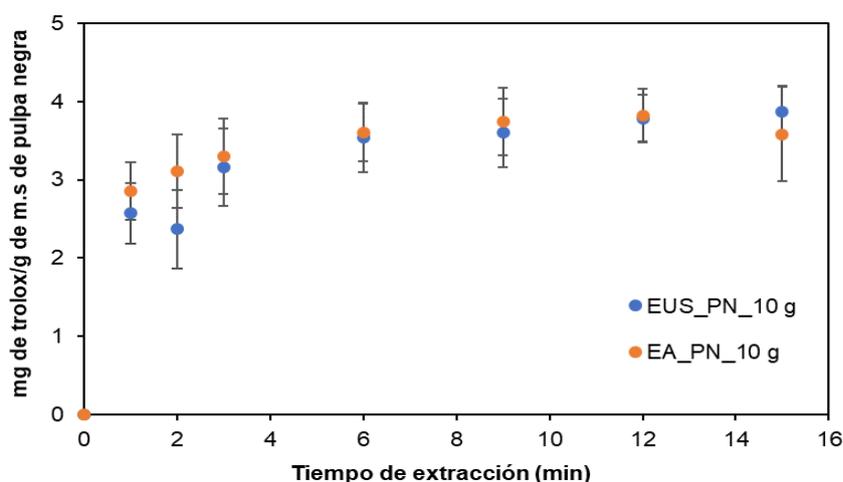


FIGURA 13. Evolución de la capacidad antioxidante determinada por el método DPPH en extractos de PN con aplicación de ultrasonidos (EUS) y con agitación mecánica (EA) con una carga másica de 10 g materia seca/200 mL de solvente.

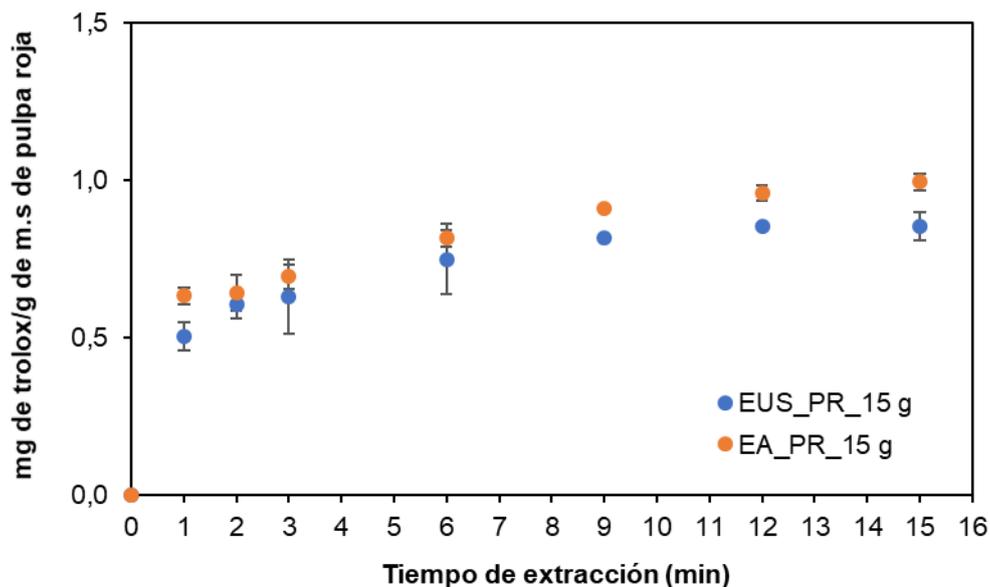


FIGURA 14. Evolución de la capacidad antioxidante determinada por el método DPPH en extractos de PR con aplicación de ultrasonidos (EUS) y con agitación mecánica (EA) con una carga másica de 15 g materia seca/200 mL de solvente.

3.3.2 MODELIZACIÓN

Como en los casos anteriores de fenoles totales y capacidad antioxidante por método ABTS, el modelo de Naik se ajustó razonablemente bien a los datos de evolución de la capacidad antioxidante medida con el método DPPH en los casos estudiados (Tabla 3 y Figuras 15).

