

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

ESCUELA DE POST GRADO

ESPECIALIDAD TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



“Influencia del blanqueado y secado a dos temperaturas en el contenido de compuestos fenólicos, carotenoides y capacidad antioxidante de los tubérculos de mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón)”

Presentado por:

MAGALY PALACIOS CASTILLO

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAGISTER SCIENTIAE EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

Lima – Perú

2012

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo la influencia del blanqueado y/o secado sobre el contenido de compuestos fenólicos, carotenoides y la capacidad antioxidante de la mashua amarilla. El estudio comprendió determinar la influencia del tiempo de blanqueado realizado por dos técnicas (microondas y ebullición) de los tubérculos enteros y cortados en los compuestos fenólicos, carotenoides y capacidad antioxidante. Asimismo, se evaluó la influencia del secado a dos temperaturas (60 y 80°C) de todos los ensayos de blanqueado evaluados previamente, en los componentes anteriormente mencionados. La evaluación de la capacidad antioxidante fue realizada por cuatro métodos con fines de compararse entre sí y determinar la correlación con los compuestos fenólicos.

Los resultados obtenidos dependieron de la variable respuesta estudiada, de la técnica de blanqueado, del momento del rodajado y del tiempo; así mismo, si se secó o no después del blanqueado. De esto podemos indicar que los mayores valores encontrados en el blanqueado en cuanto a compuestos fenólicos fue el blanqueado de mashua entera, durante 3 min. Para carotenoides fue, el blanqueado de mashua entera o cortada por microondas, durante 3 minutos. Con respecto a los métodos de capacidad antioxidante para el ABTS y FRAP fue, el blanqueado de mashua entera por microondas, durante 3 minutos. Para DPPH fue el blanqueado de mashua entera por microondas o ebullición, durante 3 minutos. Para ORAC el blanqueado de mashua entera o cortada por ebullición, durante 3 minutos.

Los resultados del secado en cuanto a compuestos fenólicos se observó mayores valores al secarlas a 80°C previo blanqueado de mashua entera por microondas o ebullición durante 3 min. Para carotenoides totales se conservó al secarlas a 60°C previo blanqueado de mashua cortada por microondas durante 6 min. Finalmente con respecto a la capacidad antioxidante, para ABTS se observó incremento al secarlas a 80°C previo blanqueado de mashua entera por microondas durante 3 min. Para DPPH se conservó al secarlas a 80°C previo blanqueado de mashua cortada por ebullición durante 3 min. Para FRAP se conservó al secarlas a 80°C previo blanqueado de mashua entera o cortada por microondas o ebullición durante 3 min. Para ORAC este se incrementó en general en todos

los tratamientos, siendo mayor este incremento al secarlas a 80°C previo blanqueado de mashua entera por ebullición durante 3 min.

Para los métodos de capacidad antioxidante, los métodos que mejor se correlacionaron entre si fueron ABTS-DPPH. También se encontraron altas correlaciones entre los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante (ABTS y DPPH).

ABSTRAC

This research had as objective influence bleaching and / or drying on the content of phenolic compounds, carotenoids and antioxidant capacity of yellow mashua. The study included determining the influence of bleaching time by two techniques (microwave and boiling) of whole and cut tubers in phenolic compounds, carotenoids and antioxidant capacity. Also evaluated the influence of drying at two temperatures (60 and 80°C) of all previously evaluated assays bleached in the aforementioned compounds. The antioxidant capacity evaluation was conducted by four methods for purposes of comparison with each other and determines the correlation with the phenolic compounds.

The results depended on the response variable studied, the blanching technique, the sliced of moment and the time, also, if dried or not after bleaching. From this we can indicate that the highest values encountered in bleaching regarding phenolic compounds were bleached whole mashua for 3 min. For carotenoids was whole or sliced of mashua bleaching for microwave, for 3 minutes. With respect to methods for the antioxidant capacity FRAP and ABTS was bleached mashua whole microwave for 3 minutes. For DPPH was mashua whole bleaching boiling or microwave for 3 minutes. For ORAC mashua whole or sliced bleaching by boiling for 3 minutes.

The drying results the best results of phenolic content in flour (drying at 80°C) prior bleached for microwave or boiling of whole mashua tuber during 3 min. Total carotenoid was retained on drying at 60°C prior bleached sliced mashua for microwave during 6 min. Finally with respect to the antioxidant, for ABTS was observed to increase to 80 ° C dry prior mashua whole bleached microwave for 3 min. For DPPH was retained on drying at 80 ° C prior mashua sliced bleached by boiling for 3 min. For FRAP was retained on drying at 80 ° C prior mashua whole or cut bleached by microwaves or boiling for 3 min. For ORAC this was generally increased in all treatments, being this higher increase on drying at 80°C prior bleached of boiling whole mashua during 3 min.

For antioxidant capacity methods, methods that best correlated with each other were ABTS-DPPH. High correlations were also found between the phenolic compounds and antioxidant capacity (ABTS and DPPH).

INDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN LITERARIA	3
2.1 La Mashua	3
2.1.1 Clasificación Taxonómica.....	3
2.1.2 Valor nutricional.....	4
2.2 Constituyentes bioactivos no nutricionales de alimentos de origen vegetal	4
2.2.1 Compuestos fenólicos.....	5
2.2.1.1 Estructura química y clasificación.....	6
2.2.1.2 Actividad biológica de los compuestos fenólicos.....	6
2.2.2 Carotenoides.....	7
2.2.2.1 Estructura química y clasificación.....	9
2.2.2.2 Estabilidad.....	10
2.2.2.3 Biodisponibilidad	11
2.3 Radicales libres y envejecimiento	11
2.3.1 Antioxidantes	13
2.3.2 Influencia del procesamiento en la capacidad antioxidante de los alimentos..	15
2.3.2.1 Cambios durante el blanqueado	17
2.3.2.2 Cambios durante el secado.....	19
2.3.3 Determinación de la capacidad antioxidante.....	20
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
3.1 Lugar de ejecución	24
3.2 Materia prima	24
3.3 Materiales, equipos y reactivos.....	24
3.3.1 Materiales.....	24
3.3.2 Equipos de laboratorio	24
3.3.3 Reactivos	25
3.4 Métodos de análisis	26
3.4.1 Determinación de la materia seca.....	26
3.4.2 Determinación de los compuestos fenólicos	26
3.4.3 Cuantificación de carotenoides totales.....	26

3.4.4 Medida de la capacidad antioxidante.....	27
3.4.4.1 Método del ABTS (2,2 azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6- sulfonate)	27
3.4.4.2 Método del DPPH (2,2-dipheny l-1-picrylhydrazyl).....	27
3.4.4.3 Método del FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma).....	28
3.4.4.4 Método del ORAC (Oxygen radical absorbance capacity)	28
3.5 Metodología experimental.....	28
3.5.1 Preparación de la muestra (obtención de la harina).....	29
3.6 Diseño experimental.....	29
3.6.1 Influencia del blanqueado en el contenido de algunos compuestos bioactivos y en la capacidad antioxidante	29
3.6.2 Influencia del secado en el contenido de algunos compuestos bioactivos y en la capacidad antioxidante.....	30
3.7 Análisis estadístico.....	32
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
4.1 Determinación del contenido de compuestos fenólicos.....	33
4.1.1 Influencia del blanqueado.....	33
4.1.2 Influencia del blanqueado - secado.....	37
4.2 Determinación del contenido de carotenoides totales	42
4.2.1 Influencia del blanqueado.....	42
4.2.2 Influencia del blanqueado - secado.....	46
4.3 Determinación de la capacidad antioxidante	50
4.3.1 Influencia del blanqueado.....	51
4.3.2 Influencia del blanqueado - secado.....	59
4.4 Relación entre los métodos de capacidad antioxidante, compuestos fenólicos y carotenoides	67
V. CONCLUSIONES.....	70
VI.RECOMENDACIONES.....	71
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72
VIII. ANEXOS.....	83

INDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1: Funciones o acciones que promueven la salud atribuidas a los carotenoides.....</i>	<i>9</i>
<i>Figura 2: Cambio en la actividad antioxidante de un alimento que contiene polifenoles por oxidación química enzimático.....</i>	<i>17</i>
<i>Figura 3: Diseño experimental del estudio del blanqueado y/o secado de tubérculos de mashua.....</i>	<i>31</i>
<i>Figura 4: Contenido de compuestos fenólicos totales de mashua blanqueadas por microondas. Las barras indican los valores medios \pm SD de tres repeticiones, letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas.....</i>	<i>34</i>
<i>Figura 5: Contenido de compuestos fenólicos totales de mashua blanqueadas por ebullición. Las barras indican los valores medios \pm SD de tres repeticiones, letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas.....</i>	<i>34</i>
<i>Figura 6: Contenido de compuestos fenólicos totales de mashua blanqueada por microondas-secado. Las barras indican los valores medios \pm SD de tres repeticiones, letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas.....</i>	<i>38</i>
<i>Figura 7: Contenido de compuestos fenólicos totales de mashua blanqueada por ebullición-secado. Las barras indican los valores medios \pm SD de tres repeticiones, letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas.....</i>	<i>38</i>
<i>Figura 8: Contenido de carotenoides totales de mashua blanqueadas por microondas. Las barras indican los valores medios \pm SD de tres repeticiones, letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas.....</i>	<i>43</i>
<i>Figura 9: Contenido de carotenoides totales de mashua blanqueadas por ebullición. Las barras indican los valores medios \pm SD de tres repeticiones, letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas.....</i>	<i>43</i>
<i>Figura 10: Contenido de carotenoides totales de mashua blanqueada por microondas-secado. Las barras indican los valores medios \pm SD de tres repeticiones, letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas.....</i>	<i>47</i>
<i>Figura 11: Contenido de carotenoides totales de mashua blanqueado por ebullición-secado. Las barras indican los valores medios \pm SD de tres repeticiones, letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas.....</i>	<i>47</i>
<i>Figura 12: Capacidad antioxidante de mashua blanqueada por microondas cuantificada por el método: a) ABTS, b) DPPH, c) FRAP, d) ORAC. Las barras indican los valores</i>	

<i>medios ± SD de tres repeticiones, letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas.....</i>	<i>52</i>
<i>Figura 13: Capacidad antioxidante de mashua blanqueada por ebullición cuantificada por el método: a) ABTS, b) DPPH, c) FRAP, d) ORAC. Las barras indican los valores medios ± SD de tres repeticiones, letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas.....</i>	<i>53</i>
<i>Figura 14: Capacidad antioxidante de mashua blanqueado microondas-secado cuantificado por el método: a) ABTS, b) DPPH, c) FRAP, d) ORAC. Las barras indican los valores medios ± SD de tres repeticiones, letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas</i>	<i>60</i>
<i>Figura 15: Capacidad antioxidante de mashua blanqueado ebullición-secado cuantificado por el método a: ABTS, b: DPPH, c: FRAP, d: ORAC. Las barras indican los valores medios ± SD de tres repeticiones, letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas.....</i>	<i>61</i>

INDICE DE CUADROS

<i>Cuadro 1: Mecanismo de daño oxidativo celular</i>	12
<i>Cuadro 2: Correlación entre los métodos de capacidad antioxidante y compuestos fenólicos</i>	67

I. INTRODUCCIÓN

La tendencia de consumo de alimentos a nivel mundial busca obtener ventajas para favorecer la salud, mediante el aporte de compuestos que contribuyan a prolongar y mejorar la calidad de vida humana, entre ellos tenemos a los compuestos bioactivos. La región andina es cuna de un gran número de cultivos destinados a la alimentación humana, que fueron utilizados por nuestros antepasados hace miles de años, tal es el caso de la mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) (Cádima, 2006). Este tubérculo, contiene compuestos bioactivos, como los compuestos fenólicos, glucosinolatos, carotenoides; para los que se ha demostrado diferentes funciones biológicas.

Los compuestos bioactivos tienen importancia en la prevención y la disminución del riesgo de enfermedades cardiovasculares, fortalecimiento del sistema inmunológico, neutralización de los radicales libres que pueden dañar las células y favorecer la desintoxicación de compuestos no deseados (Tomás-Barberan y Espín, 2001). El estrés oxidativo surge en sistemas biológicos después de una prolongada exposición a oxidantes, o a una disminución de la capacidad antioxidante del sistema, o a ambas; y está frecuentemente asociado con la generación de radicales libres como las especies reactivas oxigenadas (ROS), las cuales están fuertemente implicadas en la patología de enfermedades como el cáncer, enfermedades cardíacas, arterosclerosis; enfermedades cerebrales y el envejecimiento prematuro, entre otras (Mesa-Venegas *et al.*, 2010). La incidencia de estas enfermedades, puede verse disminuida gracias al consumo de alimentos de origen vegetal (Juarez *et al.*, 2005). Debido a una serie de mecanismos de defensa antioxidante, desarrollados tanto por los propios organismos vivos o los provenientes de la dieta ingerida.

En estudios anteriores se comprobó que los tubérculos de mashua presentaron la mayor actividad antioxidante frente a otros tubérculos (papa, olluco y oca) (Campos *et al.*, 2006 mencionado por Chirinos *et al.*, 2008), los tubérculos de mashua de color púrpura presentaron de ocho a diez veces más alta la actividad antioxidante que los tubérculos de mashua de color amarillo. Esta mayor actividad antioxidante se sospechaba que estaría relacionada con el contenido alto de antocianinas. Posteriormente, Chirinos *et al.* (2006) encontraron que las antocianinas de la mashua fueron los principales contribuyentes a la actividad antioxidante total en sólo uno de los tres tubérculos de mashua de color púrpura,

lo que sugiere que otros compuestos fenólicos presentes están jugando un papel importante en el poder antioxidante de los tubérculos de mashua.

Por lo expuesto anterior, este estudio evaluó el efecto del blanqueado y el efecto combinado del blanqueado-secado en dos compuestos bioactivos (compuestos fenólicos y carotenoides totales) y en la capacidad antioxidante del tubérculo de mashua amarilla; con la finalidad de determinar las condiciones que permitan conservar las características iniciales del producto.

Dichas operaciones, permitirán disminuir la actividad metabólica y aumentar el tiempo de conservación, dando un mayor valor agregado. Así mismo, permitirá revalorizar este cultivo andino soslayado.

Los objetivos de la siguiente investigación fueron:

- Evaluar la influencia de dos técnicas de blanqueado (ebullición y microondas) de los tubérculos enteros y cortados en el contenido de compuestos fenólicos, carotenoides y capacidad antioxidante.
- Estudiar la influencia del secado a 60 y 80°C en el contenido de compuestos fenólicos, carotenoides y capacidad antioxidante.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 La mashua

La mashua (*Tropaeolum tuberosum*) junto con la papa (*Solanum spp.*), olluco (*Ullucus tuberosus* Caldas) y la oca (*Oxalis tuberosa* Molina) pertenece al grupo de los tubérculos comestibles de los Andes. La mashua es una trepadora anual, herbácea que pertenece a la familia Tropaeolaceae, la cual incluye unas 100 especies. Se cultiva en los Andes de Bolivia, Perú, Ecuador, Colombia y Venezuela (Gibbs *et al.*, 1978; citados por Flores *et al.*, 2003).

La mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) es el cuarto cultivo andino más importante después de la raíz de papa, oca y olluco. Este tubérculo también es llamado ñu o isaño. La mashua presenta una menor diversidad morfológica que la oca y el olluco. Sin embargo, un gran número de variedades han sido reconocidos (Flores *et al.*, 2003). Los colores de los tubérculos de mashua son los mismos colores que los de la oca, teniendo forma más cónica y más corta. En Colombia, Perú y Bolivia hay otro color de tubérculos, en el que sobre un fondo verdoso o amarillos aparecen líneas de un color rojo muy oscuro, unas veces cortas y gruesas, cerca de los ojos, y otras veces muy finas y profusas, dando la impresión de una superficie marmórea. En el sur de Perú y en Bolivia hay también tubérculos de mashua violáceo oscuro (Tapia, 1990).

2.1.1 Clasificación taxonómica

Según Villagómez y Rodríguez (2000), la mashua tiene la siguiente clasificación taxonómica:

División : Angiospermas

Clase : Dicotiledóneas

Subclase : Archidamideas

Orden : Geraniales (Gruinales)

Familia : Tropaeolaceae

Género : *Tropaeolum*

Especie : *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón

2.1.2 Valor nutricional

El principal aporte nutricional de la mashua es su alto contenido de carbohidratos (75.4% en base fresca), en forma de almidón y azúcares. Con respecto al contenido de proteínas este se acerca a los valores reportados para papa cuando se refiere a tubérculos frescos; estos pueden contener desde 6.9 hasta 15.9% de proteína en base seca. También contiene todos los aminoácidos esenciales y posee altos niveles de ácido ascórbico (77.4 mg/100g en base fresca) (Cadima, 2006).

Como se ha señalado, los tubérculos de mashua tienen alto contenido nutricional; sin embargo, no es tan apetecible como otros tubérculos y tiende a ser abandonada cuando las personas tienen acceso a otros alimentos (Cadima, 2006).

Al igual que otros Tropaeolaceae, la mashua contiene isotiocianatos presentes como glucosinolatos, y son similares a los encontrados en otras crucíferas (Kjaer *et al.*, 1978; citado por Grau *et al.*, 2003). Los isotiocianatos son bien conocidos por sus propiedades insecticidas, nematocidas y diuréticos, lo que justifica el uso extensivo de mashua en la medicina tradicional andina. Entre las propiedades que se le atribuyen son el uso para tratar dolencias del riñón, destruir piedras en la vejiga y enfermedades relacionadas con el hígado (Espinoza *et al.*, 1996).

La práctica andina de exponer los tubérculos y raíces a la luz solar directa se utiliza también para mashua, con el fin de aumentar la dulzura y reducir los niveles de cianuro antes de cocinar (Dolores y Espín, 1997; citado por Grau *et al.*, 2003).

2.2 Constituyentes bioactivos no nutricionales de alimentos de origen vegetal

Los alimentos de origen vegetal (frutas, hortalizas, cereales y alimentos derivados de ellos) son productos de gran interés, ya que, además de aportar macronutrientes y micronutrientes, contienen una serie de sustancias que, aunque no tienen una función nutricional clásicamente definida, o no se consideran esenciales para la dieta humana, pueden tener un impacto significativo en el curso de alguna enfermedad y ser indispensables a largo plazo para nuestra salud (Hannum, 2004).

Desde este punto de vista, el concepto clásico de “nutrición adecuada” que aporta los nutrientes suficientes (hidratos de carbono, proteínas, grasas, vitaminas y minerales) para satisfacer las necesidades orgánicas ha sido sustituido por el de “nutrición óptima”, que incluye, la potencialidad de los alimentos para promocionar la salud, mejorar el bienestar y reducir el riesgo de desarrollar enfermedades. En este ámbito desde finales del siglo XX, aparecen los alimentos funcionales (Martínez-Navarrete *et al.*, 2008).

En el reino vegetal, se pueden distinguir 4 grandes grupos de compuestos bioactivos, entre los que se incluyen sustancias de diversas familias químicas, como son las sustancias nitrogenadas, las azufradas, las terpénicas y, las más ampliamente estudiadas, las fenólicas (Kris-Etherton *et al.*, 2002). Muchos de estos compuestos son los principios activos de extractos que se comercializan como suplementos o productos dietéticos dentro de lo que se considera como nutraceuticos, pero que serán susceptibles de formar parte en el futuro como ingredientes de alimentos funcionales, de la misma forma que ya se encuentran en otros países (Juárez *et al.*, 2005).

2.2.1 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son sustancias bioactivas ampliamente distribuidas en plantas, y son constituyentes importantes de la dieta humana. Los compuestos fenólicos pueden ser divididos en varios subgrupos atendiendo a su estructura básica (Juárez *et al.*, 2005).

Naczk y Shahidi (2004) indican que los compuestos fenólicos de las plantas incluyen a los fenoles simples, ácidos fenólicos (derivados del ácido benzoico y cinámico), cumarinas, flavonoides, estilbenos, taninos hidrolizables y condensados, lignanos y ligninas.

Los compuestos fenólicos protegen a las plantas contra el daño oxidativo, y realizan la misma función en el organismo humano (Chasquibol *et al.*, 2003). La característica principal de los compuestos fenólicos es su habilidad para bloquear la acción de enzimas específicas que causan inflamación. Hasta el momento, los compuestos fenólicos han demostrado mejorar la función endotelial mediante la disminución de la

expresión de moléculas de adhesión celular, incrementando la disponibilidad de óxido nítrico (NO) y la captura intracelular de radicales libres; por otra parte, se han descrito potentes propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos frente a la oxidación de lípidos y ADN en estudios experimentales *in vitro* (Pérez-Jiménez *et al.*, 2005 mencionado por Montse, 2008).

El pardeamiento de las frutas y vegetales está controlada por los niveles de polifenoles, la presencia de oxígeno y la actividad de la polifenol oxidasa. Esta enzima cataliza la reacción entre un grupo fenol y el oxígeno para dar agua y quinonas, compuestos responsables de pigmentos amarillos y marrones, fenómeno de vital importancia para asegurar la calidad de los alimentos vegetales (Martínez-Valverde *et al.*, 2000). Por lo tanto, los compuestos fenólicos son en parte responsables de las propiedades organolépticas de los alimentos de origen vegetal y, por lo tanto, tienen importancia en la calidad de los mismos (Tomás-Barberan y Espín, 2001).

2.2.1.1 Estructura química y clasificación

Químicamente, los compuestos fenólicos son sustancias que poseen un anillo aromático, un anillo benceno, con uno o más grupos hidróxilos incluyendo derivados funcionales (ésteres, metil ésteres, glicósidos, etc.). Se presentan en las plantas en forma conjugada con uno o más residuos de azúcar unidos a los grupos hidroxilos, aunque en algunos casos se pueden producir uniones directas entre una molécula de azúcar y un carbono aromático. Por ello la forma más común de encontrarlos en la naturaleza es en forma de glicósidos, siendo solubles en agua y solventes orgánicos. Los compuestos a los que se encuentran unidos con más frecuencia son: glucosa, galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa, y ácido glucurónico y galacturónico. También pueden encontrarse unidos a ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas, lípidos y a otros compuestos fenólicos (Martínez-Valverde *et al.*, 2000).

2.2.1.2 Actividad biológica de los compuestos fenólicos

El papel de los compuestos fenólicos no es del todo conocido, pero a pesar de no considerarse nutrientes, sus efectos beneficiosos para la salud están adquiriendo

recientemente un papel central en la prevención de enfermedades crónicas como las enfermedades cardiovasculares y el cáncer, por su potente capacidad antioxidante (Mertz *et al.*, 2009, Rubio, 2010). Las propiedades antioxidantes más altas de los polifenoles parcialmente oxidados podría atribuirse a su mayor capacidad para donar un átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo aromático a un radical libre y/o la capacidad de sus estructuras aromáticas para apoyar el electrón desapareado a través de la deslocalización de electrones alrededor del sistema (Nicoli *et al.*, 1999).

Estudios en humanos demostraron que los compuestos fenólicos también tienen capacidad de inhibir la agregación plaquetaria y modificar la hemostasis, además de propiedades antioxidantes y antitrombóticas, razón por la cual que se han descrito potentes propiedades antioxidante de los compuestos fenólicos frente a la oxidación de lípidos y ADN en estudios experimentales *in vitro* (Montse, 2008).

Para que un compuesto fenólico sea clasificado como antioxidante debe cumplir dos condiciones básicas. La primera es que cuando se encuentre en una concentración baja con relación al sustrato que va a ser oxidado puede retrasar, enlentecer o prevenir la autooxidación iniciada por un radical libre. La segunda es que el radical formado tras el secuestro sea estable y no pueda actuar en oxidaciones posteriores (Martínez-Valverde *et al.*, 2000).

Entre los compuestos fenólicos con una reconocida actividad antioxidante destacan los flavonoides, los ácidos fenólicos (principalmente hidroxicinámico, hidroxibenzoico, cafeico, clorogénico), taninos, chalconas, cumarinas, los cuales constituyen la fracción polifenólica de una gran diversidad de alimentos (Martínez-Valverde *et al.*, 2000).

2.2.2 Carotenoides

Los carotenoides son un grupo de pigmentos muy difundidos en los reinos vegetal y animal, se han identificado cerca de 600 carotenoides en la naturaleza, de los cuales por lo menos 40 han sido aislados de los alimentos, siendo los más abundantes el alfa y betacaroteno, licopeno, luteína, zeaxantina y betacriptoxantina. Se han establecido

asociaciones entre varios de ellos y las enfermedades cardiovasculares, pero el más estudiado es sin duda el betacaroteno (Mendivil *et al.*, 2002).

La composición cualitativa y cuantitativa de carotenoides de los alimentos varía considerablemente. Un determinado alimento también tendrá variación composicional debido a factores tales como, variedad o cultivar, efectos geográficos / clima, la etapa de madurez y parte de la planta utilizada (Kimura *et al.*, 2007).

Los carotenoides se encuentran en los tejidos vegetales formando parte del sistema fotosintético, disueltos en gotitas de aceite, o como sólidos unidos a membranas en forma semicristalina. Estas diferencias en la localización y forma, afectan considerablemente la absorción, y explican la aparente mayor absorción de β -caroteno a partir de los frutos anaranjados (donde se encuentra en gotitas de aceite) que a partir de hojas de hortalizas (donde se encuentra formando parte del sistema fotosintético). Los principales carotenoides en alimentos son α y β -caroteno, luteína, licopeno, β -cryptoxantina y zeaxantina. Los carotenoides de los alimentos vegetales generalmente se encuentran en la forma *trans*, y los hidroxicarotenoides en la forma libre (Juárez *et al.*, 2005).

Los carotenoides también se han relacionado con un aumento de la capacidad del sistema inmune y una disminución del riesgo de enfermedades degenerativas. Estos aspectos son independientes de la actividad de provitamina A y se relaciona con la propiedad antioxidante de los carotenoides. La efectividad de estos compuestos como antioxidantes se relaciona con su capacidad para capturar el oxígeno singulete y a través de la desactivación de los radicales libres, como el radical peróxido, el cual está involucrado en numerosas enfermedades crónicas (Figura 1) (Rodríguez-Amaya, 1997).

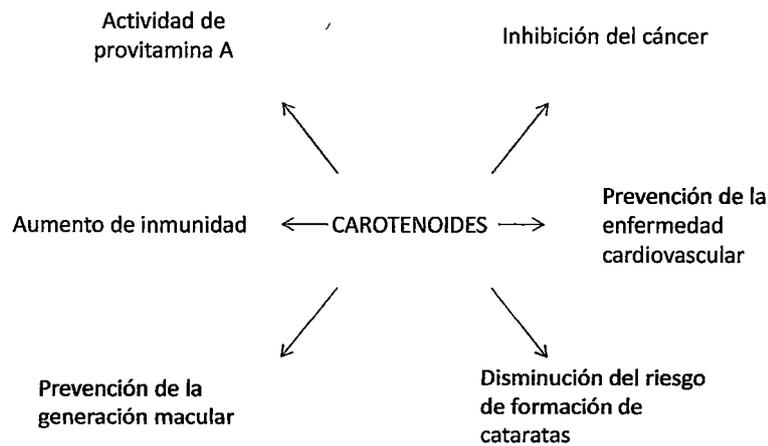


Figura 1: Funciones o acciones que promueven la salud atribuidas a los carotenoides

Según Burton (1989) existen dos características que hacen que el β -caroteno pueda manifestar su actividad antioxidante:

- Su reactividad, tiene potencial para competir incluso en concentraciones bajas por los radicales peroxilo del sistema.
- La estabilidad del radical β -caroteno, a presiones parciales de oxígeno suficientemente bajas, este radical predomina frente al radical peroxilo y puede ser eliminado del sistema mediante la reacción con otro radical peroxilo, dando lugar a un producto inactivo.

2.2.2.1 Estructura química y clasificación

La estructura básica de los carotenoides es un tetraterpeno de 40 carbonos, simétrico y lineal formado a partir de ocho unidades isoprenoides de 5 carbonos unidas de manera tal que el orden se invierte al centro. Este esqueleto básico puede modificarse de varias maneras como por ejemplo, por hidrogenación, dehidrogenación, ciclación, migración del doble enlace, acortamiento o extensión de la cadena, reordenamiento, isomerización, introducción de funciones oxigenadas o por combinaciones de estos procesos, dando como resultado una gran diversidad de estructuras (Meléndez-Martínez *et al.*, 2007).

Químicamente los carotenoides se subdividen en dos grupos; los carotenos, que son hidrocarburos, y las xantofilas, sus derivados oxigenados. Los carotenoides son sustancias hidrofóbicas, lipofílicas y son virtualmente insolubles en agua. Se disuelven en solventes orgánicos como acetona, alcohol, éter etílico, tetrahidrofurano y cloroformo. Los carotenos son fácilmente solubles en éter de petróleo y hexano. Las xantofilas se disuelven mejor en metanol y etanol. La gran mayoría de carotenoides de la naturaleza son compuestos *trans*, si se crea una configuración de *cis* la absorbancia máxima se desplaza y aparece un espectro de menor longitud de onda (Rodríguez-Amaya, 1997). En el caso de los carotenoides, la característica estructural más llamativa es el sistema de dobles enlaces conjugados característico de sus moléculas. (Meléndez-Martínez *et al.*, 2007).

2.2.2.2 Estabilidad

Los carotenoides presentan inestabilidad química asociada a la estructura insaturada que los hace susceptibles a reacciones de oxidación favorecidas por las condiciones térmicas de procesamiento de los alimentos, lo cual disminuye la concentración de los carotenoides en los productos. Razón por lo cual es necesario la búsqueda de procesos que aumenten su vida útil (Sánchez *et al.*, 1999).

Los factores que afectan en la degradación de carotenoides en sistemas modelos son varios, como por ejemplo la estructura del carotenoide, exposición a la luz, actividad de agua, temperatura, presencia de oxidantes y antioxidantes, presencia de sulfitos, etc. Sin embargo, los estudios de estabilidad en los alimentos son más complejos, debido a su variedad estructural y de composición, diferentes tipos de procesamiento industrial, etc. (Meléndez-Martínez *et al.*, 2004). La estructura de los carotenoides puede variar por ácidos o álcalis. Todos los procedimientos que inevitablemente tienen riesgos de oxidación, isomerización, etc., se deben llevar lo más rápido posible (Britton, 1992, mencionado por Temoche, 2003).

2.2.2.3 Biodisponibilidad

De Pee y West (1996), citado por Rodríguez-Amaya, 1997 señalan que la biodisponibilidad de los carotenoides es mayor a partir de extractos oleosos que directamente de los vegetales e incluso en zanahorias. Además, el triturado y homogeneizado de los alimentos incrementa la biodisponibilidad de los carotenos.

2.3 Radicales libres y envejecimiento

Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado o libre por lo que son muy reactivos, tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón que necesita, la molécula estable que se le cede se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una reacción en cadena. La vida media biológica del radical libre es de microsegundos, pero tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que esté a su alrededor provocando un gran daño a moléculas, membranas celulares y tejidos. Los radicales libres no son intrínsecamente deletéreos; de hecho, nuestro propio cuerpo los produce en cantidades moderadas para luchar contra bacterias y virus (Avello y Suwalsky, 2006).

Los seres humanos y la mayoría de los organismos eucarióticos necesitan oxígeno para mantener una producción de energía suficiente para sobrevivir. Sin embargo, el exceso de oxígeno es potencialmente peligroso, principalmente debido a la formación de especies reactivas intermedias durante su utilización, llamadas ROS (Pérez *et al.*, 2008). Entre estas especies reactivas de oxígeno, se encuentran el anión superóxido, el radical hidroxilo, el peróxido, el peróxido de hidrógeno, los hidroperóxidos y peroxinitritos, que atacan componentes celulares causando daño sobre los lípidos (ácidos grasos insaturados), proteínas y ADN, los cuales pueden iniciar una cadena de eventos que dan como resultado lesión celular (Cuadro 1) (Juárez *et al.*, 2005).

Cuadro 1: Mecanismo de daño oxidativo celular

Condición	Daño específico
Peroxidación lipídica	Reacción en cadena sobre la membrana celular que provoca finalmente la alteración de la estructura, la fluidez y la permeabilidad de las membranas celulares
Oxidación de proteínas	Alteran la conformación (desnaturalización, fragmentación, polimerización) y las múltiples funciones biológicas: actividad enzimática, transmisión de señales, regulación metabólica y genética, etc.
Alteración del ADN	Afecta a sus bases nucleótidas, frecuentemente en la guanidina: 8-oxo-2'-deoxiguanina. Induce a errores en la incorporación de las bases nucleotídicas en la replicación
Interacción con el ON	Formación de peroxinitrito, perpetuando la acción del anión superóxido como agente proinflamatorio

Fuente: Pérez *et al.* (2008)

El problema para la salud se produce cuando nuestro organismo tiene que soportar un exceso de radicales libres durante años, producidos mayormente por contaminantes externos, que provienen principalmente de la contaminación atmosférica y el humo de cigarrillos, los que producen distintos tipos de radicales libres en nuestro organismo. El consumo de aceites vegetales hidrogenados tales como la margarina y el consumo de ácidos grasos *trans*, como los de las grasas de la carne y de la leche también contribuyen al aumento de los radicales libres (Finkel y Holbrook, 2000).

Numerosas enfermedades han sido vinculadas al estrés oxidativo. El desbalance entre oxidantes y antioxidantes está asociado a la fisiopatología de aterosclerosis, cáncer, cataratas, sobrecarga de hierro y cobre, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer y otras demencias, diabetes, malaria, artritis, enfermedades autoinmunes, inflamaciones crónicas y otras. Asimismo, el proceso biológico del envejecimiento se acelera en relación directa con la magnitud del estrés oxidativo (Pérez *et al.*, 2008).

Algunas enfermedades o procesos asociados al daño oxidativo en las moléculas biológicas:

- Envejecimiento: Peroxidación de los ácidos grasos de la membrana celular y daño del ADN.
- Aterosclerosis: Peroxidación de lípidos en las partículas de LDL con daño de otros componentes.
- Cáncer: Daño del ADN.
- Cataratas: Modificaciones irreversibles en las proteínas.
- Cuadros Inflamatorios Crónicos: Activación de genes relacionados con la respuesta inflamatoria.

2.3.1 Antioxidantes

Un antioxidante, es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas y lo puede hacer de dos formas: captando radicales libres, en cuyo caso se denominan antioxidantes primarios o por mecanismos que no estén relacionados con la captación de radicales libres, en cuyo caso se conocen como antioxidantes secundarios. Los antioxidantes secundarios operan a través de un cierto número de mecanismos, incluyendo su unión a metales pesados, captación de oxígeno, conversión de hidroperóxidos a especies no radicales, absorción de la radiación UV o desactivación del oxígeno singulete (Pokorny *et al.*, 2001). Normalmente, los antioxidantes secundarios sólo poseen actividad antioxidante en presencia de un segundo componente minoritario, lo cual puede observarse en el caso de agentes secuestradores, tales como el ácido cítrico, que sólo es efectivo en presencia de iones metálicos, y agentes reductores tales como el ácido ascórbico que sólo es efectivo en presencia de tocoferoles u otros antioxidantes primarios (Pokorny, 2003).

Ambos mecanismos, primario y secundario, conducen a la reducción de los radicales, pero difieren en la cinética y la tendencia a reacciones secundarias. Para la transferencia de un átomo de hidrógeno; los antioxidantes extinguen los radicales libres mediante la donación de un hidrógeno, mientras que para la transferencia de electrones los antioxidantes transfieren un electrón al radical. Para estimar el potencial antioxidante de los compuestos químicos, diferentes métodos experimentales han sido aplicados. La mayoría de ellos requieren una medición espectrofotométrica y un tiempo

de reacción determinado con el fin de obtener resultados reproducibles (Prior *et al.*, 2005).

Hay antioxidantes naturales (fisiológicos) presentes en nuestro organismo y antioxidantes provenientes de la dieta. Dentro de cada grupo, los antioxidantes pueden ser enzimas que aumentan la velocidad de ruptura de los radicales libres; o previenen la participación de iones de metales de transición en la generación de radicales libres y los inactivadores o barredores ("scavengers") (Aruoma, 2000).

Los antioxidantes naturales se encuentran presentes en prácticamente todas las plantas, microorganismos, hongos e incluso en los tejidos animales (Zapata *et al.*, 2007). Materiales vegetales, como verduras, frutas, hojas, semillas, cortezas, etc. han sido investigados por la presencia de sustancias antioxidantes. Las sustancias antioxidantes de origen vegetal tienen una importancia considerable entre los nutricionistas, farmacéuticos y científicos, ya que refuerza la calidad y el valor nutricional de los alimentos (Kaviarasan *et al.*, 2010). La búsqueda de nuevos antioxidantes naturales, especialmente de origen vegetal es cada vez mayor.

Algunos compuestos fenólicos al igual que los carotenoides, inactivan varias especies reactivas de oxígeno (Robards *et al.*, 1999). Estos compuestos están estrechamente asociados con el color y sabor de los alimentos de origen vegetal, así como con su calidad nutricional por sus propiedades antioxidantes comprobados (Martínez-Valverde *et al.*, 2000).

Los compuestos fenólicos son efectivos donadores de hidrógenos, particularmente los flavonoides. Su potencial antioxidante depende del grado de glicosilación (número y posición de los grupos hidroxilos) y su conjugación, a su potencial para quelar metales y a sus propiedades redox, que le permite actuar como agentes reductores, donadores de hidrógeno y absorbedores de energía del oxígeno singlete (Rice-Evans *et al.*, 1996). No obstante algunas veces se puede comportar como prooxidante, debido a la falta de estabilidad que pueda tener el radical formado (aroxilo) luego de sus acción como "captor de radicales" (Rice-Evans *et al.*, 1996).

Por otro lado otro compuesto de gran importancia nutricional son los carotenoides, debido a que algunos de ellos poseen actividad provitamínica A y además, existen una serie de estudios que demuestran su actividad antioxidante (Meléndez-Martínez *et al.*, 2007). La cuantificación de la actividad antioxidante de los carotenoides puede ser determinada por su habilidad para transferir electrones, por su interacción con otro antioxidante o por su reactividad con el oxígeno singulete (Bohm *et al.*, 2002).

Con respecto a los niveles diarios recomendables de antioxidantes, hay que tener en cuenta dos factores: en primer lugar, si el individuo está sano o presenta algún tipo de patología. Por ejemplo, en el caso de fumadores, estos necesitan mucha mayor cantidad de ascorbato que los no fumadores, ya que su catabolismo de vitamina C es mayor. Asimismo, las embarazadas también precisan una mayor ingesta por la pérdida de vitamina C que sufren a través de la placenta. En segundo lugar los niveles de antioxidantes son un parámetro más adecuado que la ingesta diaria de antioxidantes, puesto que la metabolización en cada individuo es distinta, siendo los niveles recomendados, de 50 uM para la vitamina C, 30 uM para la vitamina E y 4 uM para el β -caroteno (Montero, 1999).

2.3.2 Influencia del procesamiento en la capacidad antioxidante de los alimentos

La influencia de las operaciones de procesado, cortado, lavado, envasado y conservación sobre el contenido en constituyentes bioactivos ha sido un tema de gran interés. Sin embargo, se ha observado que tiene un mínimo impacto en la reducción del contenido en antioxidantes y otros compuestos bioactivos tanto en frutas como en hortalizas (Gil *et al.*, 2006).

Las consecuencias de las técnicas de conservación en la capacidad antioxidante total de los alimentos son el resultado de diferentes eventos que pueden ocurrir consecutivamente o simultáneamente. Los procesamientos tales como esterilización, pasteurización, deshidratación; así como el almacenamiento y manipulación podrían ocasionar ningún efecto, o dar lugar a un incremento o disminución de la capacidad antioxidante total del alimento (Nicoli *et al.*, 1997).

Hasta ahora los cambios en la concentración de antioxidantes durante el procesamiento de alimentos y almacenamiento siempre han sido estudiados por separado, sin tener en cuenta que estos compuestos también pueden reaccionar con otros componentes alimenticios. Por ejemplo muy pocos datos están disponibles sobre las interacciones que tienen lugar entre los diferentes ingredientes que se mezclan durante la preparación de los alimentos. Además, durante los tratamientos térmicos, junto con la pérdida de nutrientes, los alimentos pueden estar sujetos a cambios químicos, tales como los resultantes de la reacción de Maillard. Esta reacción, que ocurre cuando los azúcares se condensan con aminoácidos libres, péptidos o proteínas, conduce a la formación de una amplia variedad de melanoidinas marrones. A pesar que han sido estudiados por varias décadas no está claro si los productos de la reacción de Maillard (MRPs) presentan actividad mutagénica o antimutagénica. La actividad antimutagénica ha sido recientemente atribuida al hecho de que ciertos MRPs pueden actuar como antioxidantes, es decir deteniendo la cadena de propagación, absorbedores de oxígeno y agentes quelantes de metales (Nicoli *et al.*, 1997).

Por ser altamente insaturados, los carotenoides son susceptibles a la isomerización y oxidación durante el procesamiento de alimentos, la isomerización de *trans* a *cis* – carotenoides, promovida por el contacto con ácidos, tratamiento con calor y exposición a la luz, disminuye el color y la actividad de la vitamina A. El principal causante de las pérdidas, sin embargo, es la oxidación por vías enzimáticas y no enzimáticas, la cual depende de la disponibilidad de oxígeno y la estructura del carotenoide. Esta es estimulada por la luz, calor, ciertos metales, enzimas y peróxidos y es inhibida por antioxidantes. Si bien los datos sobre pérdidas porcentuales, durante el procesamiento y almacenamiento, son un tanto conflictivos, no hay duda que la degradación aumenta con el grado de destrucción de las estructuras celulares, el incremento del área superficial o porosidad, tiempo y severidad de las condiciones del proceso, duración y temperatura del almacenamiento, transparencia a la luz y permeabilidad del embalaje al oxígeno. La oxidación de carotenoides comienza con epoxidación, formación de apocarotenoides e hidroxilación (Rodríguez-Amaya, 1999).

El procesado y/o tiempo de almacenamiento prolongado pueden promover o mejorar la progresiva oxidación enzimática o química de los compuestos fenólicos;

estas reacciones proceden a un ritmo diferente en función de algunas variables intrínsecas de alimentos, así como sobre las condiciones de procesamiento (pH, tiempo, temperatura, disponibilidad de oxígeno, etc.). Por lo tanto, el aumento o la disminución de las propiedades antioxidantes de polifenoles que contienen en general los productos, son consecuencias de las reacciones de oxidación. En la Figura 2, se esquematiza la evolución de las propiedades antioxidantes de los alimentos que contienen polifenoles debido tanto a la oxidación enzimática o química. En el caso de la oxidación química, se consideran los cambios en las propiedades antioxidantes a dos temperaturas diferentes. Parece evidente que el potencial antioxidante de los polifenoles de un alimento puede variar considerablemente dependiendo de la temperatura y el tiempo. Sobre la base de estas consideraciones, la falta de evidencia científica clara para el papel de los polifenoles como compuestos que protegen la salud, podría atribuirse en parte a la fluctuación de sus propiedades antioxidantes, en los productos alimenticios (Nicoli *et al.*, 1999).

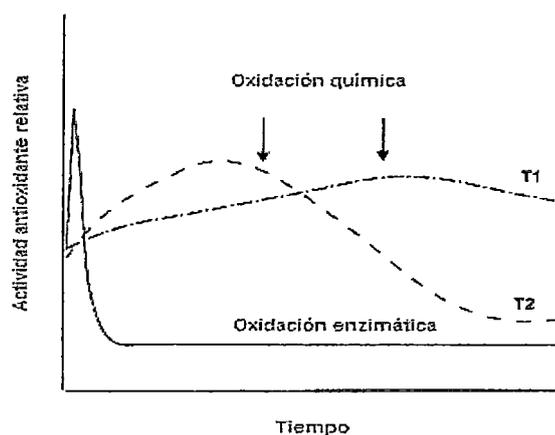


Figura 2: Cambio en la actividad antioxidante de un alimento que contiene polifenoles por oxidación química enzimática

Fuente: Nicoli *et al.*, 1999

2.3.2.1 Cambios durante el blanqueado

El blanqueado es un tratamiento térmico, que se realiza a frutas y hortalizas y tiene como principal objetivo la desnaturalización de enzimas responsables del pardeamiento y de la alteración de aromas, efectos que pueden llegar a hacer al producto, inaceptable comercialmente.

El blanqueado se realiza a temperaturas comprendidas entre 95-199°C que dura varios minutos y se aplica a sistemas tisulares como etapa previa a otras operaciones como la congelación, enlatado, liofilización o secado. Previa a estas operaciones se busca la destrucción de enzimas que afectan el sabor, color, contenido vitamínico y nutriente. El blanqueado puede hacerse con agua, vapor, aire caliente o microondas (Orrego, 2003).

El calor aplicado durante el escaldado por inmersión en agua caliente, generalmente ocasiona un ablandamiento de los tejidos; además permite que exista una filtración de micronutrientes por solubilización, remoción de aire y alteraciones en el color del producto terminado (Aguilar *et al.*, 1999). El calentamiento de los tejidos a temperaturas de 60-70°C, provoca la ruptura de las membranas, el desacoplamiento de los componentes celulares y la degradación de las pectinas de la lamina media y de la pared celular, siendo dichos fenómenos más relevantes en frutas y hortalizas de baja acidez, contribuyendo más aun a la pérdida de su firmeza (Van Buren, 1986). Sin embargo, estos calentamientos moderados confieren a algunos productos vegetales una textura más firme (Wu y Chang, 1990). Se cree que esta firmeza inducida por el calor se debe a daños o lesiones que sufren las membranas celulares y a un aumento de su permeabilidad.

Una alternativa al blanqueado por inmersión en agua caliente es el efectuado con microondas. La energía que proporciona el microondas origina la fricción de las moléculas debido a la rápida oscilación en el campo magnético y por consiguiente el calentamiento de las mismas (Jiménez *et al.*, 2004).

Es bien sabido que el procesamiento de alimentos puede tener muchos efectos, no todos dan lugar a una pérdida de las propiedades de calidad y salud. Por ejemplo, recientemente se ha encontrado que la biodisponibilidad del β -caroteno aumenta como consecuencia del calentamiento moderado o la alteración de la estructura de la pared celular de los vegetales.

El blanqueado también representa una herramienta útil en la prevención de las oxidaciones enzimáticas, que son la principal causa de pérdida de antioxidantes naturales en la materia prima de origen vegetal (Nicoli *et al.*, 1999).

2.3.2.2 Cambios durante el secado

El secado de alimentos es una operación unitaria destinada a la eliminación de humedad mediante aplicación de calor en condiciones controladas e implica la transferencia simultánea de calor, masa y cantidad de movimiento, donde el calor penetra en el alimento para evaporar el agua que es retirada por una fase gaseosa insaturada circulante o aire de secado, y se consigue con ello una mejor conservación microbiológica además de retardar muchas reacciones indeseables (Ibarz y Barboza-Cánovas, 2005). En los alimentos no procesados, las gotitas lipídicas, liposomas o membranas, están protegidas frente al acceso del oxígeno del aire gracias a la existencia de capas de proteínas hidratadas. Debido a la deshidratación estas capas protectoras se alteran por lo que los lípidos quedan expuestos al libre acceso del oxígeno, siendo transformados en una fina película sobre la superficie de las partículas no lipídicas. Por ello, la oxidación de los lípidos, incluidos los esteroides, es mucho más rápida en alimentos desecados que en los alimentos hidratados, incluso a temperatura ambiente o en condiciones de refrigeración (Pokorny *et al.*, 2001). La destrucción del sistema celular es uno de los cambios físicos y estructurales más importantes que se producen durante el secado (Crapiste, 2000; mencionado por Vega-Gálvez *et al.*, 2009).

Por otra parte, la presencia o adición de sustancias con carácter antioxidante, como el ácido cítrico, disminuyen las pérdidas de carotenoides en alimentos de origen vegetal sometidos a secado (Moreno-Álvarez *et al.*, 2003).

La reducción del contenido de humedad aumenta la vida útil de los productos ya que ocasiona un descenso de la actividad de agua (a_w), lo que inhibe el crecimiento microbiano y disminuye la velocidad de varias reacciones deteriorantes. Además, la reducción de la masa y el volumen del producto favorece operaciones como empacado, embalaje, almacenamiento y transporte, y con ello la diversidad en las

presentaciones. No obstante las ventajas del secado señaladas, esta operación puede favorecer la pérdida de constituyentes de interés nutricional o producir modificaciones indeseables en los atributos sensoriales, situación que está influenciada por el método de secado empleado y las condiciones en que éste se aplica (Sharma *et al.*, 2003).

En general, la concentración de nutrientes disminuyen luego de someter el producto al proceso de secado (Machado, 1997). Es importante anotar además, que para el caso de elementos como las proteínas, sodio y vitaminas, el proceso constituye un mecanismo para mejorar la disponibilidad de estos componentes, teniendo en cuenta que en ausencia de agua, materiales como estos pueden aumentar su disponibilidad (Vanaclocha y Requena, 2003), lo cual se hace importante en caso de su aprovechamiento como ingrediente natural en la industria farmacéutica, cosmética o alimenticia.

Talcott y Howard (1999a), encontraron que el tiempo y el tipo de procesamiento afectaron el color, el contenido de fenoles totales y el contenido de carotenoides en puré de zanahoria. Así mismo que la presencia de oxígeno disminuyó la retención de carotenoides durante 4 semanas de almacenamiento. La reducción del contenido de oxígeno en el sistema podría prevenir también la autoxidación de los compuestos fenólicos en puré de zanahoria (Talcott y Howard, 1999b)

2.3.3 Determinación de la capacidad antioxidante

Varios componentes de los alimentos como carotenoides, vitamina C, vitamina E, compuestos fenólicos y sus interacciones contribuyen a la actividad antioxidante de los alimentos, por lo que es difícil medir la actividad antioxidante total por componentes activos separados (Pinelo *et al.*, 2004).

Por lo tanto, varios métodos han sido desarrollados para evaluar la actividad antioxidante total de frutas u otras plantas y tejidos animales. Entre ellos, la capacidad antioxidante equivalente Trolox, el potencial total de absorción de radicales (Evelson *et al.*, 2001), ensayos de capacidad de absorción de radicales de oxígeno (Ou *et al.*, 2001)

son los métodos utilizados con frecuencia en diversas investigaciones. Sin embargo, ninguno de los métodos mencionados anteriormente pueden ser tratados como un ensayo de capacidad antioxidante total, porque lo que realmente mide es la capacidad de los antioxidantes en eliminar los radicales específicos, inhibir la peroxidación de lípidos o iones metálicos quelantes.

Las características esenciales de cualquier prueba de evaluación de la capacidad antioxidante son un sustrato adecuado en el cual puede ser monitoreada la inhibición de la oxidación, un iniciador de la oxidación (radical libre) y una adecuada medición del punto final de la oxidación, la que puede llevarse a cabo por métodos químicos, instrumentales o sensoriales (Arnao *et al.*, 1998).

Existen diversos métodos para evaluar la capacidad antioxidante, ya sea *in vitro* o *in vivo*. Una de las estrategias más aplicadas son las medidas *in vitro* de la capacidad antioxidante total de un compuesto, mezcla o alimento. Esto consiste en determinar la actividad del antioxidante frente a sustancias cromógenas de naturaleza radical, la pérdida de color ocurre de forma proporcional con la concentración (Moyer *et al.*, 2002). No obstante, las determinaciones de la capacidad antioxidante realizadas *in vitro* dan tan sólo una idea aproximada de lo que ocurre en situaciones complejas como las *in vivo*.

Para la medición de la captación de radicales libres, los métodos se agrupan en dos grupos, de acuerdo con las reacciones químicas involucradas: métodos basados en la transferencia de un átomo de hidrógeno (*HAT*) y los métodos de transferencia de electrones individuales (*SET*). Ambos tipos de reacción pueden ocurrir simultáneamente y la reacción dominante en el sistema se puede determinar de acuerdo con las siguientes características: La estructura y las propiedades antioxidantes; la solubilidad y los coeficientes de partición, y la solvencia del sistema. La energía de disociación de enlace y el potencial de ionización son dos factores que determinan el mecanismo y la eficacia de los antioxidantes. El mecanismo antioxidante basado en la transferencia de un electrón es predominante cuando se tiene un potencial de ionización superior a - 45 Kcal/mol, en cambio el mecanismo basado en la transferencia de un átomo de hidrógeno es predominante cuando se tiene un potencial de ionización menor

a 36 Kcal/mol. Además las reacciones basadas en la transferencia de un electrón son dependientes del pH ya que se basan en la desprotonación y en el potencial de ionización del grupo funcional reactivo. Por lo general, el potencial de ionización disminuye con el aumento de los valores de pH, lo que refleja una mayor capacidad de donadores de electrones con desprotonación. Por otro lado, las reacciones basadas en la transferencia de un átomo de hidrógeno son independientes del pH y solvente (Miguel *et al.*, 2010).

Los diferentes métodos utilizados para la determinación de la capacidad antioxidante se basan en diferentes fundamentos. Así, el método ABTS es un método de evaluación de la capacidad antioxidante de distintas sustancias tanto hidrofílica como lipofílica. Además, entre los métodos utilizados para determinar la capacidad de un antioxidante para captar radicales libres, el radical ABTS⁺ es uno de los más aplicados, al considerarse un método de elevada sensibilidad, práctico, rápido y muy estable; a pesar de esto los valores actividad antioxidante pueden depender del tiempo escogido para efectuar la medida (Kuskoski *et al.*, 2004). El DPPH es el método indirecto más antiguo para determinar la capacidad antioxidante, sugirió por primera vez en 1950 originalmente para descubrir donantes de H⁺ en los materiales naturales. Más tarde, la prueba se modificó para determinar el potencial antioxidante de ambos compuestos fenólicos individuales en alimentos, así como de las muestras biológicas. La prueba de DPPH se basa en la capacidad de radical libre estable 2,2-difenil-1-picrilhidrazil para reaccionar con donantes de H⁺ incluyendo fenoles (Roginsky y Lissi, 2005). El ensayo FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) (Benzie y Strain, 1996) se basa en la capacidad de los compuestos fenólicos para reducir Fe⁺³ a Fe⁺². Esto ocurre debido a la presencia de 2,4,6-tripyridyl-s-triazina, la reducción es acompañada por la formación de un complejo coloreado con Fe⁺². El ensayo ORAC depende de la detección de daño químico del β - o R-ficoeritrina (PE) a través de la disminución de su emisión de fluorescencia. La fluorescencia es muy sensible a la integridad química de la proteína. Bajo condiciones apropiadas, la pérdida de fluorescencia de la PE debido a la presencia de radicales libres es un índice de daño oxidativo a la proteína. La inhibición de la acción de radicales libres por un antioxidante, se refleja en la protección contra la pérdida de fluorescencia de la PE, siendo una medida de su capacidad antioxidante contra los radicales libres mediante el ensayo ORAC (Prior *et al.*, 1999).

En la literatura se encuentra ampliamente descrito la necesidad de utilizar más de un método cuando se evalúa la capacidad antioxidante de extractos vegetales, debido a que los antioxidantes pueden actuar por mecanismos diferentes, dependiendo del sistema de reacción o la fuente de radicales (Sacchetti *et al.*, 2005). Por lo tanto no es de extrañar que los diferentes métodos den resultados diferentes, ya que se basan en principios diferentes; sin embargo, usando el mismo principio, aún la diferencia puede existir, porque la actividad antioxidante de las frutas puede estar influenciado por el origen geográfico, el cultivar y la cosecha o el tiempo de almacenamiento. Así por ejemplo, Halvorsen *et al.* (2002) han indicado que las muestras de frutas recolectadas en diferentes regiones geográficas en el mundo varían con respecto a la capacidad antioxidante medida por el ensayo FRAP.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de ejecución

El presente trabajo se llevó a cabo en las instalaciones del Instituto de Biotecnología (IBT) de la Universidad Nacional Agraria La Molina, área de Biotecnología Industrial.

3.2 Materia prima

Se trabajó con tubérculos adquiridos en el mercado municipal de la ciudad de Huancayo.

3.3 Materiales, equipos y reactivos

3.3.1 Materiales

- Cronómetro
- Tamiz N° 20
- Micropipetas de 20-200, 100-1000 y 1000-5000 μ l
- Olla
- Tubos de centrifuga
- Todo material de vidrio requerido para los diferentes análisis

3.3.2 Equipos de laboratorio

- Agitador Vortex (VELP científica Modelo F202A0175)
- Balanza analítica (OHAUS Modelo AR2140)
- Baño Maria (GFL Modelo 1083)
- Bomba de succión (Vacuubrand Modelo ME2C)
- Centrifuga (HETTICH Modelo Mikro 220R)
- Cocina eléctrica (Practika)
- Espectrofotómetro (Thermo Modelo Genesys 10 UV)
- Estufa (VWR 1400 E- 2)
- Horno microondas (Samsung Modelo N° AME 610B)

- Lector multi- modales de microplacas (Biotek Modelo Synergy 2)
- Licuadora (Oster)
- Potenciómetro (Thermo Orion Modelo 410)
- Secador de cabina (FRAVILL)
- Selladora (Sealer Modelo KF- 300 H)

3.3.3 Reactivos

- 2,2' azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6- sulfonate) (ABTS) (Sigma Aldrich)
- 2,2' azinobis (2-amidinopropano) dihidrocloruro (AAPH) (Sigma Aldrich)
- 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma Aldrich)
- 2,4,6- tripyridyl-s-triazine (TPTZ) (Sigma Aldrich)
- Acetato de sodio trihidratado (HIMEDIA)
- Acido clorhídrico al 37% (J.A. ELMER)
- Acido acético (FERMONT)
- BHT (2,6-Di-tert-butyl-4-methyl-phenol, Minimum 99.0%) (Sigma Aldrich)
- Carbonato de sodio (J.T. Baker)
- Cloruro de Fierro hexahidratado (Merck)
- Etanol (YOHISA)
- Fluoresceína (Sigma Aldrich)
- Folin- Ciocalteau 2N (Merck)
- Fosfato de Potasio monobásico (KH_2PO_4) (Merck)
- Fosfato dipotásico (K_2HPO_4) (Merck)
- Metanol (FERMONT)
- Persulfato de potasio (Sigma Aldrich)
- Trolox (Sigma Aldrich)

3.4 Métodos de análisis

3.4.1 Determinación de humedad y materia seca

La determinación de humedad se realizó por secado al vacío de acuerdo al método A.O.A.C. (1995). La determinación de materia seca se hizo por diferencia del contenido de humedad del total (100%).

3.4.2 Determinación de los compuestos fenólicos

Para la determinación de los compuestos fenólicos se empleó la metodología recomendada por Singleton y Rossi (1965). Cuyo mecanismo básico del método es una reacción redox por lo que puede considerarse como otro método de medida de la actividad antioxidante total. En este método el cambio de absorbancia es medido a una longitud de onda de 755 nm. Se usa una solución de ácido gálico como patrón.

Preparación del extracto.

Se pesó 0.75g en caso de la harina y 2 g en caso de muestra fresca congelada y mezcló en tubos falcon con 45 ó 25 ml de solvente metanol al 80%, respectivamente. Se dejó reposar en refrigeración por 24 horas. Transcurrido este tiempo se centrifugó a 4500 rpm por 15min. El sobrenadante se separó mediante filtración, se colocó en botellitas ámbar y se saturó con nitrógeno gaseoso. Los extractos se mantuvieron almacenados a -20°C hasta su evaluación.

3.4.3 Cuantificación de carotenoides totales

Se utilizó la metodología de descrita por Talcott y Howard (1999a), que empleó como medio extractante el hexano y se utilizó el BHT como agente antioxidante.

La ecuación para calcular el contenido de carotenoides totales es la siguiente:

$$\text{mg de } \beta\text{-caroteno/100g de muestra} = (0.0048 \times \text{Abs}_{470}) \times A \times \text{Fd} \times 100$$

Donde: A= Volumen (ml) de hexano utilizado / peso de la muestra (g)

Fd= factor de Dilución

3.4.4 Medida de la capacidad antioxidante

Se evaluó cuatro metodologías para determinar la capacidad antioxidante: el ABTS, el DPPH, el FRAP y el ORAC, dado a que estos métodos vienen siendo empleados en investigaciones recientes.

El procedimiento para la preparación del extracto fue el mismo que para la determinación de compuestos fenólicos.

3.4.4.1 Método del ABTS (2,2 azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6- sulfonate)

Este ensayo recomendado por Arnao *et al.* (2001), se fundamenta en la cuantificación de la decoloración del radical ABTS⁺, debido a la interacción con especies donantes de hidrógeno o de electrones. El radical ABTS⁺ es un cromóforo que absorbe a una longitud de onda de 734 nm. Los resultados se expresaran como valores TEAC (*trolox equivalent antioxidant capacity*), mediante la construcción de una curva patrón usando como solución estándar el Trolox.

3.4.4.2 Método del DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Se siguió la metodología recomendada por Brand-Williams *et al.* (1995) con algunas modificaciones. Se basa en la decoloración del radical 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH·); para cuantificar la capacidad captadora de radicales libres de los extractos que conducen a la disminución de la concentración de este radical en la solución de la reacción, se midió la absorbancia a 515 nm. Los resultados se expresaran como valores TEAC (*trolox equivalent antioxidant capacity*), mediante la construcción de una curva patrón usando como solución estándar el Trolox.

3.4.4.3 Método del FRAP (*Ferric Reducing Ability of Plasma*)

Se empleó la metodología recomendada por Benzie y Strain (1996) con algunas modificaciones, este método evalúa la capacidad antioxidante de una muestra de acuerdo con su capacidad para reducir el hierro férrico (Fe^{+3}) presente en un complejo con la 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) hasta la forma ferrosa (Fe^{+2}), debido a la donación de electrones de los antioxidantes, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 593 nm. Los resultados se expresaran como valores TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity), mediante la construcción de una curva patrón usando como solución estándar el Trolox.

3.4.4.4 Método del ORAC (*Oxygen radical absorbance capacity*)

La actividad antioxidante se cuantificó de acuerdo a la metodología propuesto por Ou *et al.* (2001) con ligeras modificaciones. Se basa en la medición de la fluorescencia de una molécula a la que se le somete a la acción de un generador de radicales libres. A medida que la molécula fluorescente es atacada y dañada por los radicales va perdiendo su fluorescencia. La labor de los antioxidantes es la de proteger la molécula, y cuanto más capacidad antioxidante tiene un compuesto o alimento más se preserva la capacidad de emitir luz de la molécula en cuestión. El grado de protección se mide con un espectro de fluorescencia y se cuantifica en "equivalentes de Trolox" (TE).

3.5 Metodología experimental

El trabajo de investigación se dividió en dos etapas

- Influencia de los métodos de blanqueado en el contenido de compuestos fenólicos, carotenoides y capacidad antioxidante.
- Influencia del secado en el contenido de compuestos fenólicos, carotenoides y capacidad antioxidante.