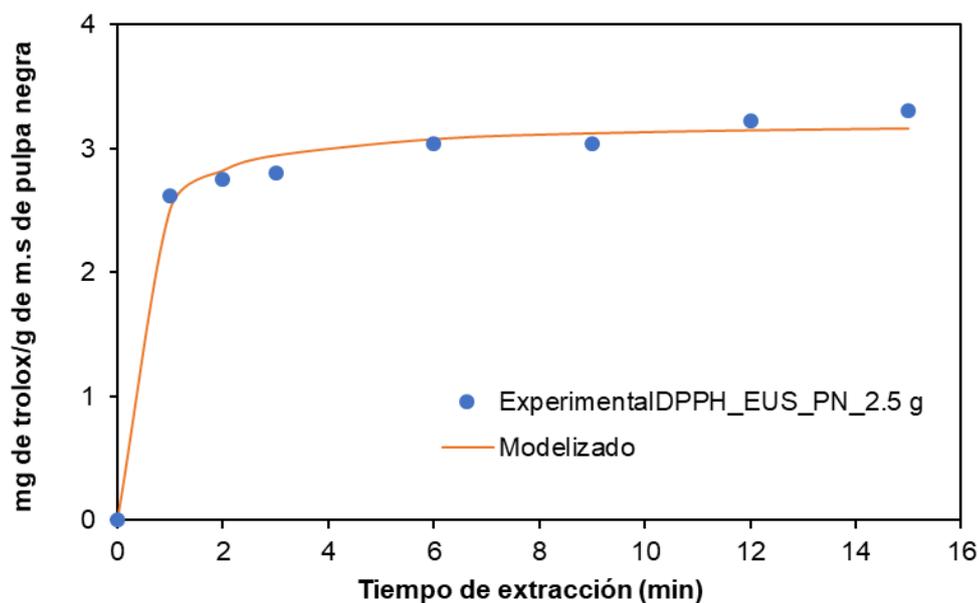


FIGURA 15. Evolución de la capacidad antioxidante determinada por el método DPPH en patata de pulpa negra (PN) durante la extracción con aplicación de ultrasonidos con una carga másica de 2.5 g materia seca/200 mL de solvente

Como en el caso de los resultados obtenidos con el método ABTS, en el caso de los datos obtenidos con DPPH se obtuvo un mejor ajuste en las extracciones EUS que en las EA como muestran los mayores valores de %var y R^2 , tanto en la variedad PN como en la PR.

TABLA 3. Parámetros obtenidos con el modelo de Naik para la evolución de la capacidad antioxidante determinada con el método DPPH en la cinética de extracción con ultrasonidos (EUS) y con agitación mecánica para patata de pulpa negra y pulpa roja

| método de extracción | Carga másica (g) | Y_{∞} (mg de trolox/g de m.s de pulpa) | B | % var | R^2 |
|-----------------------------------|------------------|---|-----------|------------|-----------|
| Patata de pulpa negra (PN) | | | | | |
| EUS | 2.5 | 3.41±0.28 | 0.92±0.92 | 97.00±3.78 | 0.94±0.07 |
| | 5 | 3.25±0.19 | 0.52±0.09 | 98.01±1.82 | 0.96±0.04 |
| | 7.5 | 3.80±0.12 | 0.88±0.47 | 98.15±1.57 | 0.96±0.03 |
| | 10 | 3.98±0.34 | 0.82±0.21 | 97.34±2.71 | 0.95±0.05 |
| EA | 2.5 | 4.23±0.17 | 1.44±1.03 | 90.90±5.08 | 0.83±0.09 |
| | 5 | 4.44±0.09 | 1.46±0.39 | 91.91±2.65 | 0.85±0.05 |
| | 7.5 | 4.41±0.48 | 3.71±4.29 | 80.43±4.35 | 0.65±0.07 |
| | 10 | 4.17±0.28 | 0.71±0.23 | 92.94±2.82 | 0.86±0.05 |
| Patata de pulpa roja (PR) | | | | | |
| EUS | 15 | 0.90±0.02 | 0.97±0.30 | 98.54±2.17 | 0.97±0.04 |
| | 20 | 0.79±0.05 | 0.88±0.22 | 98.37±1.20 | 0.97±0.02 |
| EA | 15 | 1.55±0.01 | 6.37±0.56 | 87.55±1.13 | 0.77±0.02 |
| | 20 | 1.46±0.05 | 4.57±1.38 | 89.76±1.86 | 0.81±0.03 |

El rendimiento de extracción en el equilibrio (Y_{∞}) para la determinación de la capacidad antioxidante resultó ligeramente superior en las experiencias realizadas con agitación mecánica que en las extracciones realizadas con ultrasonidos. Sin embargo, los valores del parámetro cinético (B) son mayores en las extracciones con agitación, lo que indicaría una menor velocidad en el proceso respecto a las extracciones realizadas con aplicación de ultrasonidos. Estas tendencias fueron similares en las dos variedades de patatas estudiadas. Sin embargo, la variedad Yana Shungo (PN) presentó una mayor capacidad antioxidante. Esto debido a que la coloración de su pulpa presentaba colores lilas intensos a diferencia de la variedad Puca Shungo (PR) con coloraciones menos intensas.

4. CONCLUSIONES

La cantidad de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de los extractos obtenidos a partir de patata de las dos variedades andina estudiadas mostraron que la extracción fue muy rápida (alcanzando un equilibrio a los 6

minutos aproximadamente). Esto indica que los compuestos con capacidad antioxidante están fácilmente accesibles en este material.

No se observó influencia significativa de la carga másica en el rango estudiado. Esto indicaría que este parámetro se podría aumentar y obtener así una mayor concentración en los extractos de cara a una aplicación industrial.