3.5.1 Preparación de la muestra

- **Selección.** La materia prima se seleccionó mediante control visual, descartando aquellos defectuosos (cortados, con magulladuras, con presencia de hongos).
- **Lavado.** Los tubérculos seleccionados fueron lavados con el objeto de eliminar la tierra y otros contaminantes adheridos. Esta operación se realizó de forma manual, sometiendo los tubérculos a chorros de agua potable y frotándolos con la ayuda de escobillas finas.
- **Pesado.** Se pesaron muestras al azar para cada tratamiento de blanqueado, 0.5 kg aproximadamente. También se pesaron muestras al azar para el análisis de la muestra inicial (materia prima)
- **Blanqueado.** Con el fin de inactivar enzimas presentes se procedió a escaldar las muestras de mashua. Se estudió dos técnicas (ebullición y microondas) para tubérculos enteros y cortados y en cada caso tres tiempos.
- **Secado.** Las muestras de mashua fueron secadas en un secador de cabina. En el caso de tubérculos enteros, estos fueron cortados previamente. Se ensayaron dos temperaturas de secado.
- **Molienda y Tamizado.** Las muestras frescas y blanqueadas fueron molidas previo tratamiento con nitrógeno líquido. Las muestras secas fueron molidas para ser convertidas en harina, luego fueron pasadas por un tamiz N°20 con la finalidad de separar partículas gruesas de finas, eligiéndose el producto que pasó por la malla.
- **Envasado.** Se emplearon bolsas de polietileno de alta densidad para el envasado; el empaçado fue realizado en bolsas negras.
- **Almacenamiento.** Las muestras obtenidas se almacenaron a -20 °C hasta su respectivo análisis.

3.6 Diseño Experimental

3.6.1 Influencia de los métodos de blanqueado en el contenido de algunos compuestos bioactivos y en la capacidad antioxidante

En esta parte del trabajo se evaluó la influencia de dos métodos de blanqueado sobre el contenido de algunos compuestos bioactivos y en la capacidad antioxidante, considerando tubérculos enteros o cortados en rodajas de aproximadamente 5 mm. El esquema experimental se reporta en la Figura 3.

- a) Blanqueado por tratamiento en microondas con potencia de 1000 Watts. Quinientos gramos de tubérculos enteros o cortados en rodajas de ~5 mm, según el caso, fueron colocados en un beacker de 2 L conteniendo un litro de agua desionizada. Se evaluaron los siguientes tiempos de tratamiento térmico: 3, 4.5 y 6 min. Se determinó el contenido de compuestos fenólicos, carotenoides, capacidad antioxidante (ABTS, DPPH, FRAP y ORAC) y el contenido de materia seca.
- b) Blanqueado por tratamiento en ebullición (98.2°C). Quinientos gramos de tubérculo entero o cortado en rodajas de ~5 mm, según el caso, fueron colocados en una olla de 2 L de capacidad conteniendo 1 L de agua desionizada en ebullición, sobre una cocina eléctrica de uso domestico. Se evaluaron los siguientes tiempos de tratamiento térmico: 3, 4.5 y 6 min. Se determinó el contenido de compuestos fenólicos, carotenoides, capacidad antioxidante (ABTS, DPPH, FRAP y ORAC) y el contenido de materia seca.

3.6.2 Influencia del secado en el contenido de algunos componentes bioactivos y en la capacidad antioxidante

Las muestras blanqueadas (tubérculos enteros blanqueados luego cortados en rodajas y tubérculos cortados en rodajas, y blanqueados), así como una muestra control sin blanquear cortados en rodajas de ~5 mm, fueron sometidas al proceso de secado hasta obtener una humedad aproximada de 5%. Para el secado se utilizó un secador de

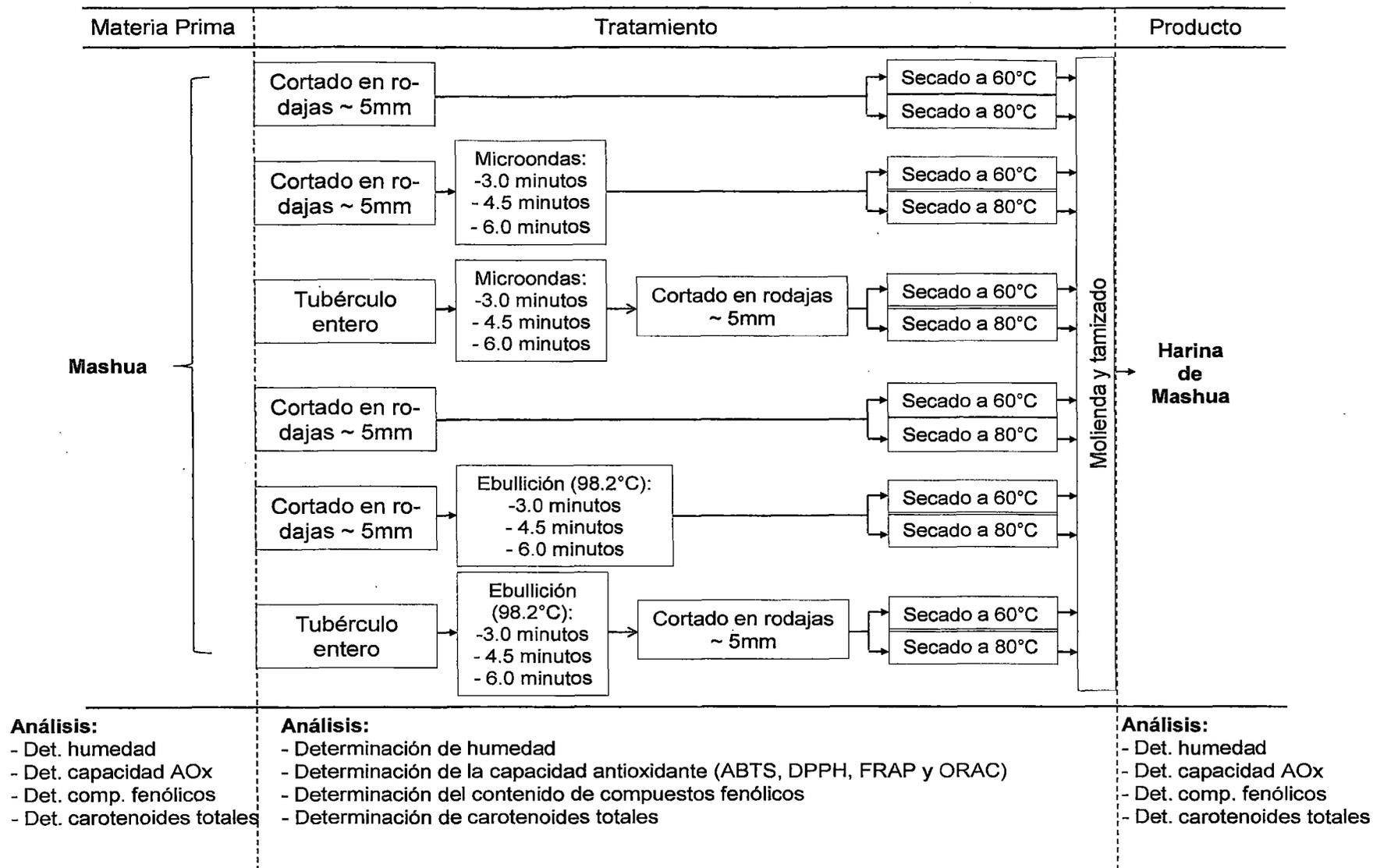


Figura 3: Diseño experimental del estudio del blanqueado y/o secado de tubérculos de mashua

cabina con control de temperatura y velocidad de aire caliente de 1.5 m/s, se evaluó dos temperaturas (60 y 80°C), los productos secos fueron sometidos a un proceso de molienda. En cada una de los tratamientos se determinó contenido de compuestos fenólicos, carotenoides, la capacidad antioxidante (DPPH, ABTS, FRAP y ORAC) y el contenido de materia seca.

3.7 Análisis estadístico

Los procesos de blanqueado y secado fueron evaluados mediante un análisis de variancia ($p < 0.05$) utilizando un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial para las variables: compuestos fenólicos y carotenoides; así como la capacidad antioxidante (ABTS, DPPH, FRAP y ORAC), utilizando el programa STATGRAPHIC CENTURION XV. En caso de existir diferencias significativas entre las variables en estudio se procedió a realizar una prueba de comparación de medias de DUNCAN. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

En la etapa de blanqueado se determinó la técnica de blanqueado que permitió conservar las características iniciales en evaluación, al comparar técnicas de blanqueado (microondas y ebullición), tiempo (3, 4.5 y 6 min) y operación de cortado (cortada y sin cortar) con la muestra inicial (materia prima). Esta evaluación se realizó mediante el análisis de varianza.

En la etapa de secado se determinó la temperatura de secado que permitió conservar las características en evaluación de las muestras provenientes del blanqueado (microondas y ebullición), tiempo (3, 4.5 y 6 min), operación de cortado (cortada y sin cortar), secado (60 y 80°C) y las muestras sin blanquear-sólo secada con respecto a la muestra inicial. Esta evaluación se realizó mediante el análisis de varianza.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se trabajó con tubérculos adquiridos en el mercado municipal de la ciudad de Huancayo, los cuales fueron procesados de acuerdo al ítem 3.5.1. Las curvas patrón necesarias para los cálculos de los compuestos fenólicos (acápite 3.4.2) y la capacidad antioxidante (acápites 3.4.4.1 - 3.4.4.4), son mostradas en el Anexo A.

Los resultados experimentales de las tres repeticiones se presentan en el Anexo B, en dicho anexo se muestran los resultados de los valores de humedad (Cuadro B.1). El contenido de compuestos fenólicos y carotenoides (Cuadro B.2) y capacidad antioxidante (Cuadro B.3); son expresados en base seca, con la finalidad de eliminar la influencia de la humedad.

Para el análisis estadístico (Anexo C) se trabajó con los porcentajes de retención, calculados respecto a la muestra inicial para las variables respuesta (compuestos fenólicos, carotenoides y capacidad antioxidante).

4.1 Determinación del contenido de compuestos fenólicos

4.1.1 Influencia del blanqueado

Se evaluó la influencia del blanqueado realizado por dos técnicas, microondas y ebullición, en el contenido de compuestos fenólicos de mashua amarilla. Los resultados se han graficado en base a los porcentajes de retención promedio y son mostrados en las Figuras 4 y 5.

Cuando se compararon ambos métodos de blanqueado, los resultados del análisis estadístico indicaron que el factor método de blanqueado (microondas y ebullición) no ejerció influencia significativa ($p > 0.05$), el factor momento del rodado (antes y después), y el factor tiempo de blanqueado (3, 4.5 y 6 min) si ejercieron influencia significativa ($p < 0.05$) (Anexo C.1).

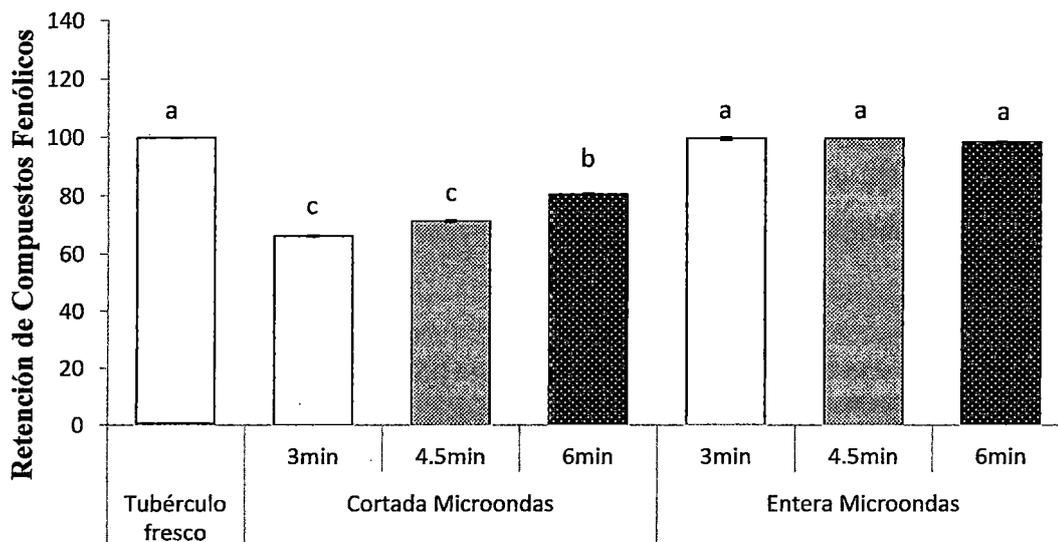


Figura 4: Contenido de compuestos fenólicos totales de mashua blanqueadas por microondas. Las barras indican los valores medios \pm SD de tres repeticiones, letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas

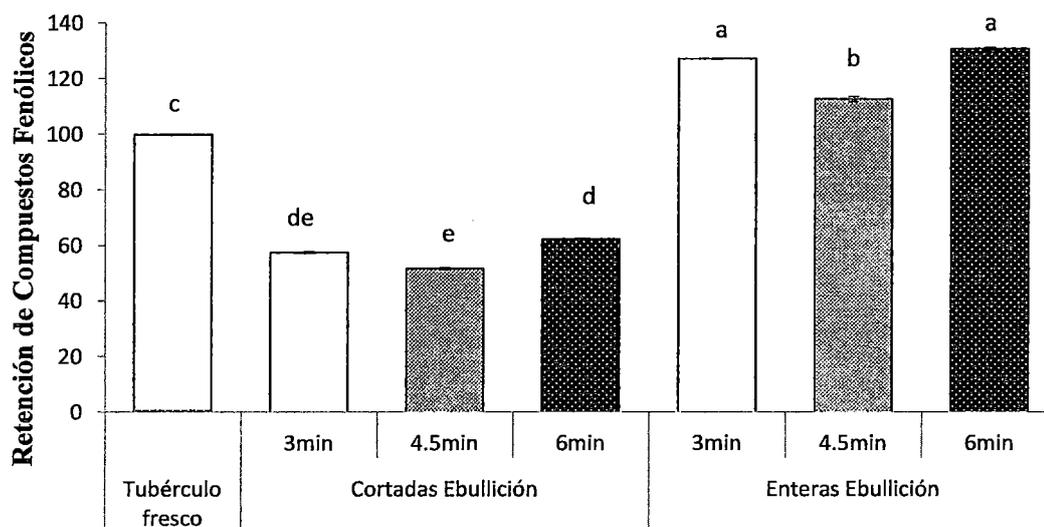


Figura 5: Contenido de compuestos fenólicos totales de mashua blanqueadas por ebullición. Las barras indican los valores medios \pm SD de tres repeticiones, letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas

En cuanto al método de blanqueado, el análisis estadístico (Anexo C.2) mostró que no existen diferencias entre los métodos de blanqueado, al respecto Chipurura *et al.* (2010) mencionan que en la mayoría de estudios sobre el efecto del tratamiento térmico (cocción) en el contenido de compuestos fenólicos, los resultados se contradicen, algunos investigadores reportan un aumento en el contenido fenólico, mientras que en otros se observa una disminución.

Los mismos autores afirman que los resultados de investigaciones actuales muestran que todos los métodos de tratamiento térmico afectan el contenido total de compuestos fenólicos y propiedades antioxidantes de los vegetales; sin embargo, tratamientos como el de microondas exhiben más efectos perjudiciales que los otros métodos.

Por otro lado Jiménez *et al.* (2004) mencionan que entre las ventajas del blanqueado por microondas están la rapidez y la uniformidad en el tratamiento sin provocar pérdidas de los componentes nutricionales. Además, Manzocco *et al.* (2001) explican que la disminución de los compuestos, se debe a que si bien el tratamiento térmico conduce a la formación y liberación de compuestos, también es responsable de la posterior degradación de éstos cuando dicho tratamiento es prolongado.

Las verduras, sobre todo las congeladas, son comúnmente cocidas antes de ser consumidas. Se sabe que la cocción induce a cambios significativos en la composición química, la reducción de la vitamina C y otros compuestos termolábiles, que pueden sufrir una degradación oxidativa o son eliminados en el agua durante la cocción casera y el procesamiento industrial (Pellegrini *et al.*, 2010). Sin embargo, el tratamiento térmico también puede llevar a una alteración de la matriz alimentaria, aumento de la bioaccesibilidad de muchos fitoquímicos, mejorando la calidad nutricional de las hortalizas (Pellegrini *et al.*, 2010).

Sultana *et al.* (2008) investigaron la capacidad antioxidante total y polifenoles totales en la coliflor y otras verduras cocidas mediante hervido, fritura, y microondas, demostrando que todos los métodos de cocción afectan las propiedades antioxidantes.

Cuando se evaluó sólo el método de blanqueado por microondas, el análisis estadístico indicó que el factor momento del rodajado (antes y después) y el tiempo de blanqueado (3, 4.5 y 6 min) ejercieron influencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) (Anexo C.3). Las diferencias entre las medias son mostradas en el Anexo C.4

En la Figura 4 se mostró la influencia del momento del rodajado (antes o después) del blanqueado por microondas en el porcentaje de retención del contenido de compuestos fenólicos totales, se observó un mayor porcentaje de retención del contenido de dichos compuestos cuando el rodajado fue realizado después de la operación de blanqueado. Con respecto a los tiempos de blanqueado, estos tuvieron influencia sólo en el caso de las muestras rodajadas antes del blanqueado, a mayor tiempo aumentó el porcentaje de retención del contenido de compuestos fenólicos. Resultados similares han sido reportados por Martínez-Valverde *et al.* (2000) quienes indican que el contenido de ácido clorogénico en papa se reduce hasta 57% de su contenido original después de la cocción en microondas. Así mismo, Tudela *et al.* (2002) evaluaron el contenido de flavonoides luego de someter papas peladas y cortadas en tiras a microondas por 4 min, encontrando que éste se reducía a 43% del contenido original.

Tudela *et al.* (2002) afirman que aunque la cocción disminuye el contenido de fitoquímicos en los alimentos esto no significa que su consumo no pueda ejercer un efecto positivo. En efecto, la liberación de los compuestos de la matriz del alimento los vuelve más biodisponibles, mejorando su absorción en el tracto gastrointestinal. Por el contrario informes recientes también indican que el tratamiento por microondas produce un aumento significativo en fenoles totales en la cebada, pimiento, brócoli y judías verdes (Yang *et al.*, 2010).

Cuando se evaluó sólo el método de blanqueado por ebullición, el análisis estadístico indicó que el factor momento del rodajado (antes o después) y el tiempo de blanqueado (3, 4.5 y 6 min) ejercieron influencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) (Anexo C.5). Las diferencias entre las medias son mostradas en el Anexo C.6.

En la Figura 5 se mostró la influencia del blanqueado por ebullición en el porcentaje de retención del contenido de compuestos fenólicos totales, se observó un mayor porcentaje de retención cuando el rodajado fue realizado después de la operación de blanqueado. Los tiempos de blanqueado tuvieron comportamiento distinto, observándose mayores valores en las muestras que fueron rodajadas después.

Skrede *et al.* (2000) señalan que el oxígeno oxida los polifenoles, siendo susceptibles de sufrir reacciones degradativas durante las operaciones de procesamiento. Así mismo, Nicoli *et al.* (1999) afirman que el blanqueado representa una herramienta útil para prevenir la oxidación enzimática, la cual es la principal causa de la pérdida de antioxidantes en los alimentos crudos. En efecto, las frutas y los vegetales sometidos a blanqueado retienen la mayor parte de sus propiedades antioxidantes. Por lo tanto podríamos indicar que las muestras cortadas, al presentar mayor área de exposición, estuvieron más expuestas a sufrir reacciones degradativas por presencia del oxígeno; así como, mayor pérdida por lixiviación de sustancias hidrosolubles con capacidad antioxidante. El aumento de los compuestos fenólicos en las muestras blanqueadas enteras respecto a su valor inicial, podría deberse a que el tratamiento térmico modifica la estructura del alimento y hace más accesible los compuestos fenólicos para ser cuantificados.

4.1.2 Influencia del blanqueado – secado

Se evaluó la influencia del secado, del blanqueado en microondas-secado y blanqueado por ebullición-secado en el contenido de compuestos fenólicos de mashua amarilla. Los resultados se han graficado en base a los porcentajes de retención promedio y son mostrados en las Figuras 6 y 7.

En el análisis estadístico del Anexo C.7 mostró que el método de blanqueado (microondas o ebullición) no ejercieron influencia significativa ($p > 0.05$), el momento del rodajado (antes o después), tiempo de blanqueado (3, 4.5 y 6 min) y el secado (60 y 80°C) si ejercieron influencia significativa ($p < 0.05$). En cuanto al método de blanqueado-secado, el análisis estadístico (Anexo C.8) mostró que no existen diferencias.

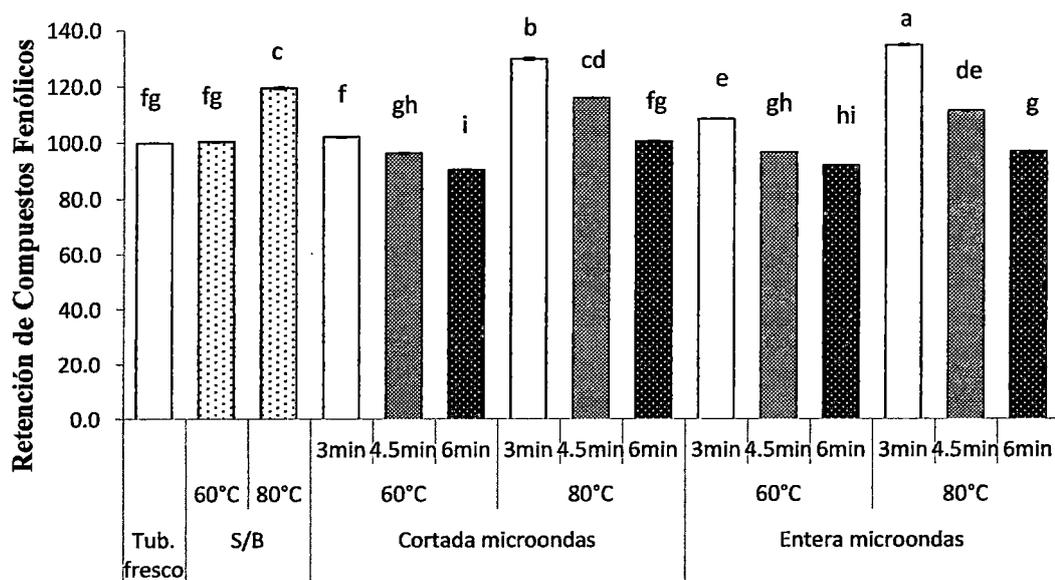


Figura 6: Contenido de compuestos fenólicos totales de mashua blanqueada por microondas-secado. Las barras indican los valores medios \pm SD de tres repeticiones, letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas

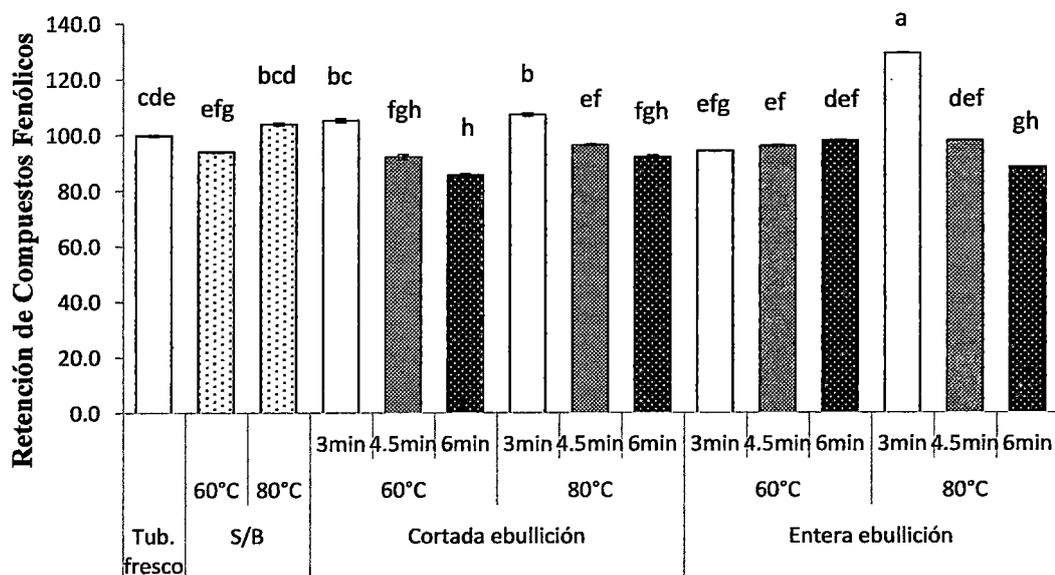


Figura 7: Contenido de compuestos fenólicos totales de mashua blanqueado por ebullición-secado. Las barras indican los valores medios \pm SD de tres repeticiones, letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas

Cuando se evaluó sólo el método de blanqueado por microondas-secado, el análisis estadístico indicó que el factor momento del rodajado (antes o después) no ejerció influencia significativa ($p > 0.05$), el tiempo de blanqueado (3, 4.5 y 6 min) y el secado (60 y 80°C) si ejercieron influencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) (Anexo C.9). Las diferencias entre las medias son mostradas en el Anexo C.10.

En la Figura 6 se mostró la influencia del secado y blanqueado por microondas-secado en el porcentaje de retención del contenido de compuestos fenólicos totales, se observó que la temperatura de secado (60 y 80°C) aplicada aumentó el porcentaje de retención del contenido de compuestos fenólicos en algunos casos, tanto en el momento del rodajado (antes y después). Con respecto al momento del rodajado, el porcentaje de retención de los compuestos fenólicos fue mayor cuando el rodajado se realiza después del blanqueado. Con lo que respecta al tiempo de blanqueado (3, 4.5 y 6 min), se obtiene que a menor tiempo, mayor fue el porcentaje de retención del contenido de compuestos fenólicos. En las muestras que sólo fueron secadas, se observó un mayor porcentaje de retención a 80°C, con respecto a la muestra inicial.

Lin *et al.* (1998) indican que el proceso de secado frecuentemente afecta los compuestos fenólicos, ácido ascórbico y otros fitoquímicos específicos en las frutas y verduras. Al respecto Martínez-Valverde *et al.* (2000) señalan que el pardeamiento de las frutas y vegetales está también relacionado con el contenido en compuestos fenólicos. Así, la formación de pigmentos amarillos y marrones durante la manipulación y procesado de los alimentos vegetales, está controlada por los niveles de polifenoles, la presencia de oxígeno y la actividad de la polifenol oxidasa. Yilmaz y Toledo (2005) mencionan que los alimentos deshidratados, productos de carne al horno o a la plancha, y alimentos procesados térmicamente pueden contener diversos niveles de MRP (productos de la reacción de Maillard). Entre los factores que pueden afectar seriamente la formación y propiedades de los productos de la reacción final tenemos el tipo de reacción, temperatura, pH, actividad de agua, productos intermedios y la disponibilidad de oxígeno. Los productos de la reacción de Maillard, en especial las melanoidinas tienen actividad antioxidante.

Con respecto a las dos temperaturas evaluadas, resultados similares han sido reportados por Yan *et al.* (2010), quienes señalan que los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante fueron mayores en las ciruelas secadas a alta temperatura (85°C) que a temperatura más baja (60°C).

Nicoli *et al.* (1999) señalan que las propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos pueden cambiar como consecuencia de su estado de oxidación. Aunque se ha probado que las oxidaciones químicas o enzimáticas producen un decremento en las propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos, por el contrario aquellos con un estado de oxidación intermedio pueden presentar un incremento en la capacidad antioxidante en comparación a los compuestos no oxidables.

Cuando se evaluó sólo el método de blanqueado por ebullición-secado, el análisis estadístico indicó que el factor momento del rodajado (antes o después) no ejerció influencia significativa ($p > 0.05$), el tiempo de blanqueado (3, 4.5 y 6 min) y el secado (60 y 80°C) si ejercieron influencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) (Anexo C.11). Las diferencias entre las medias son mostradas en el Anexo C.12.

En la Figura 7 se mostró la influencia del secado y blanqueado por ebullición-secado en el porcentaje de retención del contenido de compuestos fenólicos totales, se observó que la temperatura de secado (80°C) aumentó significativamente el porcentaje de retención del contenido de compuestos fenólicos respecto a la temperatura de 60°C. Con respecto al momento del rodajado no hay diferencias en el porcentaje de retención de los compuestos fenólicos. Con lo que respecta al tiempo de blanqueado (3, 4.5 y 6 min), se obtuvo que a menor tiempo, mayor fue el porcentaje de retención del contenido de compuestos fenólicos. En las muestras que sólo fueron secadas, no se observaron diferencias significativas en el porcentaje de retención, con respecto a la muestra inicial.

Generalmente se considera que los métodos de conservación y/o procesado de los productos vegetales son responsables de la reducción de los antioxidantes naturales de las frutas y hortalizas, y por tanto de que éstas tengan menor capacidad de protección a la salud que las consumidas en fresco o recién recolectadas (Nicoli *et al.*, 1999). Sin embargo, de acuerdo a los resultados, existen condiciones de blanqueado y secado que

aumentan el contenido de los compuestos fenólicos, posiblemente esté relacionado con la destrucción de la estructura celular que permite una mayor extracción de dichos compuestos.

Piga *et al.* (2003) encontraron que, si bien al secar ciruelas a 60°C el contenido de compuestos fenólicos se reducía casi a la mitad, al secarlas a 85°C se mantenían dichos compuestos. Ellos explican que esto se debe a que a temperaturas más altas las enzimas de oxidación se inactivan más rápido, eliminándose su acción durante el secado. Además señalan que cuando el tratamiento térmico es más drástico es posible que se formen compuestos fenólicos.

Zapata *et al.* (2007) señalan que es importante conocer para cada fruto en particular el efecto que la temperatura y el tiempo de almacenamiento sobre la pérdida de estos compuestos antioxidantes, ya que puede llegar al consumidor fruta con propiedades organolépticas aceptables pero con niveles muy disminuidos de estos compuestos beneficiosos para la salud.

El contenido de compuestos fenólicos y carotenoides del tomate han sido reportados que son estables durante el procesamiento a altas temperaturas, el proceso térmico puede liberar ácidos fenólicos más consolidados a partir del desglose de los componentes celulares. Así como también la pared celular puede verse afectada y liberar las enzimas oxidativas e hidrolíticas que pueden destruir los antioxidantes en las frutas y verduras, pero el tratamiento térmico a 88°C desactiva estas enzimas y puede evitar la pérdida de los ácidos fenólicos (Dewanto *et al.*, 2002).

En general, los tratamientos que permitieron obtener una mayor retención de compuestos fenólicos fueron: a) blanquear la mashua entera (microondas ó ebullición) durante 3 minutos. b) secar a 80°C previo blanqueado de la mashua entera (microondas ó ebullición) durante 3 minutos.

4.2 Determinación del contenido de carotenoides totales

4.2.1 Influencia del blanqueado

Se evaluó la influencia del blanqueado realizado por dos técnicas microondas y ebullición, en el contenido de carotenoides de mashua amarilla. Los resultados se han graficado en base a los porcentajes de retención promedio y son mostrados en las Figuras 8 y 9.

Cuando se compararon ambos métodos de blanqueado, los resultados del análisis estadístico indicaron que el factor método de blanqueado (microondas o ebullición), y el tiempo de blanqueado (3, 4.5 y 6 min) ejercieron influencia significativa ($p < 0.05$), mientras que el momento del rodajado (antes o después) no ejerció influencia significativa ($p > 0.05$) (Anexo C.13).

En cuanto al método de blanqueado, el análisis estadístico (Anexo C.14) mostró que el método de blanqueado por microondas resultó mejor que por ebullición. Al respecto Ramesh *et al.* (2002) indican que las verduras blanqueadas por microondas retienen mejor los nutrientes en comparación con el vapor convencional o el blanqueado en agua, debido a la reducción de las pérdidas por lixiviación durante el blanqueado. Así, Rodríguez-Amaya (1999) afirma que no todos los métodos afectan en la misma medida a los carotenoides, así la pérdida de estos pigmentos aumenta en el siguiente orden: cocinado con microondas < cocinado al vapor < hervido < salteado.

El blanqueado es una operación unitaria en el procesamiento de vegetales que consiste básicamente en la inmersión del vegetal en agua a temperatura de ebullición, durante un breve tiempo, con el fin de inactivar enzimas indeseables. Este tratamiento incrementa la estabilidad de los vegetales durante largos periodos de almacenamiento, cuando se congelan o se someten a otros procesos. El calor aplicado durante el blanqueado, generalmente ocasiona un ablandamiento de los tejidos, además el efecto del calor durante el blanqueado, permite que exista una filtración de micronutrientes,

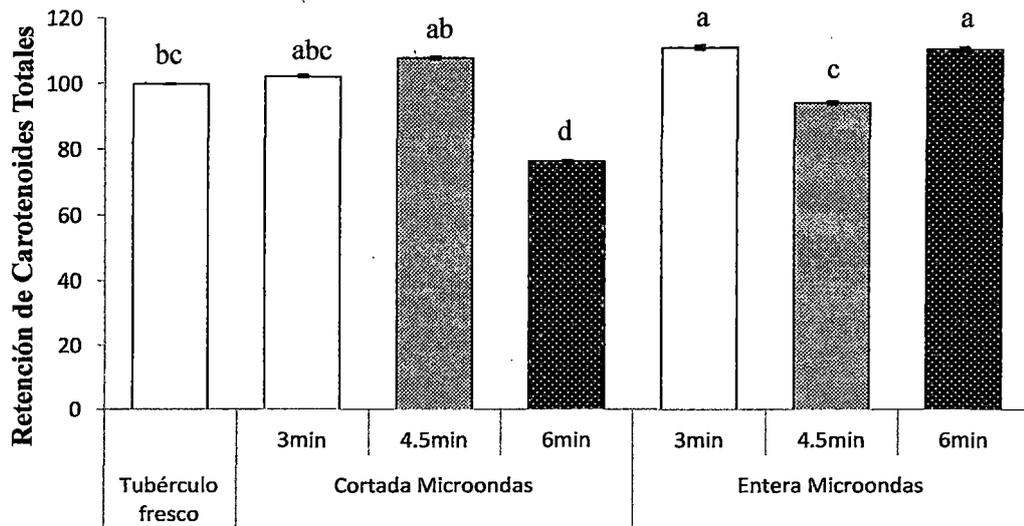


Figura 8: Contenido de carotenoides totales de mashua blanqueadas por microondas. Las barras indican los valores medios \pm SD de tres repeticiones, letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas

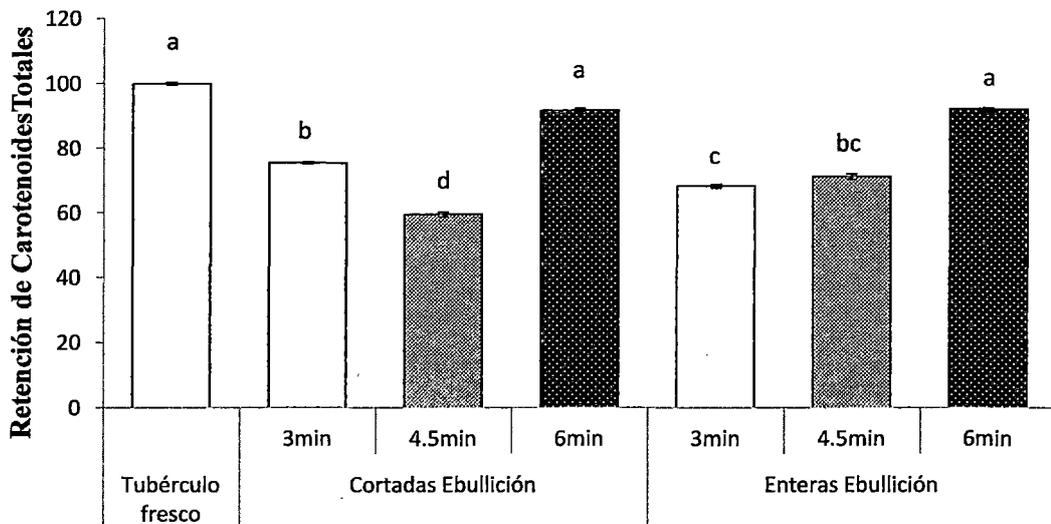


Figura 9: Contenido de carotenoides totales de mashua blanqueadas por ebullición. Las barras indican los valores medios \pm SD de tres repeticiones, letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas

remoción de aire y alteraciones en el color del producto final. El blanqueado por microondas por el contrario, en cuyo proceso se emplea energía electromagnética, reduce el tiempo de procesamiento y retiene una mayor cantidad de vitaminas solubles en el producto (Aguilar *et al.*, 1999). Así, Park *et al.* (1987) citado por Rodríguez-Amaya (1997) mencionan que la cocción por microondas retiene más el contenido de caroteno y β -caroteno que la cocción convencional (hervido) en hortalizas. La cocción a vapor (utilizando una olla a presión) demostró una retención intermedia de caroteno entre la cocción por microondas y la convencional.

Al respecto Rodríguez-Amaya (1997) menciona que los aumentos detectados en la concentración de β -caroteno y otras provitaminas durante el procesamiento térmico pueden no ser aumentos verdaderos debido a que el sistema enzimático responsable de su biosíntesis ya ha sido desactivado. Las transformaciones químicas que ocurren en el tratamiento con calor involucran la isomerización y epoxidación de la provitamina A, no su formación. Los supuestos aumentos de β -caroteno podrían deberse simplemente a la mayor facilidad con la cual se pueden extraer los carotenoides de muestras cocidas o procesadas en comparación con la extracción en alimentos frescos, donde estos están protegidos físicamente y/o están combinados con otros componentes de los alimentos que impiden la penetración de los solventes y su extracción. Por otra parte, podría no estar siendo considerada la absorción de agua o aceite, la cual diluiría las provitaminas y disminuiría sus concentraciones por unidad de peso.

Cuando se evaluó sólo el método de blanqueado por microondas, el análisis estadístico indica que el factor momento del rodajado (antes y después) y el tiempo de blanqueado (3, 4.5 y 6 min) no ejercieron influencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$) (Anexo C.15). Las diferencias entre las medias son mostradas en el Anexo C.16.

La Figura 8 mostró la influencia del blanqueado en microondas en el porcentaje de retención del contenido de carotenoides totales, observándose que no hay diferencias cuando el rodajado es realizado antes o después de dicha operación. Se observa también que los tiempos de blanqueado tuvieron diferente comportamiento en todos los casos. En muestras rodajadas antes del blanqueado, el mayor porcentaje de retención fue observado a los 3 y 4.5 minutos; por el contrario, para las muestras rodajadas después

del blanqueado, el mayor porcentaje de retención se observó a los 3 y 6 minutos. Al respecto, Robles-Sánchez *et al.* (2007) mencionan que el procesamiento mínimo (pelado y cortado) de los frutos tropicales puede afectar el contenido, composición, actividad y biodisponibilidad de los antioxidantes. Se desconoce si las pérdidas ocasionadas por el cortado o rebanado son significativas en relación al producto intacto.

Uquiche y Cisneros-Zevallos (2002) manifiestan que el blanqueado en medio ligeramente ácido a baja temperatura (60°C) y/o los recubrimientos higroscópicos no afectan los niveles de carotenoides en zanahorias peladas y pre-cortadas durante el almacenamiento.

Rodríguez-Amaya (1999) indican que si bien los datos sobre pérdidas porcentuales durante el procesamiento y almacenamiento, son un tanto conflictivas, no hay duda que la degradación aumenta con el grado de destrucción de las estructuras celulares, el incremento del área superficial o porosidad, tiempo y severidad de las condiciones del proceso, duración y temperatura de almacenamiento, exposición a la luz y permeabilidad del envase al oxígeno.

Por otro lado cuando se evaluó sólo el método de blanqueado por ebullición, el análisis estadístico indicó que el momento del rodajado (antes o después) no ejerció influencia significativa ($p < 0.05$), pero el tiempo de blanqueado (3, 4.5 y 6 min) sí ejerció influencia significativa ($p > 0.05$) (Anexo C.17) Las diferencias entre las medias son mostradas en el Anexo C.18.

En la Figura 9 se mostró la influencia del blanqueado por ebullición en el porcentaje de retención del contenido de carotenoides totales, observándose que no hay diferencia cuando el rodajado es realizado antes o después de dicha operación. Se observó también que los tiempos de blanqueado tuvieron comportamiento distinto en todos los casos, coincidiendo el mayor porcentaje de retención del contenido de carotenoides totales a los 6 minutos, tanto en muestras rodajadas antes como en muestras rodajadas después. En ambos casos fueron significativamente iguales a la muestra inicial. Al respecto Meléndez-Martínez *et al.*, 2004 afirman que el escaldado en agua a diferentes temperaturas (50, 70 y 90°C) durante 15 minutos mantiene los niveles

de licopeno independientemente de las temperaturas ensayadas, pero el β -caroteno disminuye ligeramente como consecuencia del escaldado a 90°C.

Por otro lado también se ha reportado que la cocción aumenta el contenido de carotenoides medidos en vegetales, posiblemente este aumento sea debido al incremento de la extractabilidad de la matriz vegetal (Khachik *et al.*, 1992). El aumento de la extractabilidad debido al tratamiento térmico puede estar asociado con una biodisponibilidad mejorada de carotenoides de la matriz vegetal (Van het hof *et al.*, 2000).

Pinheiro *et al.* (1998); citados por Meléndez-Martínez *et al.* (2004) señalan que al evaluar el efecto de diferentes formas de cocinar zanahorias se comprobó que a menor tiempo y temperatura de cocción y contacto con agua, mayor es la retención de carotenoides. Entre las distintas formas de que evaluaron (al vapor, cocidas a presión y trituradas), la cocción de zanahorias en agua a presión atmosférica resultó ser la que retenía mayor contenido de carotenoides. En nuestro caso, el contenido de carotenoides fue menor cuando el blanqueado fue realizado por ebullición que por microondas.

4.2.2 Influencia del blanqueado-secado

Se evaluó la influencia del secado, del blanqueado por microondas-secado y blanqueado por ebullición-secado en el contenido de carotenoides totales de mashua amarilla. Los resultados se han graficado en base a los porcentajes de retención promedio son mostrados en las Figuras 10 y 11.

En el análisis estadístico del Anexo C.19 mostró que el método de blanqueado (microondas y ebullición), el momento del rodajado (antes y después), y el secado (60 y 80°C) ejercieron influencia significativa ($p < 0.05$), mientras que el tiempo de blanqueado (3, 4.5 y 6 min) no ejerció influencia significativa ($p > 0.05$)

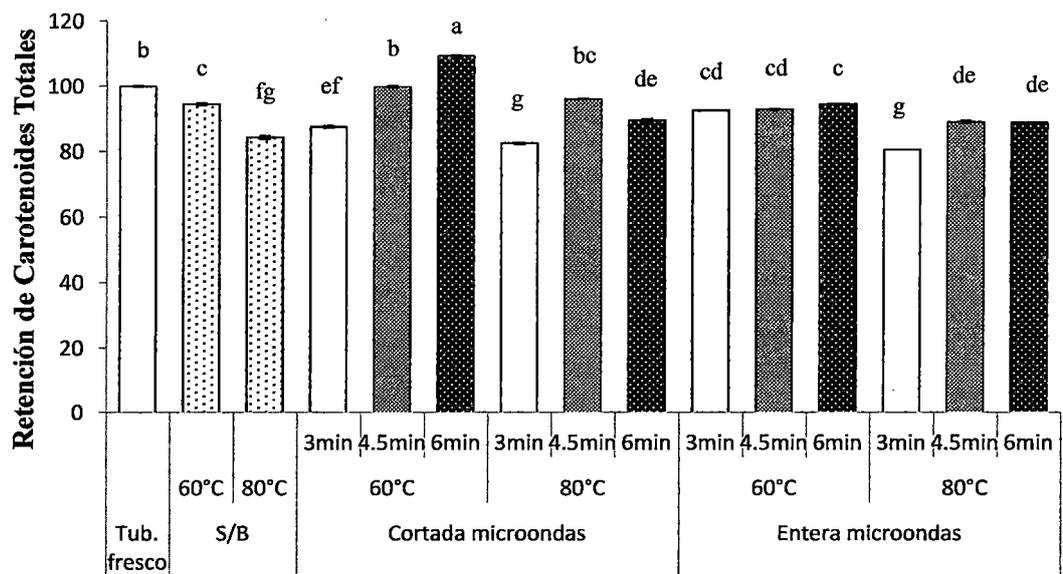


Figura 10: Contenido de carotenoides totales de mashua blanqueada por microondas-secado. Las barras indican los valores medios \pm SD de tres repeticiones, letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas

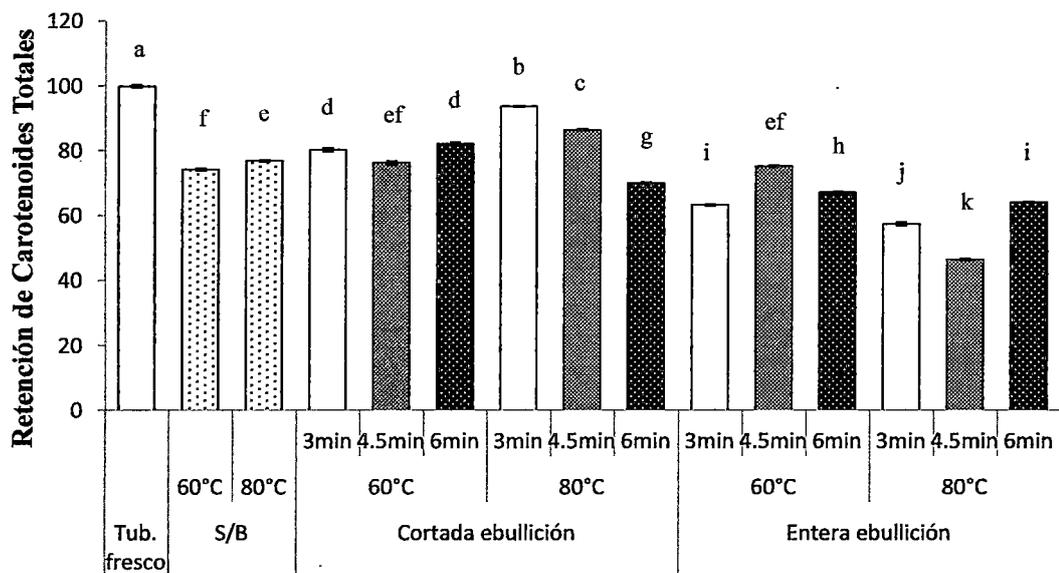


Figura 11: Contenido de carotenoides totales de mashua blanqueado ebullición-secado. Las barras indican los valores medios \pm SD de tres repeticiones, letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas

En cuanto al método de blanqueado, el análisis estadístico (Anexo C.20) mostró que el método de blanqueado por microondas-secado es mejor que el método por ebullición-secada. Cuando se evaluó sólo el método de blanqueado por microondas-secado, el análisis estadístico indicó que el factor momento del rodajado, el tiempo de blanqueado y el secado ejercieron influencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) (Anexo C.21). Las diferencias entre las medias son mostradas en el Anexo C.22.

En la Figura 10 se mostró la influencia del secado y blanqueado microondas-secado en el porcentaje de retención del contenido de carotenoides totales, se observó que cuando el rodajado se realiza antes es ligeramente mayor en algunos casos que el rodajado después. Sólo la muestra que fue rodajada antes de la operación de blanqueado (6 minutos) y luego secada a 60°C, aumentó el porcentaje de retención del contenido de carotenoides totales con respecto a la inicial, en los demás casos se observan valores menores. Las muestras que sólo fueron secadas disminuyen el porcentaje de retención del contenido de dichos compuestos con respecto a la muestra inicial, siendo mayor esta disminución a mayor temperatura de secado.

Al respecto Park *et al.* (1987) mencionado por Rodríguez-Amaya (1997) concluyó que la deshidratación, sin importar el método de secado, reducía significativamente el contenido de caroteno en vegetales (brócoli, zanahoria y espinaca). Por el contrario, en la deshidratación industrial (secado con aire caliente a 65°C) y liofilización de espinaca inmersa previamente en soluciones de sal y bicarbonato, sólo se observó 12 por ciento de pérdida de β -caroteno (Ramos y Rodríguez-Amaya, 1993). Rodríguez-Amaya (1997) recomienda para los carotenoides totales el procesamiento a la temperatura más baja por el tiempo más breve, indicando que el procesamiento a alta temperatura y corto tiempo es una buena alternativa. El blanqueado puede reducir el contenido de carotenoides iniciales pero prevendrá pérdidas posteriores y mayores durante el procesamiento y almacenamiento.

Cuando se evaluó sólo el método de blanqueado por ebullición-secado, el análisis estadístico indicó que el factor momento rodajado (antes y después) y el secado (60 y 80°C) ejercieron influencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$), mientras que el

tiempo de blanqueado (3, 4.5 y 6 min) no ejerció influencia significativa ($p > 0.05$) (Anexo C.23). Las diferencias entre las medias son mostradas en el Anexo C.24.

En la Figura 11 se mostró la influencia del secado y blanqueado ebullición-secado en el porcentaje de retención del contenido de carotenoides totales, observándose que la temperatura de secado (60 u 80°C) aplicadas disminuyeron el contenido de carotenoides totales, tanto en el momento del rodajado (antes o después). Si bien en todos los casos el porcentaje de retención del contenido de carotenoides totales disminuye, se pudo observar mayor disminución cuando el secado se realizó en muestras que fueron blanqueadas enteras.

Yanucci (2000) recomienda que en la aplicación del secado se debe considerar dos factores básicos, la velocidad de extracción de la humedad y la temperatura de secado, parámetros que influyen en la eficiencia de la operación y en la calidad del producto final. Por otro lado, la reducción en el contenido de carotenoides en materias sometidas a secado mediante radiación solar ha sido señalada por Rodríguez-Amaya (1999), quien afirma que el secado de vegetales por exposición directa al sol ocasiona pérdidas importantes de estos compuestos, lográndose minimizarlas al utilizar equipos donde el alimento queda protegido de la incidencia directa de la radiación, así como también recurriendo a procesamientos con altas temperaturas por corto tiempo.

Belén-Camacho *et al.* (2004) indican pérdidas de 34.6% de carotenoides en el mesocarpio de coroba (*Jessenia polycarpa* karst), secado en estufa con corriente de aire a 70°C.

Las pérdidas de carotenoides en productos vegetales sometidos a secado, difieren de un material a otro, así como también del método de secado aplicado (Delgado-Vargas *et al.*, 2000). El contenido lipídico puede ser un factor influyente en dichas pérdidas. Yadav y Sehgal (1997) indicaron que la presencia de grasa en el alimento favorece la estabilidad de los carotenoides porque los disuelve y de esta manera los protege de la acción del calor.

Las pérdidas observadas por el tratamiento térmico han sido reportadas por Belén-Camacho *et al.* (2004) quienes mencionan que los carotenoides presentan inestabilidad química asociada a la estructura insaturada que los hace susceptibles a reacciones de oxidación favorecidas por las condiciones térmicas de procesamiento de los alimentos, lo cual disminuye la concentración de carotenoides en los productos. Por ser altamente insaturados los carotenoides son susceptibles a isomerización y oxidación durante el procesamiento de alimentos (Delgado-Vargas *et al.*, 2000).

Por lo tanto de todo lo discutido referente a carotenoides, los procesamientos que permitieron obtener mayores valores de dichos compuestos fueron: a) blanquear la mashua entera o cortada por microondas durante 3 minutos. b) secar a 60°C previo blanqueado por microondas de mashuas cortadas en rodajadas durante 6 minutos y luego secadas a 60°C.

4.3 Determinación de la capacidad antioxidante

Los métodos más utilizados para la determinación de la capacidad antioxidante son los que cuantifican la capacidad captadora de radicales libres que tienen un compuesto, como por ejemplo los métodos DPPH, y ABTS en los que se utilizan radicales coloreados y se determina la capacidad antioxidante mediante la cuantificación de la decoloración de radicales (Prior *et al.*, 2005). Además es ampliamente utilizado el método FRAP, el cual evalúa la capacidad antioxidante de una muestra de acuerdo a su capacidad para reducir el Fe^{+3} con un complejo TPTZ (2, 4, 6-Tripyridil-s-triazina), hasta la forma ferrosa (Fe^{+2}) a pH bajo (transferencia de un electrón desde la molécula antioxidante a la oxidante) (Benzie y Strain, 1996). Diversos compuestos cromógenos (ABTS, DPPH y FRAP) son utilizados para determinar la capacidad de los compuestos fenólicos para captar los radicales libres, operando así en contra de los efectos perjudiciales de los procesos de oxidación, que implican a especies reactivas de oxígeno (Kuskoski *et al.*, 2005). La prueba ORAC por el contrario provee una medición directa de la capacidad antioxidante hidrofílica y/o lipofílica contra radicales peroxilo (Huang *et al.*, 2005), además difiere de los otros ensayos ya que es el único que combina el tiempo de inhibición con el porcentaje de inhibición de la acción de

radicales libres por los antioxidantes usando un área bajo la curva para la cuantificación.

4.3.1 Influencia del blanqueado

Se evaluó la influencia del blanqueado realizado por dos técnicas microondas y ebullición, en la capacidad antioxidante (ABTS, DPPH, FRAP y ORAC) de mashua amarilla. Los resultados se han graficado en base a los porcentajes de retención promedio y son mostrados en las Figuras 12 y 13.

Cunado se evaluó la capacidad antioxidante de ambas técnicas (microondas y ebullición) medida por los métodos ABTS y FRAP, el análisis estadístico nos indicó que el factor método de blanqueado (microondas y ebullición), el factor momento del rodajado (antes y después) y el factor tiempo (3, 4.5, 6 min) ejercieron influencia significativa ($p < 0.05$) (Anexo C.25 y C.49). Para el método DPPH el factor momento del rodajado (antes y después) y el tiempo (3, 4.5 y 6 min) ejercieron influencia significatva (Anexo C.37). En cuanto al método ORAC ejercieron influencia significativa el factor método de blanqueado (antes y después) y el tiempo de blanqueado (3, 4.5 y 6 min) ($p < 0.05$) (Anexo C.61).

Los métodos de blanqueado influyeron de tal manera que para el método ABTS y FRAP, el método de blanqueado por microondas conservó mejor la capacidad antioxidante respecto al blanqueado en ebullición (Anexo C.26 y C.50), para el DPPH no hubo diferencia entre los métodos de blanqueado (Anexo C.38) y para el método ORAC el mejor método de blanqueado resultó el de ebullición (Anexo C.62). Al respecto Pellegrini *et al.* (2010) mencionan que todos los métodos de cocción evaluados (vapor, ebullición y microondas) en brócoli congelado ocasionan pérdidas en los valores de la capacidad antioxidante total, independientemente del ensayo, con excepción de microondas, donde generalmente no hay pérdida de la capacidad antioxidante total; similares resultados fueron obtenidos en nuestro trabajo a excepción de DPPH y ORAC, donde el blanqueado por ebullición resultó mejor.

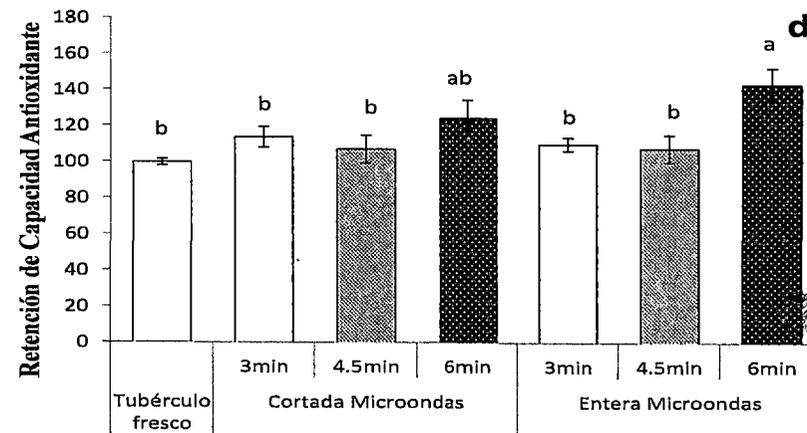
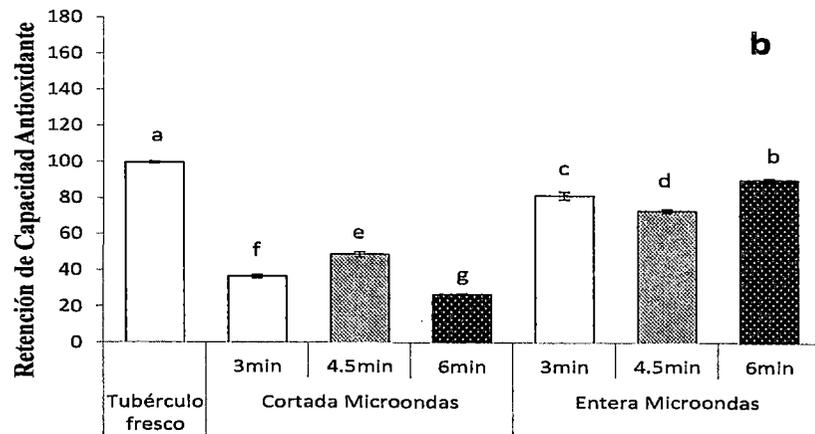
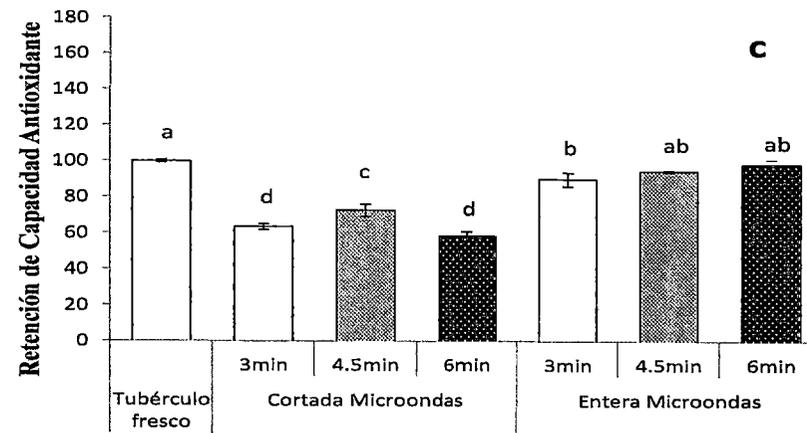
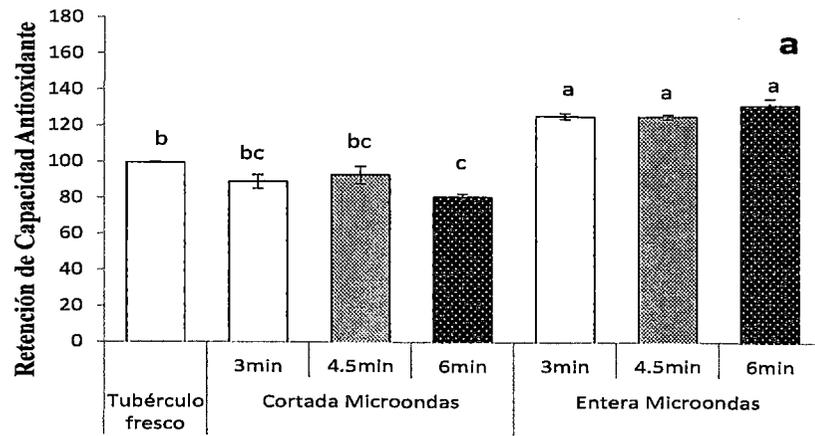


Figura 12: Capacidad antioxidante de mashua blanqueada por microondas cuantificada por el método: a) ABTS, b) DPPH, c) FRAP, d) ORAC. Las barras indican los valores medios \pm SD de tres repeticiones, letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas

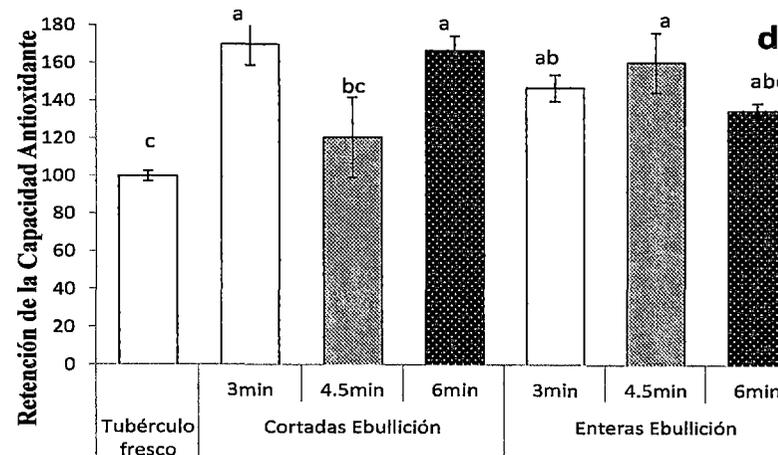
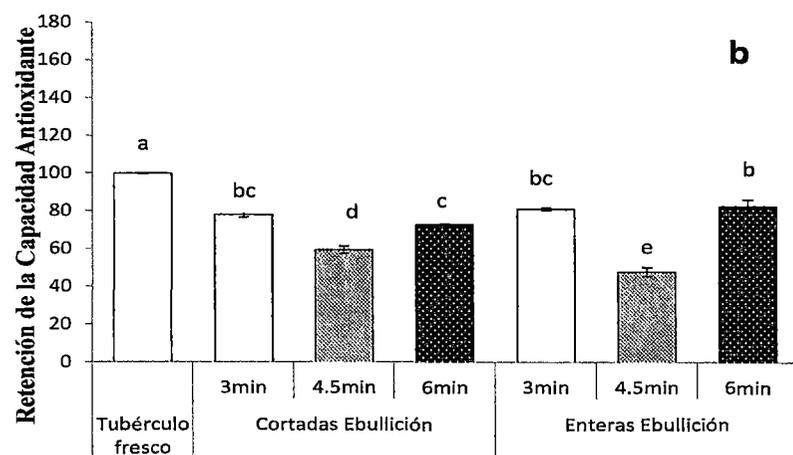
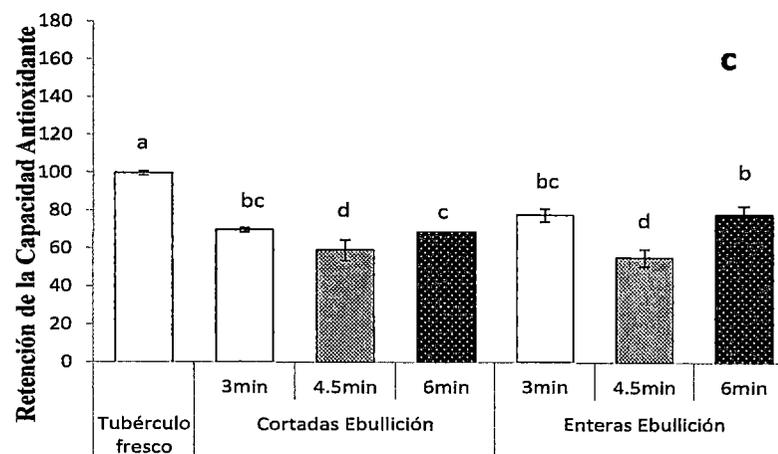
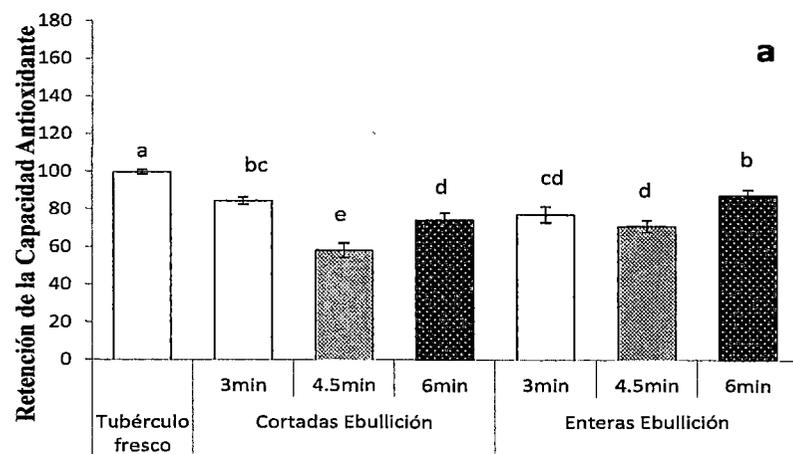


Figura 13: Capacidad antioxidante de mashua blanqueada por ebullición cuantificada por el método: a) ABTS, b) DPPH, c) FRAP, d) ORAC. Las barras indican los valores medios \pm SD de tres repeticiones, letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas

La luz, el calor y el oxígeno tienen un efecto adverso sobre la oxidación de los polifenoles, tocoferoles y la pérdida de la vitamina A como consecuencia de una isomerización del caroteno (Nicoli *et al.*, 1999).