La aplicación de ultrasonidos de alta intensidad durante la extracción no supuso un incremento sustancial ni del rendimiento ni de la velocidad de extracción respecto a la extracción convencional. La gran accesibilidad de los compuestos antioxidantes que se ha comentado anteriormente puede ser la causa de esto.

El modelo de Naik se ajustó adecuadamente a los datos experimentales. El parámetro cinético indicó una mayor velocidad de extracción en las experiencias realizadas con aplicación de ultrasonidos. En todo caso, la extracción fue relativamente rápida en todos los casos.

5. REFERENCIAS

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, **28**(1), 25-30.
- de Haan, S., Rodriguez, F. 2016. Chapter 1 - Potato Origin and Production. in: *Advances in Potato Chemistry and Technology (Second Edition)*, (Eds.) J. Singh, L. Kaur, Academic Press. San Diego, pp. 1-32.
- Espert-Muñoz, M. 2013. Aplicación de ultrasonidos o energía de microondas a la extracción de compuestos antioxidantes en infusiones de hoja de estevia. in: *Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural*, Universidad Politécnica de Valencia. Valencia-España.
- Ferarsa, S., Zhang, W., Moulai-Mostefa, N., Ding, L., Jaffrin, M.Y., Grimi, N. 2018. Recovery of anthocyanins and other phenolic compounds from purple eggplant peels and pulps using ultrasonic-assisted extraction. *Food and Bioprocess Processing*, **109**, 19-28.
- INIAP, I.N.A.d.I.A. 2012. Evaluación del comportamiento agronómico y calidad agroindustrial de ocho genotipos de papa (*Solanum tuberosum*) en tres localidades de la sierra ecuatoriana, (Ed.) P.N.d.R.y.T.R.P. (PNRT-papa). Quito-Ecuador, pp. 22.
- Kuskoski, E.M., Asuero, A.G., Troncoso, A.M., Mancini-Filho, J., Fett, R. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology*, **25**, 726-732.
- Mandal, S.C., Mandal, V., Das, A.K. 2015. Chapter 6 - Classification of Extraction Methods. in: *Essentials of Botanical Extraction*, (Eds.) S.C. Mandal, V. Mandal, A.K. Das, Academic Press. Boston, pp. 83-136.
- Mason, T.J., Paniwnyk, L., Lorimer, J.P. 1996. The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics Sonochemistry*, **3**(3), S253-S260.
- Menor-García, L. 2019. Intensificación de la extracción de betanina en remolacha roja mediante ultrasonidos y pulsos eléctricos in: *Departamento de Tecnología de Alimentos Vol. Trabajo de Fin de Grado Inveritat Politècnica de València*. Valencia-España.
- Monteros, C., Reinoso, I. 2011. "Informe final del proyecto Proyecto FTG-353/05. "Innovaciones Tecnológicas y Mercados Diferenciados para Productores de Papas Nativas". , (Ed.) I.-E. Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria. (FONTAGRO), Proinpa-Bolivia, Corpoica-Colombia, Soluciones Prácticas-Perú, INIA-Perú e INIAVenezuela. Quito-Ecuador, pp. 90 (43-45).
- Monteros J., C., Yumisaca, F., Tello Torres, C.M., Montesdeoca, L., Reinoso R., I.A., Garófalo, J., Carrera, E., Andrade-Piedra, J., Cuesta Subía, H.X. 2011a. INIAP-Yana

- Shungo: Variedad para consumo en fresco y procesado. in: *Plegable no. 376*, (Ed.) I.N.A.d.I.A. INIAP. Quito, Ecuador: INIAP, Estación Experimental Santa Catalina.
- Monteros J., C., Yumisaca, F., Tello Torres, C.M., Pallo, E., Reinoso R., I.A., Garófalo, J., Carrera, E., Andrade-Piedra, J., Cuesta Subía, H.X. 2011b. INIAP-Puca Shungo: Variedad para consumo en fresco y procesado. in: *Plegable no. 375*, (Ed.) I.N.A.d.I.A. INIAP. Estación Experimental Santa Catalina. Quito, Ecuador.
- Naik, S.N., Lentz, H., Maheshwari, R.C. 1989. Extraction of perfumes and flavours from plant materials with liquid carbon dioxide under liquid—vapor equilibrium conditions. *Fluid Phase Equilibria*, **49**, 115-126.
- Ozuna-López, C. 2014. Estudio de la aplicación de ultrasonidos de alta intensidad en sistemas sólido-líquido y sólido-gas. Influencia en la cinética de transporte de materia y en la estructura de los productos in: *Departamento de Tecnología de Alimentos*, Universitat Politècnica de València. Valencia-España, pp. 3-16.
- Rojas-Llanes, J.P., Martínez, J.R., Stashenko, E.E. 2014. Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de extractos de mora (*Rubus glaucus Benth*) obtenidos bajo diferentes condiciones. *Vitae*, **21**, 218-227.
- Wen, C., Zhang, J., Zhang, H., Dzah, C.S., Zandile, M., Duan, Y., Ma, H., Luo, X. 2018. Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops – A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, **48**, 538-549.