Hay compuestos antioxidantes que no reaccionan con determinadas especies oxidantes y sí con otras (por ejemplo los flavonoides carentes de grupos hidroxilos en el anillo B y los ácidos aromáticos que contengan un solo grupo hidroxilo no reaccionan con el DPPH pero sí con el ABTS), pudiéndose obtener así valores dispares entre los distintos métodos (Fernández-Pachón *et al.*, 2006), además el método ABTS tiene baja selectividad ya que reacciona con cualquier compuesto aromático hidroxilado independientemente de su potencial antioxidante real (Roginsky y Lissi, 2005). Cuando se realiza una comparación entre los métodos de capacidad antioxidante (ABTS, DPPH, FRAP y ORAC) se puede observar diferencias en los resultados, esta diferencia en la cuantificación de la capacidad antioxidante podría ser debido al mecanismo de acción de cada uno de los componentes presentes en la muestra analizada de acuerdo al fundamento de cada método. Los distintos métodos difieren en el agente oxidante, en el sustrato empleado, en la medida del punto final, en la técnica instrumental utilizada y en las posibles interacciones de la muestra con el medio de reacción. Además, los objetivos de los diferentes métodos de medida son diversos (Arnao *et al.*, 2000).

En general la evaluación de la influencia del procesamiento/transformación de alimentos en los antioxidantes naturales es un factor clave en la búsqueda de las condiciones tecnológicas necesarias para preservar o mejorar las características nutricionales, funcionales y de biodisponibilidad. Así, la comprensión de las consecuencias de la transformación de los alimentos en su composición es importante en el camino para la interpretación y evaluación de los resultados en la salud humana (Nicoli *et al.*, 1999).

Arnao *et al.* (2000) atribuyó las diferencias a las longitudes de onda que se usan en cada método. En el DPPH que sólo presenta un pico de máxima absorción (515 nm), se da

mayor interferencia con otros compuestos de la muestra por encontrarse en la región visible. Mientras más coloreada es la muestra, hay un menor decrecimiento en la absorbancia y es menor la capacidad antioxidante determinada, aun utilizando volúmenes mínimos (5 – 10 μ L) de muestra. En el ABTS a 734 nm no se presenta tal interferencia. Brand-Williams *et al.* (1995), encontraron hasta 3 tipos de cinéticas de reacción de compuestos antioxidantes frente al DPPH, y esta es dependiente en la conformación estructural del compuesto antioxidante, debido a que ciertos compuestos reaccionan rápidamente con el DPPH reduciendo los grupos hidroxilos.

Cuando se evaluó sólo el método de blanqueado por microondas por el método DPPH y FRAP los resultados del análisis estadístico nos indicaron que el factor momento del rodajado (antes o después) y el tiempo de blanqueado (3, 4.5 y 6 min) ejercieron influencia significativa ($p < 0.05$) (C.39 y C.51). Para el método ABTS sólo el factor momento del rodajado (antes y después) ejerció influencia significativa ($p < 0.05$) (C.27), y para el método ORAC sólo el factor tiempo de blanqueado (3, 4.5 y 6 min) ejerció influencia significativa ($p < 0.05$) (Anexo C.63). Las diferencias entre las medias son mostradas para el método ABTS (Anexo C.28), DPPH (Anexo C.40), FRAP (Anexo C.52) y ORAC (Anexo C.64).

La influencia del blanqueado por microondas en el porcentaje de retención de la capacidad antioxidante evaluada por cuatro métodos se mostró en la Figura 12. En la Figura 12a (ABTS), 12b (DPPH) y 12c (FRAP) se observó un mayor porcentaje de retención del contenido de dicha capacidad cuando el rodajado fue realizado después de la operación de blanqueado. Para las muestras determinadas con el método DPPH y FRAP, todos los resultados fueron menores que la muestra inicial; mientras que para la capacidad determinada por el método ABTS sólo las muestras que fueron rodajadas después fueron mayores que la muestra inicial. La Figura 12d (ORAC) mostró que no existen diferencias cuando el rodajado fue realizado antes o después de la operación de blanqueado, en ambos casos los resultados fueron mayores que la muestra inicial. Además, en general para los cuatro métodos de cuantificación se observa también que los tiempos de blanqueado tuvieron comportamiento distinto.

Si bien las pérdidas post-cosecha de frutas tropicales son un serio problema debido al rápido deterioro durante el manejo, transporte y almacenamiento (Yahia, 1998), los procesos de pelado y cortado agravan el problema, ya que se incrementa la actividad metabólica y la actividad enzimática en los sustratos, causando oscurecimiento, ablandamiento, deterioro microbiológico y desarrollo de sabores y olores indeseables.

El procesamiento mínimo da como resultado el incremento en la tasa de respiración y producción de etileno del producto en minutos y puede reducir la vida media de 1-2 semanas a sólo 1-3 días, aun cuando las temperaturas sean las óptimas (Robles-Sánchez, 2007). Esto justificaría los resultados obtenidos con respecto al momento rodajado, donde se observa mayores pérdidas de la capacidad antioxidante.

Durante el tratamiento térmico, varios cambios pueden ocurrir afectando la apariencia, la composición, el valor nutritivo, y las propiedades sensoriales en términos de color, textura y sabor del producto. Por ejemplo, se ha demostrado que freír, hervir, o la cocción por microondas elimina 35-78% de quercetina conjugada presente originalmente en la muestra inicial (Crozier *et al.*, 1997). Estas pérdidas pueden ser debido a la degradación, formación de complejos, o la extracción de flavonoles en el agua eliminado. Se cree que los métodos de conservación en general son los responsables de una disminución de antioxidantes de origen natural en los alimentos (Nicoli *et al.*, 1999).

La capacidad antioxidante más alta de los polifenoles parcialmente oxidados podría atribuirse a su mayor potencial para donar un átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo aromático a un radical libre y/o la capacidad de sus estructuras aromáticas para apoyar el electrón desapareado a través de la deslocalización de electrones alrededor del sistema (Nicoli *et al.*, 1999).

Con respecto al incremento de la capacidad antioxidante Re *et al.* (2002), indican que la actividad antioxidante total del extracto hidrofílico de pasta de tomate aumentó después del procesamiento. Para otras verduras y frutas, el aumento de las cantidades de

compuestos fenólicos que tienen actividad antioxidante fue asociada con dos eventos, primero el incremento de moléculas antioxidantes complejas o polimerizadas inducida térmicamente y el segundo, la conservación de los compuestos activos causada por la inactivación de las enzimas implicadas en su catabolismo (Scalzo *et al.*, 2004).

Nicoli *et al.* (1999), señalan que la capacidad antioxidante puede comportarse de diferentes maneras frente al almacenaje: (1) sin cambios: ningún cambio en la concentración de los antioxidantes naturales del alimento, pérdida de los antioxidantes naturales retribuida por una simultánea formación de compuestos con nuevas o mejoradas propiedades antioxidantes; (2) aumento: incremento de las propiedades antioxidantes de los compuestos naturales, formación de nuevos compuestos con actividad antioxidante (productos de la reacción de Maillard), y (3) decrecimiento: pérdida de los antioxidantes naturales, formación de nuevos compuestos con actividad prooxidante (productos de reacción de Maillard).

Cuando se evaluó sólo el método de blanqueado por ebullición por el método ABTS, DPPH, FRAP y ORAC los resultados del análisis estadístico nos indicaron que sólo el factor tiempo de blanqueado (3, 4.5 y 6 min) ejercieron influencia significativa ($p < 0.05$) (Anexo C.29, C.41, C.53 C.65). Las diferencias entre las medias son mostradas para el método ABTS (Anexo C.30), DPPH (Anexo C.42), FRAP (Anexo C.54) y ORAC (Anexo C.66).

La influencia del blanqueado por ebullición en el porcentaje de retención de la capacidad antioxidante evaluada por cuatro métodos se mostró en la Figura 13. En la Figura 13a (ABTS), 13b (DPPH), 13c (FRAP) y 13d (ORAC) se observó que no hay diferencia en el porcentaje de retención del contenido de dicha capacidad cuando el rodajado fue realizado antes o después de la operación de blanqueado. Para las muestras determinadas tanto por el método ABTS, DPPH y FRAP, todos los resultados fueron menores que la muestra inicial, mientras que para las muestras determinadas por el método ORAC, todos los resultados fueron mayores que la muestra inicial. En general de los cuatro métodos evaluados se observa mayor capacidad antioxidante en los tiempos de

blanqueado (3 y 6 min) excepto en el método ORAC cuando el rodajado fue realizado después del blanqueado.

La disminución obtenida en nuestros resultados puede estar justificada por el deterioro celular/mecánico supone cambios en los compuestos fitoquímicos y en las propiedades antioxidantes que poseen los frutos en su estado intacto. Por otra parte, el oscurecimiento del tejido debido a la degradación de fenoles, catalizada por la enzima polifenoloxidasa, además de afectar la apariencia del producto disminuye la actividad antioxidante por la pérdida de estos compuestos (Salveit, 1997; mencionado por Robles-Sánchez, 2007). El cortado promueve la síntesis de etileno, acelerando los procesos de senescencia del producto donde tiene lugar la oxidación de compuestos bioactivos. Durante la senescencia, la acción de la enzima lipoxigenasa resulta en la oxidación de ácidos grasos y al mismo tiempo, los carotenoides pueden degradarse por co-oxidación (Thompson *et al.*, 1987; mencionados por Robles-Sánchez, 2007); esto guardaría relación con la disminución de carotenoides de carotenoides reportados en el acápite 4.2.

Wang *et al.* (1996) realizaron estudios en frutas y hortalizas, demostrando que la mayor parte de la actividad antioxidante proviene principalmente del contenido de flavonoides y otros compuestos fenólicos. Por otra parte, estudios en nectarinas, duraznos y ciruelas (Gil *et al.*, 2002), y cítricos (Gorinstein *et al.*, 2004), han demostrado que existe una correlación significativa entre la actividad antioxidante y los polifenoles totales; los resultados reportados en el acápite 4.1.1, muestran la misma tendencia de cambio con el tiempo de blanqueado (mayor contenido de compuestos fenólicos en 3 y 6 min).

En el caso del aumento observado podría estar relacionado con lo indicado por Nicoli *et al.* (1997) donde concluyen que a pesar que los antioxidantes naturales se pierden durante el calentamiento, las propiedades antioxidantes globales de los alimentos podría mantenerse o mejorarse mediante el desarrollo de nuevos antioxidantes; en nuestro caso estos compuestos pueden ser cuantificados por el método ORAC.

4.3.2 Influencia del blanqueado-secado

Se evaluó la influencia del secado, del blanqueado por microondas-secado y blanqueado en ebullición-secado en la capacidad antioxidante total (ABTS, DPPH, FRAP y ORAC) de mashua amarilla. Los resultados se han graficado en base a los porcentajes de retención promedio y son mostrados en las Figuras 14 y 15.

El análisis estadístico de la capacidad antioxidante medida por el método ABTS (Anexo C.31) nos indicaron que el factor método de blanqueado (microondas y ebullición), el momento rodajado (antes y después), el tiempo de blanqueado (3, 4.5 y 6 min) y el secado (60 y 80°C) ejercieron influencia significativa ($p < 0.05$), para el método DPPH (Anexo C.43), el factor método de blanqueado (microondas o ebullición), el tiempo de blanqueado (3, 4.5 y 6 min) y el secado (60 y 80°C) ejercieron influencia significativa ($p < 0.05$), para el método FRAP (Anexo C.55) el factor tiempo (3, 4.5 y 6 min) y el secado (60 y 80°C) ejercieron influencia significativa ($p < 0.05$). Para el método ORAC (Anexo C.67) el método de blanqueado (microondas o ebullición), el tiempo de blanqueado (3, 4.5, y 6 min) y el secado (60°C y 80°C) ejercieron influencia significativa ($p < 0.05$).

En lo que respecta al método de blanqueado-secado para el ABTS el método de blanqueado por microondas-secado resultó mejor (Anexo C.32), en el caso del DPPH y ORAC el método de blanqueado por ebullición-secado resultó mejor (Anexo C.44 y C.68) y para el FRAP no hubo diferencias significativas entre los métodos utilizados (Anexo C.56).

La actividad antioxidante de alimentos depende de muchos factores tales como la composición de los lípidos, la concentración de antioxidante, la temperatura, la presión del oxígeno, la presencia de otros antioxidantes y muchos componentes de los alimentos comunes, por ejemplo proteínas y agua (Miranda *et al.*, 2010). Por lo tanto los cambios que

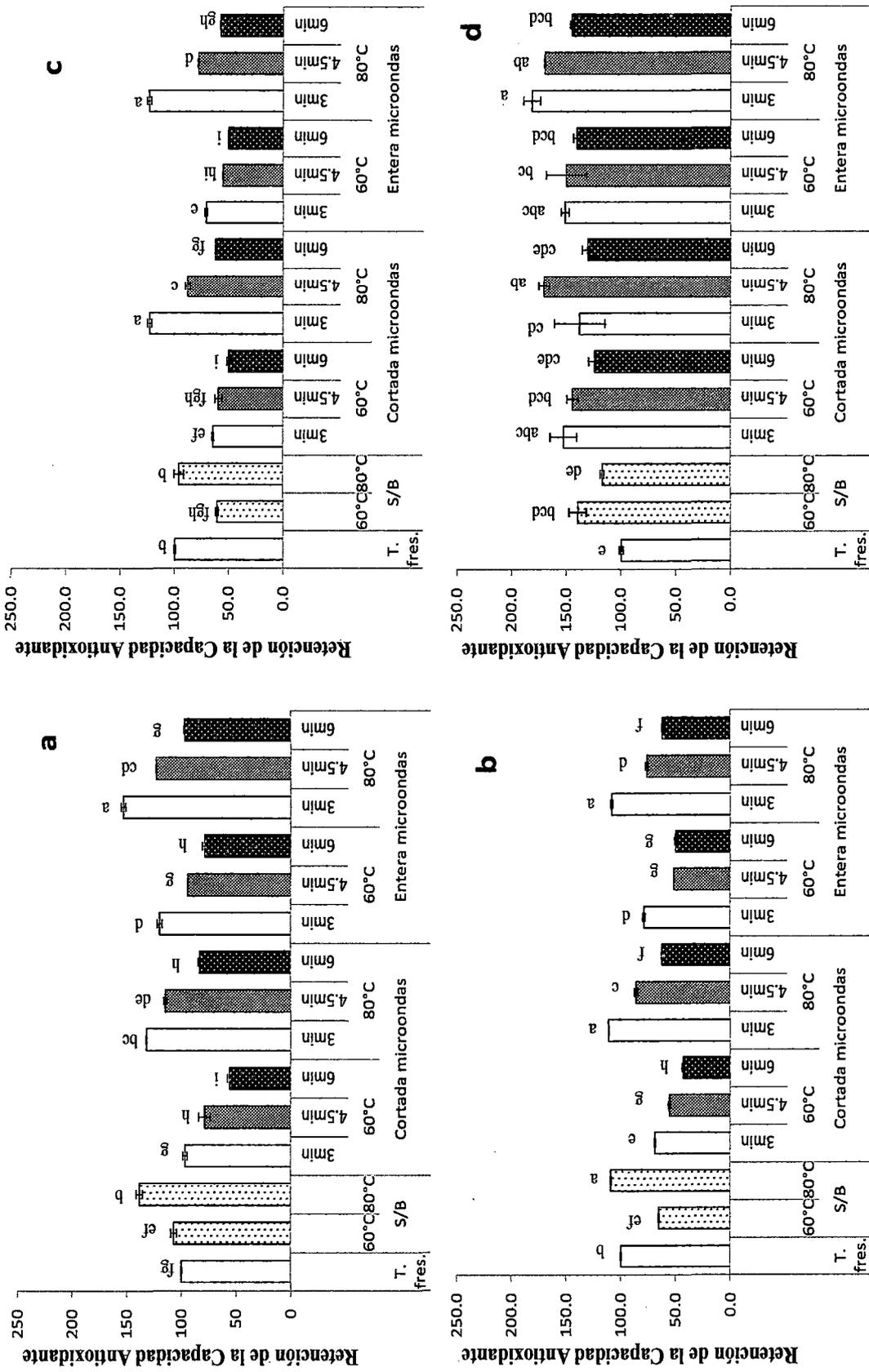


Figura 14: Capacidad antioxidante de mashua blanqueado microondas-secado cuantificado por el método: a) ABTS, b) DPPH, c) FRAP, d) ORAC. Las barras indican los valores medios \pm SD de tres repeticiones, letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas

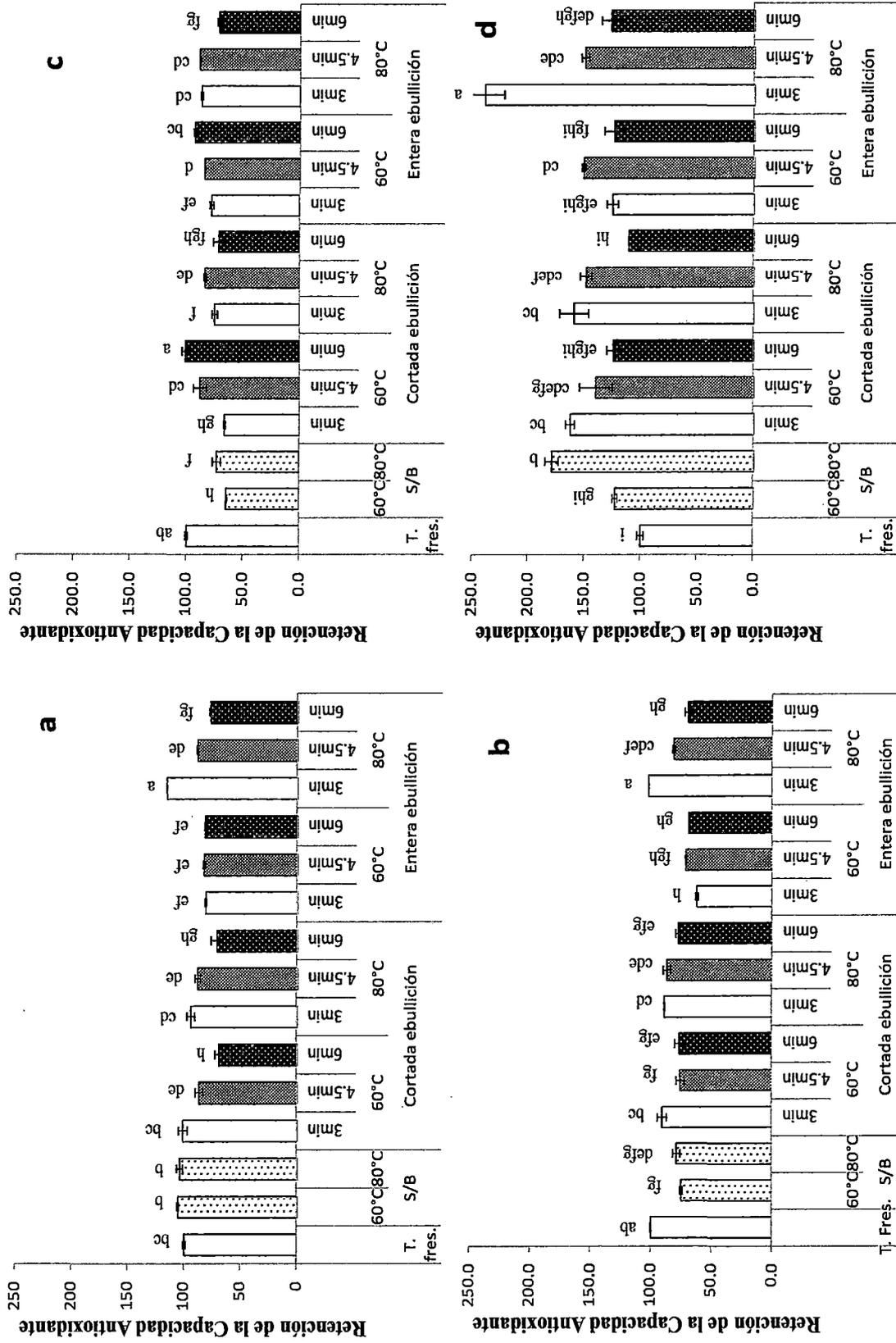


Figura 15: Capacidad antioxidante de mashua blanqueado ebullición-secado cuantificado por el método a: ABTS, b: DPPH, c: FRAP, d: ORAC. Las barras indican los valores medios \pm SD de tres repeticiones, letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas

sufren los valores de capacidad antioxidante, podrían ser debido a modificaciones en los compuestos fenólicos y formación de otros compuestos producto de la oxidación. Los compuestos bioactivos (como los polifenoles, flavonoides, etc.) que son asociados a la capacidad antioxidante de las muestras son usualmente oxidados a altas temperaturas (Yoshioka *et al.*, 1990; citado por Larrauri *et al.*, 1998).

Yilmaz y Toledo (2005) afirman que el calentamiento a alta temperatura por un largo tiempo degrada antioxidantes de los productos de la reacción de Maillard formado en las primeras etapas de la reacción. Así mismo, Cheigh *et al.* (1995) citados por Nicoli *et al.* (1999) observaron que cuando las catequinas sufrían una progresiva oxidación enzimática mostraba un incremento de su capacidad antioxidante antes de la formación de productos marrones macromoleculares.

De otra parte Giovanelli *et al.* (2002) sometieron tomates en rodajas de 15 a 20 mm de espesor a secado en bandeja a 70°C, encontrando que el ácido ascórbico se reducía en 87.88% y la actividad antioxidante hidrofílica aumentan en un promedio de 100%. Por el contrario Piga *et al.* (2003) sometieron ciruelas a secado en bandeja utilizando dos temperaturas, 60° y 85°C, observando una pérdida sustancial en contenido de ácido ascórbico de 60.71% y 80.36%, respectivamente. En cuanto a la actividad antioxidante no encontraron variación para 60°C, pero si para 85°C donde la actividad antioxidante se duplicó. Espin *et al.*, 1999 señalan que la mashua contiene 77.3 mg ác. Ascórbico/100 de materia fresca, esto podría afectar la capacidad antioxidante.

Talcott y Howard (1999a) mencionan que cuando no hay actividad enzimática en los productos procesados térmicamente, la oxidación de los ácidos fenólicos ocurre vía reacciones de autooxidación; en nuestro caso las muestras estaban previo al secado blanqueadas.

Cuando se evaluó sólo el método de blanqueado por microondas-secado, el análisis estadístico de la capacidad antioxidante medida por el método ABTS (Anexo C.33) indicaron que el factor momento rodajado (antes o después), el tiempo de blanqueado (3,

4.5 y 6 min) y el secado (60 y 80°C) ejercieron influencia significativa ($p < 0.05$). Para el método DPPH y FRAP (Anexo C.45 y C.57) el factor tiempo de blanqueado (3, 4.5 y 6 min) y el secado (60 y 80°C) ejercieron influencia significativa ($p < 0.05$). Para el método ORAC (Anexo C.69) sólo el tiempo de blanqueado (3, 4.5 y 6 min) ejerció influencia significativa ($p < 0.05$). Las diferencias entre las medias son mostradas para el método ABTS (Anexo C.34), DPPH (Anexo C.46), FRAP (Anexo C.58) y ORAC (Anexo C.70).

En la Figura 14 se mostró la influencia del secado y blanqueado por microondas-secado en el porcentaje de retención de la capacidad antioxidante. La Figura 14a (ABTS), se observó que la temperatura de secado influye en la capacidad antioxidante siendo mayor a 80°C que a 60°C. Con respecto al rodajado, se mantuvo que cuando esta operación se realiza después, mayor fue el porcentaje de retención de la capacidad antioxidante. Sin embargo, con lo que respecta al tiempo se obtuvo que a menor tiempo, mayor fue el porcentaje de retención de la capacidad antioxidante. En la Figura 14b (DPPH) y 14c (FRAP), se observó que la temperatura de secado (60 y 80°C) aplicadas después del blanqueado disminuyeron en general el porcentaje de retención de la capacidad antioxidante al igual que las muestras que sólo fueron secadas, a excepción de las muestras blanqueadas cortada/entera (3 min) – secada a 80°C, donde presentaron valores superiores a la muestra inicial. Con respecto al rodajado no se observaron diferencias. Con lo que respecta al tiempo se observó el mismo comportamiento que con ABTS. En la Figura 14d (ORAC) se observó que el secado (60 y 80°C) aumentó el porcentaje de retención de la capacidad antioxidante. En cuanto al rodajado se observó igual comportamiento que para el DPPH y FRAP. Con lo que respecta al tiempo se observó el mismo comportamiento que los métodos anteriores (ABTS, DPPH y FRAP) a excepción de las muestras que fueron rodajada-blanqueada-secada a 80°C.

Cuya (2009) menciona, que el uso de diferentes temperaturas de secado en mashua, resultaron variables sobre la pérdida de la capacidad antioxidante hidrofílica. También señalan que el ácido ascórbico y los compuestos fenólicos son los principales componentes de la actividad antioxidante hidrofílica, generalmente los cultivares de color púrpura contienen alto contenido de compuestos fenólicos, mientras que cultivares de color

anaranjado contienen mayor cantidad de ácido ascórbico, en nuestro caso se trabajó con mashua amarilla. Otro componente que pudo haber afectado la capacidad antioxidante en nuestros resultados podría ser el contenido de carotenoides totales. En cuanto a los carotenoides se menciona que son un grupo de compuestos que están siendo estudiados por su capacidad antioxidante. Desde el punto de vista nutricional, el interés por los carotenoides es debido a la actividad provitaminica-A de algunos de ellos (β -caroteno, α -caroteno y β -criptoxantina). Estos carotenoides han sido considerados como compuestos bioactivos, ya que junto con otros carotenoides como licopeno, luteína y zeaxantina presentan actividad antioxidante. Su estructura de dobles enlaces conjugados es la responsable de que puedan actuar como neutralizadores de radicales libres y de otras especies reactivas de oxígeno (Rodríguez-Amaya, 1997). Bajos niveles de caroteno en suero se han asociado a altas incidencias de cáncer y enfermedades cardiovasculares (Rice-Evans *et al.*, 1996).

Pellegrini *et al.* (1999) demostraron que mediante la técnica de TEAC es posible medir actividad antioxidante en productos vegetales ricos en carotenoides. Sin embargo, esta actividad antioxidante total *in vitro* no necesariamente refleja las condiciones fisiológicas celulares, ni considera la biodisponibilidad y metabolismo de sus componentes. Por otro lado Miguel *et al.*, 2010 afirman que los carotenoides interfieren con el DPPH a 515 nm por lo que la interpretación de los resultados es complicado.

Los compuestos fenólicos poseen un amplio espectro de efectos biológicos, incluyendo antioxidantes y captadores de radicales libres (Pellati *et al.*, 2004). En los resultados mostrados en el acápite 4.1.2 se observa que los compuestos fenólicos en algunos casos aumenta con el secado al igual que la capacidad antioxidante, como ya se mencionó la capacidad antioxidante proviene principalmente de los compuestos fenólicos. El secado podría hacer al tejido más frágil, lo que a su vez se traduce en una rápida descomposición de la pared celular durante los pasos de molienda y homogenización en el procedimiento de extracción. Estas células rotas podrían liberar más compuestos fenólicos en los disolventes (Hossain *et al.*, 2010).

Pokorny y Schmidt (2003) indican que en los alimentos sin procesar, las gotitas de lípido, lisosomas o membranas son protegidos del oxígeno por las capas de proteínas hidratadas. Debido al secado, la capa protectora es deteriorada, por tanto, los lípidos y estructuras no lipídicas son expuestas al oxígeno, siendo la oxidación de lípidos y estructuras no lipídicas más rápida, que en alimentos sin procesar.

Cuando se evaluó sólo el método de blanqueado por ebullición-secado, el análisis estadístico de la capacidad antioxidante medida por el método ABTS (Anexo C.35) indicaron que sólo el tiempo de blanqueado (3, 4.5 y 6 min) ejerció influencia significativa ($p < 0.05$). Para el método DPPH (Anexo C.47) el factor momento del rodajado (antes o después), el tiempo de blanqueado (3, 4.5 y 6 min) y el secado (60 y 80°C) ejercieron influencia significativa ($p < 0.05$). Para el método FRAP y ORAC (Anexo C.59 y C.71) el factor tiempo de blanqueado (3, 4.5 y 6 min) y el secado (60 y 80°C) ejercieron influencia significativa ($p < 0.05$). Las diferencias entre las medias son mostradas para el método ABTS (Anexo C.36), DPPH (Anexo C.48), FRAP (Anexo C.60) y ORAC (Anexo C.72).

En la Figura 15 se mostró la influencia del secado y blanqueado por ebullición-secado en el porcentaje de retención de la capacidad antioxidante. La Figura 15a (ABTS) se observó que a menor tiempo mayor fue el porcentaje de retención de la capacidad antioxidante. En la Figura 15b (DPPH) y 15c (FRAP), se observó que el secado (60 y 80°C) aplicado después del blanqueado disminuyeron el porcentaje de retención de la capacidad antioxidante, con algunas excepciones. Con respecto al rodajado para el método DPPH cuando esta operación fue realiza antes del blanqueado, mayor fue el porcentaje de retención de la capacidad antioxidante, y para el método FRAP no hay diferencias, con lo que respecta al tiempo se observó el mismo comportamiento que con ABTS. En la Figura 15d (ORAC) se observó que las temperaturas de secado (60 y 80°C) aumentaron el porcentaje de retención de la capacidad antioxidante. En cuanto al rodajado no hubo diferencias, sin embargo, con lo que respecta al tiempo se observó el mismo comportamiento que los métodos anteriores.

Los resultados obtenidos, estarían relacionados con que los cambios en la actividad antioxidante relacionado con la remoción de agua es relativa, si la evaporación del agua es moderada y el tiempo de remoción es corto; los antioxidantes no son dañados usualmente durante el secado (Pokorny y Schmidt, 2003).

Takeoka *et al.* (2001) explican que el incremento de la actividad antioxidante de un alimento con el tratamiento térmico podría deberse a la producción de nuevos antioxidantes durante el procesamiento. Mencionan además que algunos investigadores han detectado la aparición de formas libres de polifenoles quercetina y kaempferol en tomates procesados térmicamente, y presumen que a esto podría deberse al incremento de su capacidad antioxidante.

Giovanelli *et al* (2002) evaluaron la pérdida de antioxidantes como resultado del daño oxidativo, especialmente durante el secado. A partir de estos estudios, se ha propuesto que el daño oxidativo puede reducirse mediante la optimización de las condiciones de funcionamiento, tanto para el secado y el almacenamiento de los productos de tomate secos. Por ejemplo, la aplicación a baja temperatura durante períodos cortos, la reducción del espesor de pulpa, la eliminación parcial del agua, o técnicas de secado osmóticos y de vacío se puede utilizar para obtener tomates secados con actividades antioxidantes superiores (Zanoni *et al.*, 1999).

Hossain *et al* (2010) mencionan que entre los métodos de secado ensayados (secado a temperatura ambiente en una cámara oscura con ventilación, secado en estufa de vacío, y secado en un liofilizador), encontraron que el secado con aire era el mejor método para todas las muestras analizadas (romero, orégano, mejorana, salvia, albahaca y tomillo).

Siendo el método ORAC, el ensayo recomendado por la literatura, los tratamientos que permitieron obtener mayores valores de la capacidad antioxidante fueron: a) blanquear la mashua enteras o cortadas por ebullición durante 3 minutos. b) secar a 80°C previo blanqueado de la mashua entera por ebullición durante 3 minutos.

4.4 Relación entre los métodos de capacidad antioxidante y compuestos fenólicos

Se hizo un análisis estadístico (regresión y correlación lineal) con el objetivo de determinar si existe una relación entre la capacidad antioxidante medida por los métodos: ABTS, DPPH, FRAP, ORAC y los compuestos fenólicos; para establecer si existe una relación o asociación entre las variables; los coeficientes de correlación obtenidos se muestran el Cuadro 2.

Cuadro 2: Correlación entre los métodos de capacidad antioxidante y compuestos fenólicos

		Microondas				
		Fenólicos	ABTS	DPPH	FRAP	ORAC
Mashua	Ebullición					
	Fenólicos		0.730	0.819	0.654	0.392
	ABTS	0.485		0.798	0.786	0.198
	DPPH	0.376	0.649		0.865	0.035
	FRAP	0.224	0.177	0.510		-0.021
	ORAC	0.244	0.357	0.180	-0.154	

Los compuestos fenólicos mostraron una relación moderadamente fuerte con los métodos de capacidad antioxidante (DPPH, ABTS y FRAP), mientras que para ORAC mostraron una relación relativamente débil en la mashua blanqueada por microondas. En la mashua blanqueada por ebullición la relación entre los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante (DPPH y ABTS), mostraron valores r^2 bajos lo que indica una relación relativamente débil y estadísticamente diferente (p -valor < 0.05), mientras que FRAP y ORAC mostraron una relación relativamente débil y estadísticamente no significativa (p -valor > 0.05). Resultados similares han sido reportados por Parejo *et al.* (2004); mencionados por Lee *et al.*, 2010 donde también detectaron una fuerte correlación entre los contenidos fenólicos con los valores DPPH. En general, la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se debe principalmente a sus propiedades redox que les permiten funcionar como agentes reductores, los donantes de hidrógeno, y atenuadores de oxígeno singulete. Kurilich *et al.* (2002) y Guo *et al.* (2001) observaron una correlación directa entre el contenido en fenoles totales y la actividad antioxidante en extractos hidrófilos de los productos de brócoli, comportamiento también fue observado por otros autores. Así también

Kuskoski *et al.* (2004), como Muñoz *et al.* (2007) mencionan que la capacidad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos obtenida por el método DPPH y ABTS se correlaciona con el contenido de compuestos fenólicos totales, siendo muy elevada para el camu camu.

Temoche (2003) menciona que no todos los compuestos fenólicos de la mashua presentan, correlacionan con la capacidad antioxidante debido a las diferencias estructurales de cada compuesto; sin embargo, un alto valor de correlación lineal asegura que existen compuestos fenólicos con un alto poder antioxidante.

Entre los métodos para la determinación de la capacidad antioxidante, la relación más cercana se observó entre los valores obtenidos por los ensayos DPPH y FRAP donde se obtuvo un valor de $r^2 = 0.865$, Así también Thaipong *et al.* (2006) reportaron una correlación lineal DPPH/FRAP ($r^2 = 0.92$), en nuestro caso el valor fue de $r^2 = 0.865$, indicando una relación moderadamente fuerte. Los ensayos DPPH/ABTS ($r^2 = 0.798$) y ABTS/FRAP ($r^2 = 0.786$), respectivamente en mashua por tratamiento microondas, y de DPPH/ABTS ($r^2 = 0.649$) y DPPH/FRAP ($r^2 = 0.510$) para mashua por tratamiento ebullición que también muestran una relación moderadamente fuerte entre las variables. Por el contrario todos los valores r^2 para el método ORAC muestran una relación relativamente débil con los demás métodos (ABTS, DPPH, FRAP y compuestos fenólicos).

Sin embargo, ninguna técnica de medición de la actividad antioxidante satisface los requisitos como: alta solubilidad en el medio, correcta interacción para interactuar con los radicales libres, proteger los lípidos oxidables, funcionar con alta reactividad tener efectividad a diferentes pH, y para tener una idea del mecanismo de acción de los antioxidantes se deben establecer correlaciones entre el contenido de fenoles y los diversos ensayos antioxidantes, en su mayor parte, se expresan muy bien como agentes reductores que reaccionan fundamentalmente mediante un mecanismo de transferencia de electrones individuales (SET) (DPPH y FRAP), mientras que el ABTS tiene una estructura completamente plana, que reacciona fácilmente como reductores mediante un mecanismo (SET) y/o (HAT) (transferencia de un átomo de hidrógeno) Mesa-Vanegas *et al.* (2010).

Wang *et al.* (1998) citados por Leong y Shui (2002) encontraron diferencias significativas al emplear el ABTS y el DPPH, sostiene que algunos compuestos que tienen actividad antioxidante frente al ABTS pueden no mostrarla frente al DPPH. Por ello, una correlación lineal entre los dos modelos puede no ser lo esperado en algunas muestras biológicas que contengan una gran variedad de antioxidantes. En el caso de la mashua, al realizar el análisis de correlación lineal de la capacidad antioxidante obtenida con ambos métodos se encontró que el coeficiente de correlación fue de $r^2=0.798$ y $r^2=0.649$ para mashua blanqueada por microondas y ebullición respectivamente; esto significa una gran variedad de antioxidantes.

Por otro lado Arnao (2001) menciona que las diferencias entre los métodos ABTS y DPPH se podrían deber al hecho de que el DPPH utiliza una longitud de onda más próxima al visible, lo que podría resultar en una subestimación de la capacidad antioxidante de la muestra debido a la presencia de interferencias que también absorberían a esa longitud de onda.

En cuanto al método ORAC con respecto a los demás métodos, mostró coeficientes de correlación bajos, esto se debería según Miguel *et al.* (2010) a que a veces los resultados obtenidos por diferentes métodos no son comparables, varios factores, tales como: la estructura física del sistema de prueba, la naturaleza del sustrato para la oxidación, la presencia de componentes que interactúan, el modo de iniciar la oxidación y el método de análisis para la medición de la oxidación. Además los resultados del método ORAC se calculan utilizando las diferencias de las áreas bajo las curvas entre un blanco y una muestra.

V. CONCLUSIONES

- El tratamiento de blanqueado que permitió obtener mayor contenido de compuestos fenólicos consiste en blanquear la mashua entera, por microondas o ebullición, durante 3 min. Sin embargo se conserva mejor los carotenoides totales blanqueando mashua entera o cortada por microondas durante 3 min.
- La mayor retención de la capacidad antioxidante se obtiene cuando esta es medida por el método ORAC y el tratamiento consiste en: blanquear la mashua entera o cortada por ebullición durante 3 min.
- La harina de mashua que reporta mayor contenido de compuestos fenólicos se obtiene después de blanquear los tubérculos enteros por ebullición o microondas durante 3 min, seguido de cortado en rodajas y secado a 80°C. Sin embargo se obtiene mayor contenido de carotenoides después de blanquear la mashua cortada en rodajas, tratada por microondas, durante 6 min y secado a 60°C.
- La mayor capacidad antioxidante de la harina en la mashua es obtenida cuando se emplea el método ORAC y cuando esta es procesada bajo las siguientes condiciones: blanqueado de la mashua entera, durante 3 min, cortado en rodajas y secado a 80°C.
- Los resultados de la capacidad antioxidante determinadas mediante cuatro métodos (ORAC, ABTS, DPPH y FRAP) dan valores diferentes, siendo los valores obtenidos con el método ORAC significativamente mayores; dentro de los métodos “*in vitro*” este es el más recomendado actualmente dado que emplea radicales peroxilo y a diferencia de los otros métodos mide tiempo y disminución de la inhibición (área bajo curva).
- Los resultados muestran correlación lineal media entre los compuestos fenólicos con la capacidad antioxidante ABTS y DPPH y pobre entre los compuestos fenólicos correlación y la capacidad antioxidante ORAC y FRAP. Los métodos de capacidad antioxidante que mejor se correlacionaron entre sí fueron ABTS-DPPH. El método ORAC muestra una pobre correlación con los otros métodos estudiados.

VI. RECOMENDACIONES

- Evaluar el contenido de vitamina C, para estimar cuanto aportaría esta sustancia en la capacidad antioxidante.
- Realizar estudios in vivo para evaluar la relativa viabilidad y absorción de los carotenoides y los compuestos fenólicos, para conocer el verdadero potencial funcional de este tubérculo.
- Estudiar la influencia del blanqueado y secado sobre los glucosinolatos de la mashua.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar, N.; Reyes, M.; De la Garza, H.; Contreras-Esquivel. 1999. Aspectos bioquímicos de la relación entre el escaldado TB-TL y la textura de vegetales procesados. *Revista de la sociedad química de México*. 43: 2. 54 – 62.
- A.O.A.C 1995. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 16 Ed. Virginia – United States.
- Arnao, M.; A. Cano, A.; Acosta, M. 1998. Total antioxidant activity in plant material and its interest in food technology. *Recent Research Developments in Agricultural and Food Chemistry*. 2, 893-904.
- Arnao, M. 2000. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. *Trends in Food Science & Technology*. 419–421.
- Arnao, M.; Cano, A.; Acosta, M., 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry*. 73, 239–244.
- Aruoma, O. 2000. Conceptualization of the prooxidant and antioxidant actions of plant food chemicals, phytochemicals and phytopharmaceuticals. AOCS, Press, Champaign, Illinois, 32-46.
- Avello, M.; Suwalsky. 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal*. 494, 161 – 172.
- Belén-Camacho, D.; Moreno-Álvarez, M.; Alemán, R.; Álvarez F. 2004. Efectos de la temperatura de secado sobre la degradación de carotenoides en frutos de coroba (*Jessenia polycarpa* Karst). *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. 4: 206-210.
- Benzie, I; Strain, J. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry* 239, 70 – 76.
- Bohm, V.; Puspitasari-Nienaber, N.; Ferruzi, M.; Schwartz, S. 2002. Trolox equivalent antioxidant capacity of different geometrical isomers of α -carotene, β -carotene, Lycopene and zeaxanthin. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 50: 221 – 226.
- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.; Berset, C., 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* 28, 25–30.

- Burton, G. 1989. Antioxidant action of carotenoides. The Journal of Nutrition. 109 – 111.
- Cádima, X. 2006. Tubérculos. Botánica económica de los andes centrales. 347-369.
- Chasquibol, N.; Lengua, L.; Delmás, I.; Rivera, D.; Bazán, D.; Aguirre, R.; Bravo, M. 2003. Alimentos funcionales o fitoquímicos, clasificación e importancia. Revista Peruana de Química e Ingeniería. 5:2, 9-20.
- Chipurura, B.; Muchuweti, M.; Manditseraa, F. 2010. Effects of thermal treatment on the phenolic content and antioxidant activity of some vegetables. Asian Journal of clinical nutrition 2: 3: 93 – 100.
- Chirinos, R.; Campos, D.; Betalleluz, I.; Giusti, M.; Schwartz, S.; Quingguo, T.; Pedreschi, R.; Larondelle, Y. (2006). High-Performance liquid chromatography with photodiode array detection (HPLC-DAD)/ HPLC–Mass Spectrometry (MS) profiling of anthocyanins from andean mashua tubers (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón) and their contribution to the overall antioxidant activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54, 7089–7097.
- Chirinos, R.; Campos, Warnier, M.; Pedrischi, R.; Rees, J.; Larondelle, I. 2008. Antioxidant properties of mashua (*Tropaeolum tuberosum*) phenolic extracts against oxidative damage using biological *in vitro* assays. Food Chemistry. 98 – 105.
- Crozier, A.; Lean, M.; McDonald, M.; Black, C. 1997. Quantitative analysis of the flabonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce and celery. Journal of Agricultural and Food Chemistry 45: 590–595.
- Cuya, A. 2009. Efecto del secado en bandeja y atomización sobre la capacidad antioxidante de la mashua (*Tropaeolum tuberosum* R & P). Tesis para optar el grado de Magister scientiae. Lima, Perú. UNALM.
- Delgado-Vargas, F.; Jiménez, A.; Paredes-López, Q. 2000. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains- characteristics, biosyntheses, processing, and stability. Critical Review in Food Science and Nutrition. 40: 173-289.
- Dewanto, V.; Wu, X.; Adom, K.; Liu, R. 2002. Thermal Processing Enhances the Nutritional Value of Tomatoes by Increasing Total Antioxidant Activity. Journal Agriculture and Food Chemistry. 50:10. 3010-3014
- Evelson, P.; Travacio, M.; Repetto, M. 2001. Evaluation of total reactive antioxidant potential of tissue homogenates and their cytosols. Archives of Biochemistry and Biophysics. 388: 261-266.

- Espín, S.; Brito, B.; Villacrés, E.; Rubio, A.; Nieto, C.; Grijalva, J. 2001. Composición química, valor nutricional y usos potenciales de siete especies de raíces y tubérculos andinos. En *Acta Científica Ecuatoriana*. 7 (1).
- Espinoza, P.; Vaca, J. Abad, C. 1996. Raíces y tubérculos andinos, cultivos marginados en el Ecuador. Situación actual y limitaciones para la producción. Centro Internacional de la Papa-Estación Quito. Departamento de Ciencias Sociales, Quito. 178 p.
- Fernández-Pachón, M.; Villaño, D.; Troncoso, A.; García-Parrilla, M. 2006. Determination of the phenolic composition of sherry and table white wines by liquid chromatography and their relation with antioxidant activity. *Analytica Chimica Acta*. 563, 101-108.
- Finkel, T.; Holbrook, N. 2000. "Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing", en *Nature*. 408, 239-247.
- Flores, H.; Walker, T.; Guimaraes, R.; Bais, H.; Vivanco, J. 2003. Andean root and tuber crops: underground rainbows. *Hortscience* 38:161–167.
- Gil, M.; Tomas-Barberán, F.; Hess-Pierce, B.; Kader, A. 2002. Antioxidant capacities, phenolics compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. *Journal Agriculture and Food Chemistry*. 50: 4976-4982.
- Gil, M.; Aguayo, E.; Kader, A. 2006. "Quality changes and nutrient retention in fresh-cut versus whole fruits during storage". *Journal. Agriculture and Food Chemistry*. 54, 4284 - 4296.
- Giovanelli, G.; Zanoni, B.; Lavelli, V.; Nani, R. 2002. Water sorption, drying and antioxidant properties of dried tomato products. *Journal of Food Engineering*. 52:2. 135-141.
- Gorinstein, S.; Leontowicz, H.; Leontowicz, M.; Krzeminski, R.; Gralak, M.; Martin-Belloso, O.; Delgado, L.; Haruenkit, R.; Katrich, E.; Park, Y.; Jung, S.; Trakhtenberg, S. 2004. Fresh Israeli Jaffa blond (Shamouti) orange and Israeli Jaffa red star ruby (Sunrise) grapefruits juices affect plasm lipid metabolism and antioxidant capacity in rats fed added cholesterol. *Journal Agriculture and Food Chemistry*. 52: 4853-4859.
- Guo, J.T.; Lee, H.L.; Chiang, S.H.; Lin, F.I. y Chang, C.Y. 2001. Antioxidant properties of the extracts from different parts of broccoli in Taiwan. *Journal of Food and Drug Analysis*. 9:96–101

- Grau, A.; Ortega, R.; Nieto, C.; Hermann, M. 2003. Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav). Roma, Italia. Instituto Internacional de Recursos Genéticos Vegetales.
- Halvorsen, B.; Holte, K.; Mari, C.; Barikmo, I.; Hvattum, E.; Remberg, S.; Wold, A.; Haffner, K.; Baugerod, H.; Andersen, L.; Moskaug, J.; Jacobs, D.; Blomhoff, R. 2002. A systematic. Screening of total antioxidants in dietary plants. *Journal of Nutrition*. 132, 461-471.
- Hannum, S. 2004. Potential impact of strawberries on human health: a review of the science. *Critical Reviews Food Science Nutrition*. 44, 1-17.
- Hossain, M.; Barry-Ryan, C.; Martin-Diana, A.; Brunton, N. 2010. Effect of drying method on the antioxidant capacity of six Lamiaceae herbs. *Food Chemistry*. 123: 85–91.
- Huang, D.; Ou, B.; Prior, R. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 1841-1856.
- Ibarz, A.; Barboza-Cánovas, G. 2005. Operaciones unitarias en la ingeniería de alimentos. Primera edición. España.
- Jiménez, M.; Zambrano, M.; Aguilar, M. 2004. Stability of Pigments in Fruit Subjected to Microwave Energy Treatment. *Información tecnológica*. 15, 3.
- Juárez, M.; Olano, A.; Morais, F. 2005. Alimentos funcionales. Madrid, España. Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología (FECYT).
- Kaviarasan, S.; Sivakumar, A.; Barik, A.; Kunwar, A.; Naik, G.; Priyadarsini, K. 2010. Potent radical scavenging ability of sunphenon: a green tea extract. *Journal of Food Biochemistry*.
- Kimura, M.; Kobori, C.; Rodriguez-Amaya, D.; Nestel, P. 2007. Screening and HPLC methods for carotenoids in sweetpotato, cassava and maize for plant breeding trials. *Food Chemistry*. 100, 1734 – 1746.
- Kris-Etherton, P.; Hecker, K.; Bonanome, A.; Coval, S.; Binkoski, A.; Hilpert, K.; Griel, A.; Etherton, T. 2002. Bioactive compounds in food: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American Journal of Medicine*. 113:71s-88s.
- Kuskoski, M.; Asuero, A.; García-Parilla, M. 2004. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. *Ciencia y tecnología de Alimentos*. 24: 4: 691-693.
- Kuskoski, M.; Asuero, A.; Troncoso, A.; Mancini-Filho, J.; Fett, Roseane. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar la actividad antioxidante en pulpa de fruos. *Ciencia y tecnología de Alimentos*. 25: 4: 726-732.

- Kurilich, A.; Jeffery, H.; Juvik, A.; Wallig, A.; Klein, P. 2002. Antioxidant capacity of different broccoli (*Brassica oleracea*) genotypes using the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay. *Journal of the Agricultural and Food Chemistry*. 28:5053-5057.
- Larrauri, J.; Sánchez-Moreno, C.; Saura-Calixto, F. 1998. Effect of temperature on the free radical scavenging capacity of extracts from red and white grape pomace peels. *Journal food chemistry*. 46, 2694-2697.
- Lee, E.; Yeom, H.; Ha, M.; Bae, D. 2010. Development of Banana Peel Jelly and Its Antioxidant and Textural Properties. *Food Science Biotechnology*. 19:2, 449-455.
- Leong, L.; Shui, G. 2002. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food chemistry* 76, 69 – 75.
- Lin, M.; Durance, D.; Scaman, H. 1998. Characterization of vacuum microwave, air and freeze dried carrots slices. *Food Research International*. 31: 2, 111 – 117.
- Machado, O. 1997. “Valor Nutricional de los Alimentos, elementos de Evaluación y Factores de Calidad”. Primera edición. Colombia.
- Manzocco, L.; Calligaris, S.; Mastrocola, D.; Nicol, M.; Lerici, C. 2001. Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. En: trends in food science and technology. Vol.11.340-360.
- Martínez-Navarrete, N.; Camacho, M.; Martínez, J. 2008. Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud. *Actividad dietética*. 2: 64 – 68.
- Martínez-Valverde, I.; Periagio, M.; Ros, G. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos latinoamericanos de nutrición*. 50, 5 – 18.
- Meléndez-Martínez, A.; Vicario, I.; Heredia, F. 2004. Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 54, 209 – 215.
- Meléndez-Martínez, A.; Vicario, I.; Heredia, F. 2007. Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas. *Archivos latinoamericanos de nutrición*. 57: 2, 109 – 117.
- Mendivil, C.; Sierra, I.; Pérez, C.; Hernández, B. 2002. Antioxidantes y enfermedad vascular. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis*. 14, 26 -40.
- Mertz, C.; Gancel, A.; Gunata, Z.; Alter, P.; Dhuique – Mayer, C.; Vaillant, F.; Perez, A.; Ruales, J.; Brat, P. 2009. *Journal of Food Composition and Analysis*. 22, 381–387.

- Mesa-Vanegas, A.; Gaviria, C.; Cardona, F.; Sáez-Vega, J.; Trujillo, S.; Rojano, B. 2010. Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de algunas especies del género *Calophyllum*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 15: 2,13-26.
- Miguel, M. 2010. Antioxidant activity of medical and aromatic plants. A review. *Flavour and Fragrance Journal*. 25, 291 - 312.
- Miranda, M.; Vega-Galvez, A.; López, J.; Parada, G.; Sanders, M.; Aranda, M.; Uribe, E.; Di Scala, K. 2010. Impact of air-drying temperature on nutritional properties, total phenolic content and antioxidant capacity of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa Willd.*). *Industrial Crops and Products*. 32: 258–263
- Montero, M. 1999. Los radicales libres y las defensas antioxidantes. Una revisión. *Anales de la Facultad de Medicina. Universidad Mayor de San Marcos* 57: 4.
- Montse, C. 2008. Efecto del aceite de oliva y sus compuestos fenólicos en la reducción del estrés oxidativo y los factores de riesgo cardiovascular. *Endocrinología y Nutrición*. 55, 239 – 241.
- Moreno-Álvarez, M.; Giran, N.; Serrano, K.; García, D.; Belén-Camacho, D. 2003. Evaluación microbiológica y fisicoquímica de néctares pasteurizados elaborados con pulpa de tomate de árbol (*Cyphomandra betaceae* Sendt). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 53: 282-286.
- Moyer, R.; Hummer, K.; Finn, C.; Frei, B.; Wrolstad R. 2002. Anthocyanins, phenolics, and Antioxidants capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus*, and *Ribes*. *Food Chemistry*. 50, 519-525.
- Muñoz, A.; Ramos-Escudero, F.; Alvarado-Ortíz, C.; Castañeda, B. 2007. Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. *Revista Sociedad de Química Perú*. 73: 3, 142-149.
- Naczk, M., Shahidi, F. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography*. 1054: 95 – 111 p.
- Nicoli, M.; Anese, M.; Parpinel, M.; Franceschi, S.; Lericci, C. 1997. Loss and/or Formation of Antioxidants during Processing and Storage. *Cancer Letters*. 114, 71 - 74.
- Nicoli, M.; Anese, M.; Parpinel, M. 1999. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Cancer Letters*. 10, 94 – 100.
- Orrego, C. 2003. *Procesamiento de alimentos*. Primera edición. Colombia.

- Ou, B.; Hampsch-Woodill, M.; Prior, R. 2001. Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent Probe. *Journal Agriculture and Food Chemistry*. 49:4619– 4626.
- Parejo, I.; Jauregui, O.; Sanchez-Rabaneda, F.; Viladomat, F.; Bastida, J.; Codina, C. 2004. Separation and Characterization of phenolic compounds in fennel (*Foeniculum vulgare*) using liquid chromatography–negative electrospray ionization tandem spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 3679–3687.
- Pellati, F.; Benvenuti, S.; Magro, L.; Melegari, M.; Soragni, F. 2004. Analysis of phenolic compounds and radical scavenging activity of *Echinacea* spp. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 35: 289-301.
- Pellegrini, N.; Re, R.; Yang, M.; Rice-Evans, C. 1999. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-Azinobis(3-ethylenebenzothiazoline- 6-sulfonic acid radical cation decolorization assay. *Methods in Enzymology*. 299: 379-389.
- Pellegrini, N.; Chiavaro, E.; Gardana, C.; Mazzeo, T.; Contino, D.; Gallo, M.; Riso, P.; Fogliano, V.; Porrini, M. 2010. Effect of Different Cooking Methods on Color, Phytochemical Concentration, and Antioxidant Capacity of Raw and Frozen Brassica Vegetables. *Journal Agriculture and Food Chemistry*. 58. 4310-4321.
- Pérez de la Cruz, A.; Abilés, J.; Castaño, J. 2008. Estrés oxidativo y su implicación en distintas patologías. *Nutrición clínica en Medicina*. 2, 45 – 64.
- Piga, A.; Del Caro, A.; Gorda, G. 2003. From plums to prunes: influence of drying parameters on polyphenols and antioxidant activity. *Journal Agriculture and food chemistry*. 51:12. 3675-3681.
- Pineda, D.; Salucci, M.; Lazaro, R.; Madani, G.; Ferro-Luzzi, A. 1999. Capacidad Antioxidante y Potencial de Sinergismo entre los Principales Constituyentes de Algunos Alimentos. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*. 13:2. 104-111.
- Pinelo, M., Manzocco, L., Nunez, M.J., Nicoli, M. 2004. Interaction among phenols in food fortification: negative synergism on antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 1177–1180.
- Pokorny, J.; Yanishlieva, N.; Gordon, M. 2001. Antioxidantes en los alimentos aplicaciones prácticas. Zaragoza – España.

- Pokorny, J.; Schmidt, S. 2003. The impact of food processing in phytochemicals: the case of antioxidants. En *Phytochemical functional foods*. Ed. Woodhead publishing, Cambridge, UK. 298 – 314. ISBN: 1 – 85573 – 672 – 1.
- Prior, R.; Cao, G. 1999. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radical Biology and Medicine*. 27, 1173-1181.
- Prior, R.; Wu, X.; Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 53, 4290–4303.
- Ramesh, M.; Wolf, W.; Tevini, D.; Vognar, A. 2002. Microwave Blanching of Vegetables. *Journal of Food Science*. 67:1.390-398.
- Ramos, D.; Rodríguez-Amaya, D. 1993. vitamina A durante desidratação e liofilização industrial de espinafre. *Arquivos de Biologia e Tecnologia*. 36, 86-94.
- Re, R.; Bramley, P.; Rice-Evans, C. (2002). Effects of food processing on flavonoids and lycopene status in a Mediterranean tomato variety. *Free Radical Research* 36(7): 803–810.
- Rice-Evans, C.; Miller, N.; Papaganda, G. 1996. Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biological Medicine*. 20, 933-956.
- Robards, K.; Prenzler, P.; Tucker, G.; Swatsitang, P.; Glover, W. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*. 66, 401-436.
- Robles-Sánchez, M.; Gorinstein, Sh.; Martín-Belloso, O.; Astiazarán-García, H.; González-Aguilar, G.; Cruz-Valenzuela, R. 2007. Frutos tropicales mínimamente procesados: potencial antioxidante y su impacto en la salud. *Interciencia*. 32: 4. 227-232.
- Rodríguez-Amaya, D. 1997. Changes in carotenoides during processing and storage of foods. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 49: 38S – 47S.
- Rodríguez-Amaya, D. 1999. Changes in carotenoides during processing and storage of foods. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 49: 38S – 47S.
- Roginsky, V.; Lissi, E. 2005. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*. 92, 235-254.
- Rubio, M. 2010. Dieta y prevención de enfermedad coronaria. *Clínica e investigación en Arteriosclerosis*. 22, 58-69.

- Sacchetti, G.; Maietti, S.; Muzzoli, M.; Scaglianti, M.; Manfredini, S.; Radice, M.; Bruni, R. 2005. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobial foods. *Food chemistry* 91: 621-632.
- Sánchez, A.; Flores-Cotera, L.; Langley, R.; Maldonado, G.; Sánchez, S. 1999. Carotenoides: estructura, función, biosíntesis, regulación y aplicaciones. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 41, 175 – 191.
- Scalzo, R.; Iannocari, T.; Summa, C.; Morelli, R.; Rapisarda, P. 2004. Effect of thermal treatments on antioxidant and antiradical activity of blood orange juice. *Food Chemistry* 85: 41–47.
- Sharma, S.; Malvaney, S.; Rizvi, S. 2003. *Ingeniería de los alimentos*. Primera edición. México.
- Singleton, L.; Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158.
- Skrede, G.; Wrolstad, R.; Durst, R. 2000. Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*vaccinium coymbosum* L.). *Journal food science*. 65. 357-364.
- Sultana, B. Anwar, F.; Iqbla, S. 2008. Effect of different cooking methods on the antioxidant activity of some vegetables from Pakistan. *International Journal of Food Science and Technology*. 43, 560-567.
- Takeoka, G.; Dao, L.; Flesa, S.; Gillespie, D.; Jewel, W.; Huebner, B.; Bertow, D.; Ebeler, S. 2001. Processing effects on lycopene content and antioxidant activity of tomatoes. *En Journal of agriculture and food chemistry*. 49, 3713-3717.
- Talcott, S.; Howard, L. 1999a. Phenolic autoxidation is responsible for color degradation in processed carrot puree. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47. 2109 – 2115.
- Talcott, S.; Howard, L. 1999b. Chemical and Sensory Quality of Processed Carrot Puree As Influenced by Stress-Induced Phenolic Compounds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 47: 1362-1366.
- Tapia, M. 1990. Los Tubérculos Andinos (Una revisión de la investigación actualizada) en *Avances en las Investigaciones sobre Tubérculos Alimenticios de los Andes* pg 45- 61. Proyecto INIAA CIID ACIDI Bolivia.

- Temoche, C. 2003. Evaluación de algunas características funcionales de 30 clones de mashua (*Tropaeolum tuberosum* ruiz & Pavon). Tesis Ing. Ind. Alim. Lima, Perú UNALM.
- Thaipong, K.; Boomprakob, U.; Crosby, K.; Cisneros-Cevallos, L.; Hawkins, B. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extract. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19, 669-675.
- Tomás – Barberán, F.; Espin, J. 2001. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal Science Food Agriculture*. 81, 853 – 876.
- Tudela, J.; Cantos, E.; Espín, J.; Tomás-Barberán, F.; Gil, M. 2002. Induction of antioxidant flavonol biosíntesis in fresh – cut potatoes. Effect of domestic cooking. En: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, 5925 – 5931.
- Uquiche, E.; Cisneros-Zevallos, L. 2002. Efecto del escaldado y recubrimiento higroscópico sobre la calidad de las zanahorias (*Daucus carota* var. Chantenay) precortadas durante el almacenamiento. *Archivos latinoamericanos de nutrición*. 52:2. 187 – 192.
- Vanaclocha, A.; Requena, J. 2003. *Procesos de Conservación de Alimentos*. Segunda edición. Madrid.
- Van Buren, J. 1986. Softening of cooked snap beans and other vegetables in relation to pectins and salts. *Chemistry and function of pectins*. 310: 190-199.
- Vega-Gálvez, A.; Di, K.; Rodríguez, K.; Lemus-Mondaca, R.; Miranda, M.; López, J.; Perez - Won, M. 2009. Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties, antioxidant capacity, colour and total phenolic content of red pepper (*Capsicum annum*, L. var. Hungarian). *Food Chemistry*. 117, 647 – 653.
- Villagómez, V.; Rodríguez, G. 2000. Kawa llacta micuy. Oca, ñu, olloco, llakuma. Facultad de Agronomía. Lima, Perú. UNALM.
- Wang, H.; Cao, G.; Prior, R. 1996. Total antioxidant capacity of fruits. *Journal Agriculture and Food Chemistry*. 44: 701-705.
- Wu, A.; Chang, W. 1990. Influence of precooking on the firmness and pectic substances of three stem vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*. 25, 5: 558-568.

- Yahia, E. 1998. Modified and controlled atmospheres for tropical fruits. *Horticultural Review*. 22:123-183.
- Yang, J.; Chen, J.; Zhao, Y.; Mao, L. 2010. Effects off drying processes on the antioxidant properties in sweet potatoes. *Agricultural Sciences in China*. 9: 10, 1522-1529.
- Yadav, S.; Sehgal, S. 1997. Effect of home processing and storage on ascorbic acid and β -carotene content of bathua (*Chenopodium album*) and fenogeek (*Trigonella foenum Graecum*) leaves. *Plant Foods for Human Nutrition*. 50: 239-247.
- Yanucci, D. 2000. *Secado. Granos & Postcosecha. Latinoamericana*. Buenos Aires, Argentina. 200 pp.
- Yilmaz, Y.; Toledo, R. 2005. Antioxidant activity of water-soluble Maillard reaction products. *Food Chemistry*. 94: 273 – 278.
- Zapata, L.; Gerard, L.; Davies, C.; Schwab, M. 2007. Estudio de componentes antioxidantes y actividad antioxidante en tomates. *Ciencia, Docencia y Tecnología*. 35 173 – 193.
- Zandoni, B.; Peri, C.; Nani, R.; Lavelli, V. 1999. Oxidative heat damage of tomato halves as affected by drying. *Food Research International*. 31: 5, 395 – 401.

VIII. ANEXOS

Anexo A: Curvas estándar

Figura A.1: curva estándar para compuestos fenólicos

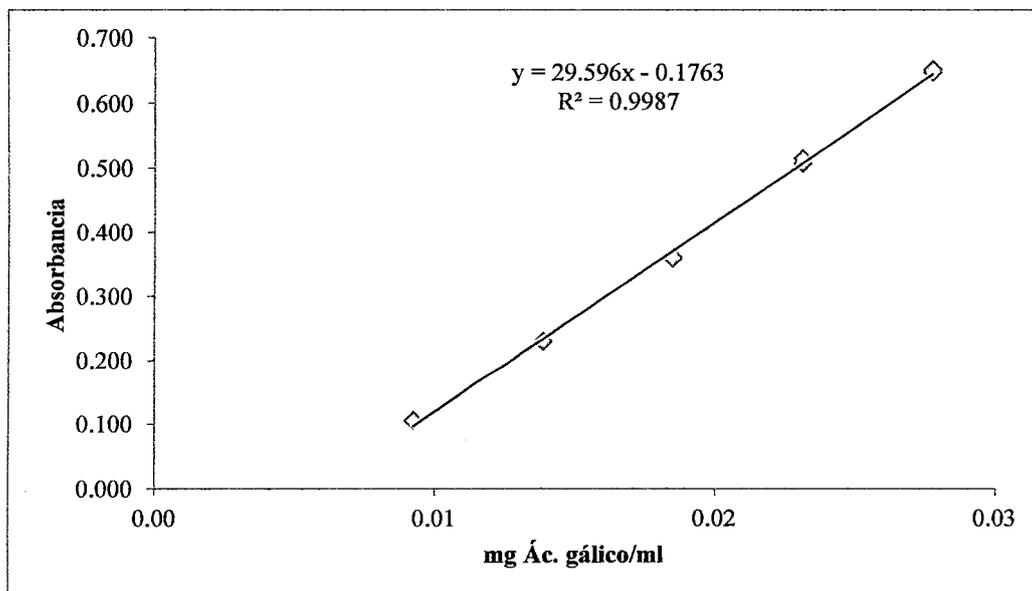


Figura A.2: Curva estándar para Capacidad antioxidante por el método ABTS

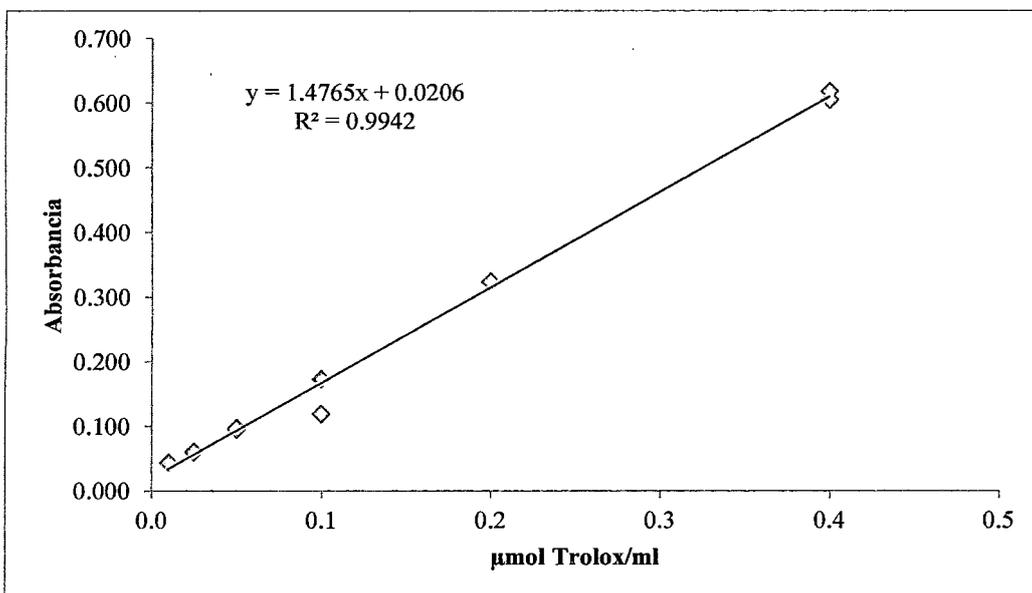


Figura A.3: Curva estándar para Capacidad antioxidante por el método DPPH

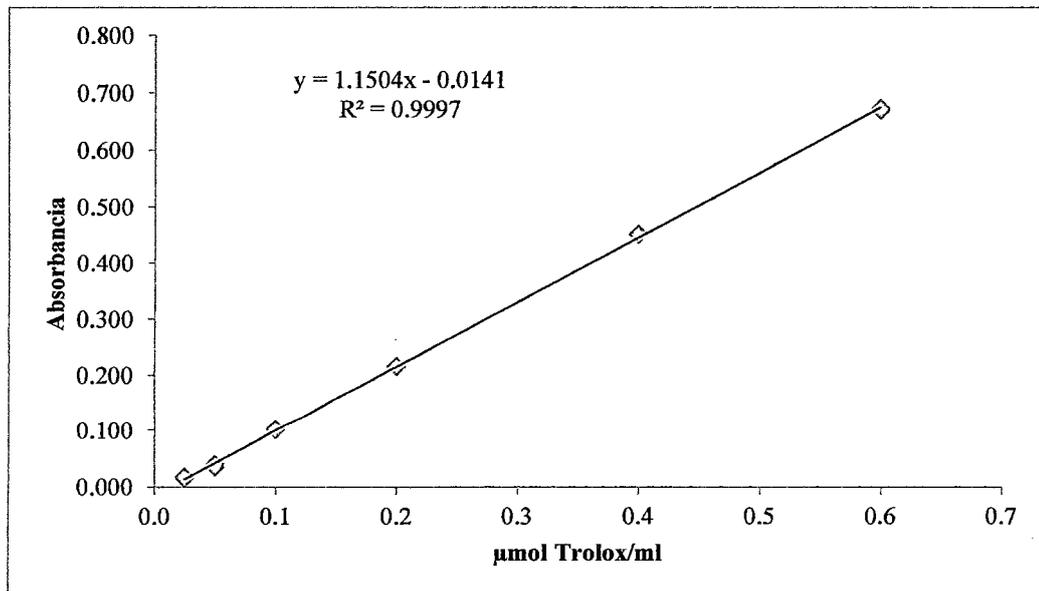


Figura A.4: Curva estándar para Capacidad antioxidante por el método FRAP

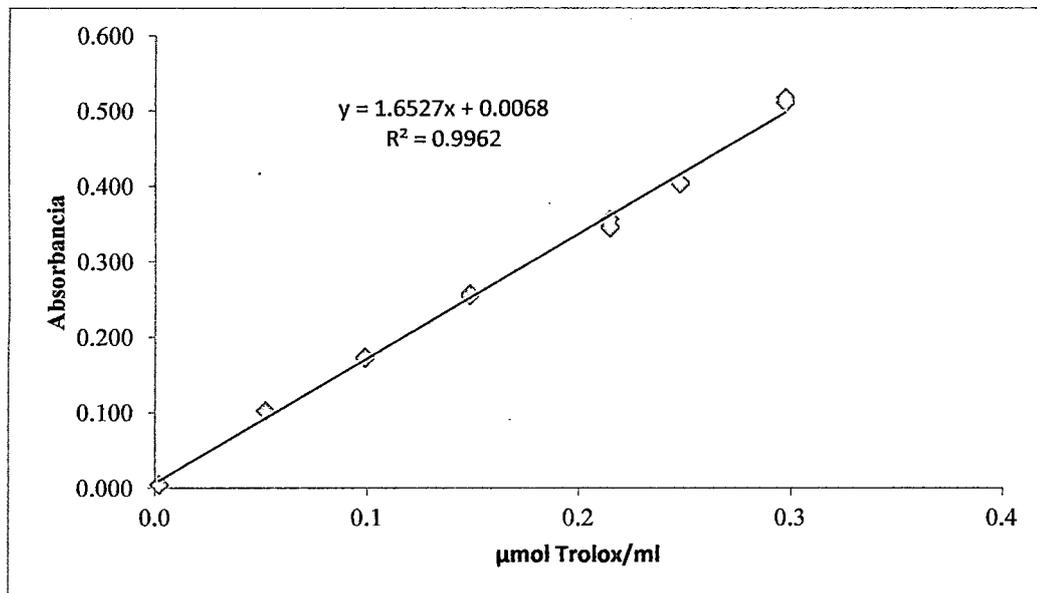
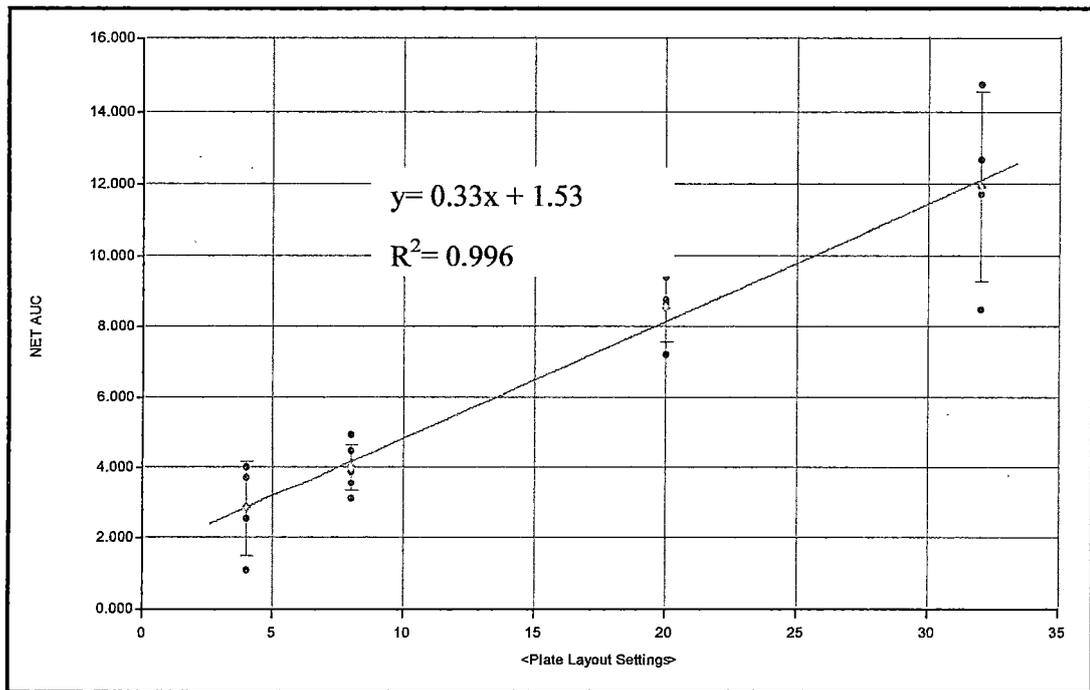


Figura A.5: Curva estándar para Capacidad antioxidante por el método ORAC



ANEXO B

Cuadro B.1: Contenido de humedad de la mashua sometida a diferentes tratamientos

Tratamiento			Humedad			
Acondicionado	Blanqueado	Secado	Repeticiones	Microondas	Ebullición	
Muestra inicial			R1	86.84 ± 0.37	90.48 ± 0.22	
			R2	86.41 ± 0.13	90.25 ± 0.35	
			R3	86.00 ± 0.54	91.50 ± 0.15	
60°C			R1	4.75 ± 0.12	3.36 ± 0.09	
			R2	3.37 ± 0.25	2.47 ± 0.17	
			R3	4.12 ± 0.23	2.47 ± 0.17	
80°C			R1	4.71 ± 0.08	2.72 ± 0.11	
			R2	4.71 ± 0.08	2.13 ± 0.06	
			R3	4.64 ± 0.15	2.13 ± 0.06	
Cortadas	3min		R1	86.75 ± 0.27	87.57 ± 0.16	
			R2	87.46 ± 0.15	87.04 ± 0.05	
			R3	85.90 ± 0.58	87.19 ± 0.09	
	4.5min		R1	87.78 ± 0.10	86.46 ± 0.35	
			R2	86.73 ± 0.49	86.28 ± 0.12	
			R3	88.74 ± 0.81	87.47 ± 0.41	
	6min		R1	87.16 ± 0.15	89.15 ± 0.14	
			R2	87.42 ± 0.33	89.13 ± 0.08	
			R3	86.11 ± 0.34	89.10 ± 0.16	
	3min	60°C		R1	3.16 ± 0.18	3.43 ± 0.22
				R2	3.31 ± 0.10	2.49 ± 0.06
				R3	3.31 ± 0.10	2.49 ± 0.06
	4.5min			R1	4.68 ± 0.51	3.97 ± 0.56
				R2	3.20 ± 0.06	2.42 ± 0.06
				R3	3.20 ± 0.06	2.42 ± 0.06
	6min			R1	6.69 ± 0.57	6.84 ± 0.11
				R2	6.89 ± 0.09	5.97 ± 0.60
				R3	6.89 ± 0.09	5.97 ± 0.60
	3min	80°C		R1	2.34 ± 0.13	3.38 ± 0.07
				R2	2.27 ± 0.24	4.63 ± 0.05
				R3	2.27 ± 0.24	4.63 ± 0.05
	4.5min			R1	3.09 ± 0.00	3.05 ± 0.18
				R2	3.52 ± 0.29	4.33 ± 0.86
				R3	3.52 ± 0.29	4.33 ± 0.86
6min	R1			7.68 ± 0.08	5.31 ± 0.39	
	R2			7.48 ± 0.10	6.53 ± 0.43	
	R3			7.48 ± 0.10	6.53 ± 0.43	

Enteras	3min		R1	85.65 ± 0.24	88.47 ± 0.09
			R2	86.02 ± 0.63	88.64 ± 0.19
			R3	87.42 ± 0.44	89.02 ± 0.14
	4.5min		R1	86.44 ± 0.41	86.73 ± 0.23
			R2	86.64 ± 0.32	86.91 ± 0.26
			R3	87.27 ± 0.25	89.13 ± 0.19
	6min		R1	86.83 ± 0.21	89.20 ± 0.08
			R2	86.87 ± 0.51	89.37 ± 0.27
			R3	86.44 ± 0.37	87.83 ± 0.72
	3min	60°C	R1	5.27 ± 0.20	4.15 ± 0.17
			R2	3.24 ± 0.02	4.03 ± 0.18
			R3	3.24 ± 0.02	4.03 ± 0.18
	4.5min		R1	5.47 ± 0.06	6.05 ± 0.13
			R2	4.16 ± 0.03	5.49 ± 0.18
			R3	4.16 ± 0.03	5.49 ± 0.18
	6min		R1	8.29 ± 0.24	6.72 ± 0.30
			R2	8.54 ± 0.07	6.41 ± 0.35
			R3	8.54 ± 0.07	6.41 ± 0.35
	3min	80°C	R1	1.57 ± 0.06	3.26 ± 0.51
			R2	1.49 ± 0.13	3.19 ± 0.14
			R3	1.49 ± 0.13	3.19 ± 0.14
	4.5min		R1	4.14 ± 0.38	3.94 ± 0.32
			R2	3.69 ± 0.09	4.33 ± 0.27
			R3	3.69 ± 0.09	4.33 ± 0.27
6min	R1		6.84 ± 0.43	8.07 ± 0.17	
	R2		6.85 ± 0.09	6.81 ± 0.06	
	R3		6.85 ± 0.09	6.81 ± 0.06	

Cuadro B.2: Contenido de compuestos fenólicos y carotenoides en mashua sometida a diferentes tratamientos

Tratamiento				Microondas		Ebullición		
Acondic.	Blanqueado	Secado	Rep.	Fenólicos mg ac. gálico/g bs	Carotenoides ug B- Caroteno/100g	Fenólicos mg ac. gálico/g bs	Carotenoides ug B- Caroteno/100g	
Muestra inicial			R1	6.61	9.12	8.55	15.11	
			R2	6.55	8.93	8.81	14.58	
			R3	6.58	9.03	8.68	14.84	
60°C			R1	6.54	8.78	8.13	11.42	
			R2	6.53	8.29	8.15	11.03	
			R3	6.77	8.53	8.23	11.22	
80°C			R1	7.57	7.37	8.64	11.48	
			R2	8.06	7.26	9.17	11.78	
			R3	8.00	8.23	9.30	11.63	
Cortadas	3min		R1	4.30	9.03	5.28	11.50	
			R2	4.66	9.70	4.91	11.58	
			R3	4.14	8.97	4.80	11.16	
	4.5min		R1	4.62	9.16	4.30	8.95	
			R2	4.39	9.93	4.33	8.41	
			R3	5.11	10.11	4.84	9.64	
	6min		R1	5.62	6.79	5.31	14.36	
			R2	5.36	7.28	5.36	14.09	
			R3	4.93	6.64	5.58	13.09	
	3min		60°C	R1	6.57	8.13	8.42	12.52
				R2	6.61	7.69	9.55	11.78
				R3	7.01	7.91	9.48	12.15
	4.5min			R1	6.14	8.84	7.00	11.96
				R2	6.14	9.19	8.62	11.10
				R3	6.76	9.01	8.41	11.53
	6min			R1	5.86	9.65	7.15	12.84
				R2	6.05	10.07	7.19	11.98
				R3	5.98	9.86	7.96	12.41
	3min		80°C	R1	8.97	7.26	9.52	14.29
				R2	8.26	7.64	9.72	14.04
				R3	8.44	7.45	8.73	14.16
	4.5min			R1	7.61	8.59	8.20	13.23
				R2	7.59	8.75	8.29	12.87
				R3	7.73	8.67	8.62	13.05
6min		R1		6.73	8.40	7.43	10.80	
		R2		6.68	7.77	8.27	10.36	
		R3		6.48	8.09	8.32	10.58	

Enteras	3min		R1	6.11	9.77	11.14	10.27
			R2	6.34	9.51	10.87	10.88
			R3	7.26	10.82	11.09	9.84
	4.5min		R1	6.61	7.95	9.08	10.15
			R2	6.39	8.69	9.50	10.59
			R3	6.68	8.89	10.76	11.58
	6min		R1	6.70	10.57	11.40	14.09
			R2	6.47	9.99	11.90	14.26
			R3	6.27	9.38	10.74	13.40
	3min	60°C	R1	7.22	8.34	8.15	9.74
			R2	7.18	8.37	8.20	9.38
			R3	7.05	8.35	8.20	9.56
	4.5min		R1	6.36	8.53	8.74	11.56
			R2	6.29	8.22	8.20	11.16
			R3	6.43	8.38	8.06	11.36
	6min		R1	6.21	8.61	8.91	10.29
			R2	6.00	8.45	8.26	9.99
			R3	5.98	8.53	8.33	10.14
	3min	80°C	R1	9.10	7.24	11.22	8.32
			R2	8.90	7.31	11.18	9.04
			R3	8.66	7.27	11.29	8.68
	4.5min		R1	7.34	7.73	8.49	7.25
			R2	7.40	8.34	8.50	6.81
			R3	7.29	8.04	8.52	7.03
6min	R1		6.37	8.00	7.65	9.87	
	R2		6.41	8.03	7.68	9.50	
	R3		6.39	8.02	7.70	9.68	

Cuadro B.3: Capacidad antioxidante medida por cuatro métodos en mashua sometida a diferentes tratamientos

Tratamiento			Rep.	Microondas				Ebullición				
Acondic.	Blanqueado	Secado		(umol TE/g bs)				(umol TE/g bs)				
				ABTS	DPPH	FRAP	ORAC	ABTS	DPPH	FRAP	ORAC	
Muestra inicial			R1	39.2	24.9	48.7	49.07	60.7	33.2	68.0	58.48	
			R2	38.8	24.2	49.7	51.42	59.1	32.8	66.6	54.56	
			R3	39.14	24.63	49.34	50.24	59.77	32.92	67.14	56.52	
60°C			R1	39.85	15.67	28.93	72.44	63.61	25.24	43.51	66.93	
			R2	41.04	16.47	30.72	61.44	62.75	25.24	43.96	71.26	
			R3	44.94	16.14	31.13	76.87	62.66	23.40	42.94	69.47	
80°C			R1	50.93	27.19	52.49	60.09	60.45	24.01	45.08	94.39	
			R2	55.36	27.18	44.81	57.11	60.56	24.37	51.62	104.70	
			R3	56.49	26.34	45.15	59.38	65.17	29.31	51.09	104.52	
Cortadas	3min		R1	35.46	9.65	31.71	63.47	52.34	27.25	48.08	104.03	
			R2	38.44	9.57	32.74	55.89	48.50	25.41	46.15	83.58	
			R3	31.03	8.03	29.82	52.36	51.04	24.55	46.37	100.68	
	4.5min		R1	35.63	12.04	36.17	61.54	31.78	18.80	37.28	53.53	
			R2	32.03	10.76	32.53	46.16	33.68	18.10	36.32	58.56	
			R3	41.51	13.40	39.31	54.10	39.27	21.84	46.14	92.58	
	6min		R1	31.01	6.29	31.21	72.37	40.46	23.64	45.77	94.22	
			R2	33.48	6.73	29.43	63.16	46.48	23.93	46.01	101.98	
			R3	30.57	6.99	26.10	52.15	47.09	24.41	47.52	86.85	
	3min	60°C		R1	35.61	16.11	31.64	64.37	55.80	25.61	45.53	87.52
				R2	38.75	17.25	31.82	77.09	62.31	31.97	44.63	94.88
				R3	39.34	17.55	32.68	88.82	62.99	31.80	44.14	93.58
	4.5min	60°C		R1	28.06	13.27	27.46	69.91	47.93	23.25	62.42	69.32
				R2	27.81	12.90	27.57	78.51	53.90	22.83	62.53	72.35
				R3	36.99	14.81	33.20	69.24	53.66	28.58	52.39	95.72

	6min	80°C	R1	21.11	10.05	24.03	68.38	38.80	20.69	69.49	63.65
			R2	20.85	9.89	23.81	61.09	39.54	27.49	69.56	73.95
			R3	24.09	11.93	26.60	57.89	45.22	27.11	64.13	73.30
	3min		R1	52.01	27.09	62.82	53.38	57.49	29.16	49.91	104.57
			R2	51.49	27.60	59.65	58.84	58.70	29.43	48.79	84.97
			R3	51.86	27.59	59.55	95.94	52.23	28.90	53.00	80.45
	4.5min		R1	43.52	20.15	42.16	88.15	50.17	25.13	57.20	87.96
			R2	45.87	20.42	42.28	88.93	54.64	30.41	56.15	78.24
			R3	45.87	22.83	45.77	80.27	53.46	30.26	54.99	85.61
	6min		R1	33.35	16.08	31.11	59.83	36.41	24.26	42.03	62.55
			R2	33.35	14.67	30.53	68.10	45.27	24.33	50.77	62.61
			R3	31.48	15.21	30.82	69.16	45.81	27.74	50.92	62.66
Enteras	3min	R1	48.15	18.52	41.17	51.31	47.72	27.53	53.95	75.87	
		R2	48.53	19.24	44.01	56.37	41.66	26.18	54.96	89.97	
		R3	51.13	22.57	48.89	58.61	49.86	26.54	48.51	83.49	
	4.5min	R1	49.42	17.31	47.20	62.83	39.48	14.02	34.34	95.51	
		R2	47.97	17.68	47.30	48.85	43.25	15.02	35.57	103.79	
		R3	50.35	19.10	46.63	51.03	45.71	18.39	42.77	73.20	
	6min	R1	54.87	22.93	51.75	81.63	51.44	27.91	52.22	72.06	
		R2	52.28	22.56	47.47	71.72	56.17	30.45	57.80	80.38	
		R3	47.94	21.54	47.79	62.89	50.55	23.50	48.65	76.62	
	3min	60°C	R1	49.36	20.08	35.94	75.00	48.87	21.64	54.23	67.85
			R2	46.07	19.81	35.82	79.89	48.87	19.92	51.36	76.54
			R3	45.51	18.33	33.88	72.94	47.96	19.86	51.46	67.61
4.5min	R1		36.62	12.90	27.55	87.04	49.79	23.80	56.93	87.14	
	R2		37.47	12.62	27.78	85.18	50.10	23.20	56.85	84.86	
	R3		36.94	12.61	27.19	53.95	48.47	23.20	56.91	84.17	
			R1	33.45	12.96	25.41	74.01	49.37	22.74	63.49	76.11

	6min	80°C	R2	29.86	12.62	24.86	68.03	49.23	22.55	63.48	60.14
			R3	30.01	11.36	24.76	70.07	48.93	22.56	61.09	74.02
	3min		R1	62.27	27.17	63.03	86.61	69.36	33.56	57.66	115.21
			R2	59.80	27.09	60.28	87.32	69.48	33.50	58.75	144.87
			R3	58.79	25.88	59.69	100.26	69.48	33.60	59.64	145.25
	4.5min		R1	48.60	18.07	38.25	85.10	52.24	27.27	59.61	87.68
			R2	48.20	18.02	38.79	85.56	52.91	27.35	59.78	85.34
			R3	48.57	20.39	39.12	85.69	53.49	25.26	59.57	80.91
	6min		R1	38.30	16.15	28.87	71.40	45.52	26.29	47.36	77.61
			R2	38.53	14.77	28.20	74.00	46.20	21.23	47.04	65.58
			R3	37.53	14.73	28.89	73.48	47.10	21.01	50.39	71.60

ANEXO C: Análisis estadístico con el software Statgraphics centurion XV por Windows 7

C.1 Análisis de variancia para compuestos fenólicos en mashua blanqueada por dos métodos

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Método de Blanqueado	0.014214	1	0.014214	1.07	0.3088
B:Momento Rodajado	1.93691	1	1.93691	145.21	0.0000
C:Tiempo de Blanqueado	0.601534	3	0.200511	15.03	0.0000
RESIDUAL	0.480184	36	0.0133384		
TOTAL (CORRECTED)	2.55343	41			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.2 Test de rango múltiple para compuestos fenólicos en mashua blanqueada por dos métodos

Method: 95.0 percent LSD

Método de Blanqueado	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
MICROONDAS	21	0.951128	0.0262315	X
EBULLICIÓN	21	0.987921	0.0262315	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
EBULLICIÓN - MICROONDAS		0.0367929	0.0722848

* denotes a statistically significant difference.

C.3 Análisis de variancia para compuestos fenólicos en mashua blanqueada por microondas

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Momento Rodajado	0.316575	1	0.316575	94.18	0.0000
B:Tiempo de Blanqueado	0.179154	3	0.0597179	17.77	0.0000
RESIDUAL	0.0537804	16	0.00336128		
TOTAL (CORRECTED)	0.432985	20			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.4 Test de rango múltiple para compuestos fenólicos en mashua blanqueada por microondas

Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
mic.an.3'	3	0.663352	X
mic.an.4.5'	3	0.714712	X
mic.an.6'	3	0.805839	X
mic.des.6'	3	0.984532	X
mic.des.4.5'	3	0.996866	X
mic.des.3'	3	0.998213	X
Inicial	3	1.0	X

C.5 Análisis de variancia para compuestos fenólicos en mashua blanqueada por ebullición

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A: Momento Rodajado	1.97557	1	1.97557	764.18	0.0000
B: Tiempo de Blanqueado	0.4771	3	0.159033	61.52	0.0000
RESIDUAL	0.0413637	16	0.00258523		
TOTAL (CORRECTED)	2.10624	20			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.6 Test de rango múltiple para compuestos fenólicos en mashua blanqueada por ebullición

Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
ebu.an.4.5'	3	0.517128	X
ebu.an.3'	3	0.57595	XX
ebu.an.6'	3	0.623579	X
Inicial	3	1.0	X
ebu.des.4.5'	3	1.12638	X
ebu.des.3'	3	1.27119	X
ebu.des.6'	3	1.30684	X

C.7 Análisis de variancia para fenólicos en mashua blanqueada por dos métodos - secada

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A: Método de Blanqueado	0.0582676	1	0.0582676	2.80	0.0967
B: Momento Rodajado	0.79185	1	0.79185	38.10	0.0000
C: Tiempo de Blanqueado	0.571994	3	0.190665	9.17	0.0000
D: Secado	0.789251	2	0.394626	18.99	0.0000
RESIDUAL	2.45235	118	0.0207826		
TOTAL (CORRECTED)	4.44696	125			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.8 Test de rango múltiple para los compuestos fenólicos en mashua blanqueada por dos métodos - secada

Method: 95.0 percent LSD

Método de Blanqueado	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
EBULLICIÓN	63	0.990747	0.0189043	X
MICROONDAS	63	1.03376	0.0189043	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
EBULLICIÓN - MICROONDAS		-0.0430089	0.0508652

* denotes a statistically significant difference.

C.9 Análisis de variancia para compuestos fenólicos en mashua blanqueada por microondas-secada

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A: Momento Rodajado	0.000606391	1	0.000606391	0.24	0.6282
B: Tiempo de Blanqueado	0.351831	3	0.117277	46.10	0.0000
C: Secado	0.343608	2	0.171804	67.54	0.0000
RESIDUAL	0.0966666	38	0.00254386		
TOTAL (CORRECTED)	0.785233	44			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.10 Test de rango múltiple para compuestos fenólicos en mashua blanqueada por microrondas-secada

Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
mic.an.6'.60°C	3	0.906332	X
mic.des.6'.60°C	3	0.921513	XX
mic.an.4.5'.60°C	3	0.964618	XX
mic.des.4.5'.60°C	3	0.966564	XX
mic.des.6'.80°C	3	0.970545	X
Inicial 60°C	3	1.0	XX
mic.an.6'.80°C	3	1.00529	XX
mic.an.3'.60°C	3	1.0228	X
mic.des.3'.60°C	3	1.08687	X
mic.des.4.5'.80°C	3	1.11561	XX
mic.an.4.5'.80°C	3	1.16132	XX
80°C	3	1.19729	X
mic.an.3'.80°C	3	1.2999	X
mic.des.3'.80°C	3	1.35017	X

C.11 Análisis de variancia para compuestos fenólicos en mashua blanqueada por ebullición-secada

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A: Momento Rodajado	0.015607	1	0.015607	2.60	0.1153
B: Tiempo de Blanqueado	0.21396	3	0.0713199	11.87	0.0000
C: Secado	0.0542253	2	0.0271127	4.51	0.0174
RESIDUAL	0.228303	38	0.00600798		
TOTAL (CORRECTED)	0.509534	44			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.12 Test de rango múltiple para compuestos fenólicos en mashua blanqueada por ebullición-secada

Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
ebu.an.6'.60°C	3	0.856527	X
ebu.des.6'.80°C	3	0.884724	XX
ebu.an.6'.80°C	3	0.921638	XXX
ebu.an.4.5'.60°C	3	0.921956	XXX
60°C	3	0.941403	XXX
ebu.des.3'.60°C	3	0.942884	XXX
ebu.des.4.5'.60°C	3	0.960508	XX
ebu.an.4.5'.80°C	3	0.96414	XX
ebu.des.4.5'.80°C	3	0.979477	XXX
ebu.des.6'.60°C	3	0.9797	XXX
Inicial	3	1.0	XXX
80°C	3	1.04097	XXX
ebu.an.3'.60°C	3	1.05344	XX
ebu.an.3'.80°C	3	1.07376	X
ebu.des.3'.80°C	3	1.29402	X

C.13 Análisis de variancia para carotenoides en mashua blanqueada por dos métodos

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Método de Blanqueado	0.395967	1	0.395967	24.79	0.0000
B:Momento Rodajado	0.0296031	1	0.0296031	1.85	0.1819
C:Tiempo de Blanqueado	0.142355	3	0.0474517	2.97	0.0446
RESIDUAL	0.575116	36	0.0159755		
TOTAL (CORRECTED)	1.11889	41			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.14 Test de rango múltiple para carotenoides en mashua blanqueada por dos métodos

Method: 95.0 percent LSD

Método de Blanqueado	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
EBULLICIÓN	21	0.828607	0.0287077	X
MICROONDAS	21	1.0228	0.0287077	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
EBULLICIÓN - MICROONDAS	*	-0.194193	0.0791081

* denotes a statistically significant difference.

C.15 Análisis de variancia para carotenoides en mashua blanqueada por microondas

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Momento Rodajado	0.0426675	1	0.0426675	3.18	0.0936
B:Tiempo de Blanqueado	0.0571639	3	0.0190546	1.42	0.2738
RESIDUAL	0.214795	16	0.0134247		
TOTAL (CORRECTED)	0.31032	20			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.16 Test de rango múltiple para carotenoides en mashua blanqueada por microondas

Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
mic.an.6'	3	0.765308	X
mic.des.4.5'	3	0.943165	X
Inicial	3	1.0	XX
mic.an.3'	3	1.02378	XXX
mic.an.4.5'	3	1.07883	XX
mic.des.6'	3	1.10546	X
mic.des.3'	3	1.11141	X

C.17 Análisis de variancia para carotenoides en mashua blanqueada por ebullición

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Momento Rodajado	0.00135144	1	0.00135144	0.44	0.5151
B:Tiempo de Blanqueado	0.355459	3	0.118486	38.86	0.0000
RESIDUAL	0.0487891	16	0.00304932		
TOTAL (CORRECTED)	0.412606	20			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.18 Test de rango múltiple para carotenoides en mashua blanqueada por ebullición

Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
ebu.an.4.5'	3	0.606337	X
ebu.des.3'	3	0.696253	X
ebu.des.4.5'	3	0.726231	XX
ebu.an.3'	3	0.769011	X
ebu.an.6'	3	0.932956	X
ebu.des.6'	3	0.93781	X
Inicial	3	1.0	X

C.19 Análisis de variancia para carotenoides en mashua blanqueada por dos métodos – secada

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Método de Blanqueado	1.06598	1	1.06598	94.18	0.0000
B:Momento Rodajado	0.100317	1	0.100317	8.86	0.0035
C:Tiempo de Blanqueado	0.0302336	3	0.0100779	0.89	0.4484
D:Secado	0.256348	2	0.128174	11.32	0.0000
RESIDUAL	1.33559	118	0.0113186		
TOTAL (CORRECTED)	2.81261	125			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.20 Test de rango múltiple para carotenoides en mashua blanqueada por dos métodos – secada

Method: 95.0 percent LSD

Método de Blanqueado	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
EBULLICIÓN	63	0.758081	0.013951	X
MICROONDAS	63	0.942039	0.013951	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
EBULLICIÓN - MICROONDAS	*	-0.183958	0.0375376

* denotes a statistically significant difference.

C.21 Análisis de variancia para carotenoides en mashua blanqueada por microondas-secada

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A: Momento Rodajado	0.0177931	1	0.0177931	10.00	0.0031
B: Tiempo de Blanqueado	0.0778191	3	0.0259397	14.57	0.0000
C: Secado	0.0994384	2	0.0497192	27.93	0.0000
RESIDUAL	0.0676469	38	0.00178018		
TOTAL (CORRECTED)	0.253511	44			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.22 Test de rango múltiple para carotenoides en mashua blanqueada por microondas-secada

Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
mic.des.3'.80°C	3	0.805997	X
mic.an.3'.80°C	3	0.825659	X
80°C	3	0.84404	XX
mic.an.3'.60°C	3	0.876235	XX
mic.des.6'.80°C	3	0.88816	XX
mic.des.4.5'.80°C	3	0.890748	XX
mic.an.6'.80°C	3	0.89578	XX
mic.des.3'.60°C	3	0.925746	XX
mic.des.4.5'.60°C	3	0.927876	XX
mic.des.6'.60°C	3	0.945039	X
60°C	3	0.945356	X
mic.an.4.5'.80°C	3	0.96104	XX
mic.an.4.5'.60°C	3	0.998773	X
Inicial	3	1.0	X
mic.an.6'.60°C	3	1.09286	X

C.23 Análisis de variancia para carotenoides en mashua blanqueada por ebullición-secada

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A: Momento Rodajado	0.344869	1	0.344869	55.41	0.0000
B: Tiempo de Blanqueado	0.0223465	3	0.00744884	1.20	0.3240
C: Secado	0.118131	2	0.0590655	9.49	0.0005
RESIDUAL	0.236492	38	0.00622346		
TOTAL (CORRECTED)	0.800992	44			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.24 Test de rango múltiple para carotenoides en mashua blanqueada por ebullición-secada

Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
ebu.des.4.5'.80°C	3	0.473185	X
ebu.des.3'.80°C	3	0.584934	X
ebu.des.3'.60°C	3	0.643862	X
ebu.des.6'.80°C	3	0.65224	X
ebu.des.6'.60°C	3	0.683096	X
ebu.an.6'.80°C	3	0.712668	X
60°C	3	0.75618	X
ebu.des.4.5'.60°C	3	0.765296	XX
ebu.an.4.5'.60°C	3	0.776517	XX
80°C	3	0.783624	X
ebu.an.3'.60°C	3	0.818427	X
ebu.an.6'.60°C	3	0.835897	X
ebu.an.4.5'.80°C	3	0.879362	X
ebu.an.3'.80°C	3	0.954254	X
Inicial	3	1.0	X

C.25 Análisis de variancia para la capacidad antioxidante (ABTS) en mashua blanqueada por dos métodos

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Método de Blanqueado	0.786294	1	0.786294	44.32	0.0000
B:Momento Rodajado	0.490701	1	0.490701	27.66	0.0000
C:Tiempo de Blanqueado	0.21565	3	0.0718833	4.05	0.0140
RESIDUAL	0.638704	36	0.0177418		
TOTAL (CORRECTED)	1.98883	41			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.26 Test de rango múltiple para la capacidad antioxidante (ABTS) en mashua blanqueada por dos métodos

Method: 95.0 percent LSD

Método de Blanqueado	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
EBULLICIÓN	21	0.831384	0.0302531	X
MICROONDAS	21	1.10504	0.0302531	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
EBULLICIÓN - MICROONDAS	*	-0.273651	0.0833668

* denotes a statistically significant difference.

C.27 Análisis de variancia para la capacidad antioxidante (ABTS) en mashua blanqueada por microondas

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Momento Rodajado	0.725625	1	0.725625	115.94	0.0000
B:Tiempo de Blanqueado	0.0362446	3	0.0120815	1.93	0.1654
RESIDUAL	0.100136	16	0.00625848		
TOTAL (CORRECTED)	0.844043	20			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.28 Test de rango múltiple para la capacidad antioxidante (ABTS) en mashua blanqueada por microondas

Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
mic.an.6'	3	0.809597	X
mic.an.3'	3	0.893555	XX
mic.an.4.5'	3	0.929488	XX
Inicial	3	1.0	X
mic.des.4.5'	3	1.25801	X
mic.des.3'	3	1.25871	X
mic.des.6'	3	1.3206	X

C.29 Análisis de variancia para la capacidad antioxidante (ABTS) en mashua blanqueada por ebullición

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A: Momento Rodajado	0.0192713	1	0.0192713	3.68	0.0731
B: Tiempo de Blanqueado	0.274657	3	0.0915524	17.48	0.0000
RESIDUAL	0.0837918	16	0.00523698		
TOTAL (CORRECTED)	0.358494	20			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.30 Test de rango múltiple para la capacidad antioxidante (ABTS) en mashua blanqueada por ebullición

Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
ebu.an.4.5'	3	0.584277	X
ebu.des.4.5'	3	0.716682	X
ebu.an.6'	3	0.747984	X
ebu.des.3'	3	0.776182	XX
ebu.an.3'	3	0.846777	XX
ebu.des.6'	3	0.882497	X
Inicial	3	1.0	X

C.31 Análisis de variancia para la capacidad antioxidante (ABTS) en mashua blanqueada por dos métodos – secada

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A: Método de Blanqueado	1.27144	1	1.27144	62.74	0.0000
B: Momento Rodajado	0.581964	1	0.581964	28.72	0.0000
C: Tiempo de Blanqueado	1.69649	3	0.565495	27.91	0.0000
D: Secado	0.682558	2	0.341279	16.84	0.0000
RESIDUAL	2.39112	118	0.0202637		
TOTAL (CORRECTED)	6.29039	125			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.32 Test de rango múltiple para la capacidad antioxidante (ABTS) en mashua blanqueada por dos métodos – secada

Method: 95.0 percent LSD

Método de Blanqueado	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
EBULLICIÓN	63	0.89364	0.0186668	X
MICROONDAS	63	1.09455	0.0186668	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
EBULLICIÓN - MICROONDAS	*	-0.200906	0.0502261

* denotes a statistically significant difference.

C.33 Análisis de variancia para la capacidad antioxidante (ABTS) en mashua blanqueada por microondas-secada

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A: Momento Rodajado	0.280553	1	0.280553	76.66	0.0000
B: Tiempo de Blanqueado	1.68254	3	0.560845	153.25	0.0000
C: Secado	1.06414	2	0.532069	145.39	0.0000
RESIDUAL	0.139069	38	0.00365971		
TOTAL (CORRECTED)	2.90097	44			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.34 Test de rango múltiple para la capacidad antioxidante (ABTS) en mashua blanqueada por microondas-secada

Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
mic.an.6'.60°C	3	0.562464	X
mic.an.4.5'.60°C	3	0.790706	X
mic.des.6'.60°C	3	0.794504	X
mic.an.6'.80°C	3	0.836136	X
mic.des.4.5'.60°C	3	0.945536	X
mic.an.3'.60°C	3	0.968296	X
mic.des.6'.80°C	3	0.97388	X
Inicial	3	1.0	XX
60°C	3	1.07155	XX
mic.an.4.5'.80°C	3	1.15196	XX
mic.des.3'.60°C	3	1.20006	X
mic.des.4.5'.80°C	3	1.23785	XX
mic.an.3'.80°C	3	1.32291	XX
80°C	3	1.38627	X
mic.des.3'.80°C	3	1.53998	X

C.35 Análisis de variancia para capacidad antioxidante (ABTS) en mashua blanqueada por ebullición-secada

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A: Momento Rodajado	0.00830817	1	0.00830817	1.17	0.2859
B: Tiempo de Blanqueado	0.494834	3	0.164945	23.26	0.0000
C: Secado	0.0247767	2	0.0123883	1.75	0.1880
RESIDUAL	0.269495	38	0.00709196		
TOTAL (CORRECTED)	0.821445	44			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.36 Test de rango múltiple para capacidad antioxidante (ABTS) en mashua blanqueada por ebullición-secada

Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
ebu.an.6'.60°C	3	0.6892	X
ebu.an.6'.80°C	3	0.711708	XX
ebu.des.6'.80°C	3	0.774316	XX
ebu.des.3'.60°C	3	0.812638	XX
ebu.des.6'.60°C	3	0.822881	XX
ebu.des.4.5'.60°C	3	0.827488	XX
ebu.an.4.5'.60°C	3	0.867702	XX
ebu.an.4.5'.80°C	3	0.883121	XX
ebu.des.4.5'.80°C	3	0.88493	XX
ebu.an.3'.80°C	3	0.939495	XX
Inicial	3	1.0	XX
ebu.an.3'.60°C	3	1.01062	XX
80°C	3	1.03845	X
60°C	3	1.0542	X
ebu.des.3'.80°C	3	1.16189	X

C.37 Análisis de variancia para la capacidad antioxidante (DPPH) en mashua blanqueada por dos métodos

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Método de Blanqueado	0.0882061	1	0.0882061	3.89	0.0564
B:Momento Rodajado	0.45106	1	0.45106	19.88	0.0001
C:Tiempo de Blanqueado	1.06271	3	0.354236	15.61	0.0000
RESIDUAL	0.816816	36	0.0226893		
TOTAL (CORRECTED)	2.08916	41			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.38 Test de rango múltiple para la capacidad antioxidante (DPPH) en mashua blanqueada por dos métodos

Method: 95.0 percent LSD

Método de Blanqueado	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
MICROONDAS	21	0.72046	0.0342123	X
EBULLICIÓN	21	0.812115	0.0342123	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
EBULLICIÓN - MICROONDAS		0.0916547	0.0942769

* denotes a statistically significant difference.

C.39 Análisis de variancia para la capacidad antioxidante (DPPH) en mashua blanqueada por microondas

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Momento Rodajado	0.879575	1	0.879575	96.34	0.0000
B:Tiempo de Blanqueado	0.876196	3	0.292065	31.99	0.0000
RESIDUAL	0.146084	16	0.00913024		
TOTAL (CORRECTED)	1.44367	20			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.40 Test de rango múltiple para la capacidad antioxidante (DPPH) en mashua blanqueada por microondas

Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
mic.an.6'	3	0.271028	X
mic.an.3'	3	0.368794	X
mic.an.4.5'	3	0.489834	X
mic.des.4.5'	3	0.732116	X
mic.des.3'	3	0.816736	X
mic.des.6'	3	0.907133	X
Inicial	3	1.0	X

C.41 Análisis de variancia para la capacidad antioxidante (DPPH) en mashua blanqueada por ebullición

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A: Momento Rodajado	0.000142644	1	0.000142644	0.03	0.8685
B: Tiempo de Blanqueado	0.452182	3	0.150727	29.90	0.0000
RESIDUAL	0.0806569	16	0.00504106		
TOTAL (CORRECTED)	0.557281	20			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.42 Test de rango múltiple para la capacidad antioxidante (DPPH) en mashua blanqueada por ebullición

Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
ebu.des.4.5'	3	0.48038	X
ebu.an.4.5'	3	0.594687	X
ebu.an.6'	3	0.728789	X
ebu.an.3'	3	0.78169	XX
ebu.des.3'	3	0.812546	XX
ebu.des.6'	3	0.82913	X
Inicial	3	1.0	X

C.43 Análisis de variancia para la capacidad antioxidante (DPPH) en mashua blanqueada por dos métodos – secada

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A: Método de Blanqueado	0.136917	1	0.136917	5.83	0.0173
B: Momento Rodajado	0.0727888	1	0.0727888	3.10	0.0810
C: Tiempo de Blanqueado	1.09706	3	0.365687	15.56	0.0000
D: Secado	0.862392	2	0.431196	18.35	0.0000
RESIDUAL	2.77352	118	0.0235044		
TOTAL (CORRECTED)	4.87063	125			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.44 Test de rango múltiple para la capacidad antioxidante (DPPH) en mashua blanqueada por dos métodos – secada

Method: 95.0 percent LSD

Método de Blanqueado	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
MICROONDAS	63	0.732003	0.0201041	X
EBULLICIÓN	63	0.797931	0.0201041	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
EBULLICIÓN - MICROONDAS	*	0.0659286	0.0540935

* denotes a statistically significant difference.

C.45 Análisis de variancia para la capacidad antioxidante (DPPH) en mashua blanqueada por microondas-secada

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Momento Rodajado	9.24955E-7	1	9.24955E-7	0.00	0.9889
B:Tiempo de Blanqueado	0.992762	3	0.330921	69.84	0.0000
C:Secado	0.906704	2	0.453352	95.67	0.0000
RESIDUAL	0.180065	38	0.00473854		
TOTAL (CORRECTED)	2.26085	44			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.46 Test de rango múltiple para la capacidad antioxidante (DPPH) en mashua blanqueada por microondas-secada

Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
mic.an.6'.60°C	3	0.431327	X
mic.des.6'.60°C	3	0.500052	X
mic.des.4.5'.60°C	3	0.516016	X
mic.an.4.5'.60°C	3	0.554538	X
mic.des.6'.80°C	3	0.617606	X
mic.an.6'.80°C	3	0.621732	X
60°C	3	0.653536	XX
mic.an.3'.60°C	3	0.689262	X
mic.des.4.5'.80°C	3	0.764459	X
mic.des.3'.60°C	3	0.78786	X
mic.an.4.5'.80°C	3	0.858245	X
Inicial	3	1.0	X
mic.des.3'.80°C	3	1.08467	X
80°C	3	1.09226	X
mic.an.3'.80°C	3	1.11364	X

C.47 Análisis de variancia para la capacidad antioxidante (DPPH) en mashua blanqueada por ebullición-secada

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Momento Rodajado	0.0421377	1	0.0421377	4.96	0.0319
B:Tiempo de Blanqueado	0.115313	3	0.0384377	4.53	0.0083
C:Secado	0.197174	2	0.098587	11.61	0.0001
RESIDUAL	0.322635	38	0.00849041		
TOTAL (CORRECTED)	0.683072	44			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.48 Test de rango múltiple para la capacidad antioxidante (DPPH) en mashua blanqueada por ebullición-secada

Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
ebu.des.3'.60°C	3	0.621777	X
ebu.des.6'.60°C	3	0.687109	XX
ebu.des.6'.80°C	3	0.693661	XX
ebu.des.4.5'.60°C	3	0.710796	XXX
60°C	3	0.748103	XX
ebu.an.4.5'.60°C	3	0.755996	XX
ebu.an.6'.60°C	3	0.762681	XXX
ebu.an.6'.80°C	3	0.772971	XXX
80°C	3	0.78678	XXXX
ebu.des.4.5'.80°C	3	0.808742	XXXX
ebu.an.4.5'.80°C	3	0.868997	XXX
ebu.an.3'.80°C	3	0.885894	XX
ebu.an.3'.60°C	3	0.905357	XX
Inicial	3	1.0	XX
ebu.des.3'.80°C	3	1.01926	X

C.49 Análisis de variancia para la capacidad antioxidante (FRAP) en mashua blanqueada por dos métodos

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Método de Blanqueado	0.102628	1	0.102628	9.71	0.0036
B:Momento Rodajado	0.272867	1	0.272867	25.83	0.0000
C:Tiempo de Blanqueado	0.553197	3	0.184399	17.45	0.0000
RESIDUAL	0.380332	36	0.0105648		
TOTAL (CORRECTED)	1.1161	41			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.50 Test de rango múltiple para la capacidad antioxidante (FRAP) en mashua blanqueada por dos métodos

Method: 95.0 percent LSD

Método de Blanqueado	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
EBULLICIÓN	21	0.779749	0.0233454	X
MICROONDAS	21	0.878613	0.0233454	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
EBULLICIÓN - MICROONDAS	*	-0.0988639	0.0643316

* denotes a statistically significant difference.

C.51 Análisis de variancia para la capacidad antioxidante (FRAP) en mashua blanqueada por microondas

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Momento Rodajado	0.4047	1	0.4047	100.55	0.0000
B:Tiempo de Blanqueado	0.290156	3	0.0967186	24.03	0.0000
RESIDUAL	0.0643976	16	0.00402485		
TOTAL (CORRECTED)	0.587061	20			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.52 Test de rango múltiple para la capacidad antioxidante (FRAP) en mashua blanqueada por microondas

Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
mic.an.6'	3	0.586125	X
mic.an.3'	3	0.636782	X
mic.an.4.5'	3	0.729934	X
mic.des.3'	3	0.905573	X
mic.des.4.5'	3	0.953442	XX
mic.des.6'	3	0.993494	XX
Inicial	3	1.0	X

C.53 Análisis de variancia para la capacidad antioxidante (FRAP) en mashua blanqueada por ebullición

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Momento Rodajado	0.0105221	1	0.0105221	3.03	0.1010
B:Tiempo de Blanqueado	0.364045	3	0.121348	34.93	0.0000
RESIDUAL	0.0555925	16	0.00347453		
TOTAL (CORRECTED)	0.426415	20			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.54 Test de rango múltiple para la capacidad antioxidante (FRAP) en mashua blanqueada por ebullición

Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
ebu.des.4.5'	3	0.559531	X
ebu.an.4.5'	3	0.594477	X
ebu.an.6'	3	0.691676	X
ebu.an.3'	3	0.697965	XX
ebu.des.3'	3	0.781607	XX
ebu.des.6'	3	0.788047	X
Inicial	3	1.0	X

C.55 Análisis de variancia para la capacidad antioxidante (FRAP) en mashua blanqueada por dos métodos – secada

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Método de Blanqueado	0.00162741	1	0.00162741	0.06	0.8104
B:Momento Rodajado	0.105542	1	0.105542	3.75	0.0552
C:Tiempo de Blanqueado	0.314579	3	0.10486	3.72	0.0133
D:Secado	0.392895	2	0.196448	6.98	0.0014
RESIDUAL	3.32248	118	0.0281566		
TOTAL (CORRECTED)	4.08188	125			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.56 Test de rango múltiple para la capacidad antioxidante (FRAP) en mashua blanqueada por dos métodos – secada

Method: 95.0 percent LSD

Método de Blanqueado	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
MICROONDAS	63	0.787524	0.022004	X
EBULLICIÓN	63	0.794712	0.022004	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
EBULLICIÓN - MICROONDAS		0.00718774	0.0592053

* denotes a statistically significant difference.

C.57 Análisis de variancia para la capacidad antioxidante (FRAP) en mashua blanqueada por microondas-secada

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A: Momento Rodajado	0.00263448	1	0.00263448	0.26	0.6152
B: Tiempo de Blanqueado	1.0057	3	0.335233	32.69	0.0000
C: Secado	1.08918	2	0.54459	53.10	0.0000
RESIDUAL	0.38973	38	0.010256		
TOTAL (CORRECTED)	2.58362	44			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.58 Test de rango múltiple para la capacidad antioxidante (FRAP) en mashua blanqueada por microondas-secada

Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
mic.an.6'.60°C	3	0.502959	X
mic.des.6'.60°C	3	0.506923	X
mic.des.4.5'.60°C	3	0.557552	XX
mic.des.6'.80°C	3	0.580837	XX
mic.an.4.5'.60°C	3	0.596061	XXX
60°C	3	0.613237	XXX
mic.an.6'.80°C	3	0.62473	XX
mic.an.3'.60°C	3	0.649512	XX
mic.des.3'.60°C	3	0.71373	X
mic.des.4.5'.80°C	3	0.78477	X
mic.an.4.5'.80°C	3	0.879713	X
80°C	3	0.963013	X
Inicial	3	1.0	X
mic.an.3'.80°C	3	1.23	X
mic.des.3'.80°C	3	1.23651	X

C.59 Análisis de variancia para la capacidad antioxidante (FRAP) en mashua blanqueada por ebullición-secada

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A: Momento Rodajado	0.00840097	1	0.00840097	1.02	0.3185
B: Tiempo de Blanqueado	0.123856	3	0.0412853	5.02	0.0050
C: Secado	0.204193	2	0.102096	12.42	0.0001
RESIDUAL	0.312428	38	0.0082218		
TOTAL (CORRECTED)	0.59214	44			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.60 Test de rango múltiple para la capacidad antioxidante (FRAP) en mashua blanqueada por ebullición-secada

Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
60°C	3	0.647486	X
ebu.an.3'.60°C	3	0.666736	XX
ebu.an.6'.80°C	3	0.714028	XXX
ebu.des.6'.80°C	3	0.718852	XX
80°C	3	0.734056	X
ebu.an.3'.80°C	3	0.753093	X
ebu.des.3'.60°C	3	0.77961	XX
ebu.an.4.5'.80°C	3	0.835766	XX
ebu.des.4.5'.60°C	3	0.847422	X
ebu.des.3'.80°C	3	0.874071	XX
ebu.an.4.5'.60°C	3	0.880486	XX
ebu.des.4.5'.80°C	3	0.888497	XX
ebu.des.6'.60°C	3	0.9337	XX
Inicial	3	1.0	XX
ebu.an.6'.60°C	3	1.00873	X

C.61 Análisis de variancia para la capacidad antioxidante (ORAC) en mashua blanqueada por dos métodos

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Método de Blanqueado	0.799324	1	0.799324	15.94	0.0003
B:Momento Rodajado	0.0000745823	1	0.0000745823	0.00	0.9694
C:Tiempo de Blanqueado	0.72534	3	0.24178	4.82	0.0064
RESIDUAL	1.80522	36	0.0501449		
TOTAL (CORRECTED)	3.40952	41			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.62 Test de rango múltiple para la capacidad antioxidante (ORAC) en mashua blanqueada por dos métodos

Method: 95.0 percent LSD

Método de Blanqueado	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
MICROONDAS	21	1.11882	0.050861	X
EBULLICIÓN	21	1.39473	0.050861	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
EBULLICIÓN - MICROONDAS	*	0.27591	0.140155

* denotes a statistically significant difference.

C.63 Análisis de variancia para la capacidad antioxidante (ORAC) en mashua blanqueada por microondas

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Momento Rodajado	0.0123981	1	0.0123981	0.50	0.4890
B:Tiempo de Blanqueado	0.292368	3	0.0974558	3.94	0.0278
RESIDUAL	0.395524	16	0.0247203		
TOTAL (CORRECTED)	0.730633	20			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.64 Test de rango múltiple para la capacidad antioxidante (ORAC) en mashua blanqueada por microondas

Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
Inicial	3	1.0	X
mic.an.4.5'	3	1.0762	X
mic.des.4.5'	3	1.08204	X
mic.des.3'	3	1.10284	X
mic.an.3'	3	1.14084	X
mic.an.6'	3	1.24705	XX
mic.des.6'	3	1.43667	X

C.65 Análisis de variancia para la capacidad antioxidante (ORAC) en mashua blanqueada por ebullición

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A: Momento Rodajado	0.00982745	1	0.00982745	0.14	0.7135
B: Tiempo de Blanqueado	0.717286	3	0.239095	3.40	0.0436
RESIDUAL	1.12528	16	0.0703297		
TOTAL (CORRECTED)	1.87956	20			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.66 Test de rango múltiple para la capacidad antioxidante (ORAC) en mashua blanqueada por ebullición

Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
Inicial	3	1.0	X
ebu.an.4.5'	3	1.20887	XX
ebu.des.6'	3	1.35369	XXX
ebu.des.3'	3	1.4745	XX
ebu.des.4.5'	3	1.61021	X
ebu.an.6'	3	1.67235	X
ebu.an.3'	3	1.69739	X

C.67 Análisis de variancia para la capacidad antioxidante (ORAC) en mashua blanqueada por dos métodos - secada

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A: Método de Blanqueado	0.286138	1	0.286138	4.03	0.0470
B: Momento Rodajado	0.18888	1	0.18888	2.66	0.1055
C: Tiempo de Blanqueado	1.03605	3	0.345349	4.86	0.0032
D: Secado	1.38792	2	0.693959	9.77	0.0001
RESIDUAL	8.37774	118	0.0709978		
TOTAL (CORRECTED)	11.5034	125			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.68 Test de rango múltiple para la capacidad antioxidante (ORAC) en mashua blanqueada por dos métodos – secada

Method: 95.0 percent LSD

Método de Blanqueado	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
MICROONDAS	63	1.35696	0.0349408	X
EBULLICIÓN	63	1.45227	0.0349408	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
EBULLICIÓN - MICROONDAS	*	0.0953087	0.0940141

* denotes a statistically significant difference.

C.69 Análisis de variancia para la capacidad antioxidante (ORAC) en mashua blanqueada por microondas-secada

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Momento Rodajado	0.154211	1	0.154211	4.02	0.0522
B:Tiempo de Blanqueado	0.494605	3	0.164868	4.30	0.0105
C:Secado	0.218631	2	0.109315	2.85	0.0704
RESIDUAL	1.45832	38	0.038377		
TOTAL (CORRECTED)	2.91577	44			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.70 Test de rango múltiple para la capacidad antioxidante (ORAC) en mashua blanqueada por microondas-secada

Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
Inicial	3	1.0	X
80°C	3	1.1724	XX
mic.an.6'.60°C	3	1.24462	XXX
mic.an.6'.80°C	3	1.30669	XXX
mic.an.3'.80°C	3	1.38053	XX
60°C	3	1.40039	XXX
mic.des.6'.60°C	3	1.40866	XXX
mic.an.4.5'.60°C	3	1.44324	XXX
mic.des.6'.80°C	3	1.45226	XXX
mic.des.4.5'.60°C	3	1.50145	XX
mic.des.3'.60°C	3	1.51134	XXX
mic.an.3'.60°C	3	1.52627	XXX
mic.des.4.5'.80°C	3	1.70128	XX
mic.an.4.5'.80°C	3	1.70789	XX
mic.des.3'.80°C	3	1.81964	X

C.71 Análisis de variancia para la capacidad antioxidante (ORAC) en mashua blanqueada por ebullición-secada

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Momento Rodajado	0.123497	1	0.123497	1.75	0.1932
B:Tiempo de Blanqueado	1.56493	3	0.521644	7.41	0.0005
C:Secado	1.09076	2	0.545378	7.75	0.0015
RESIDUAL	2.67404	38	0.0703695		
TOTAL (CORRECTED)	5.52723	44			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

C.72 Test de rango múltiple para la capacidad antioxidante (ORAC) en mashua blanqueada por ebullición-secada

Method: 95.0 percent LSD

<i>Muestra</i>	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
Inicial	3	1.0	X
ebu.an.6'.80°C	3	1.10864	XX
60°C	3	1.22656	XXX
ebu.des.6'.60°C	3	1.23781	XXXX
ebu.an.6'.60°C	3	1.24691	XXXXX
ebu.des.3'.60°C	3	1.25307	XXXXX
ebu.des.6'.80°C	3	1.26533	XXXXX
ebu.an.4.5'.60°C	3	1.40164	XXXXX
ebu.an.4.5'.80°C	3	1.48428	XXXX
ebu.des.4.5'.80°C	3	1.49831	XXX
ebu.des.4.5'.60°C	3	1.51158	XX
ebu.an.3'.80°C	3	1.58969	XX
ebu.an.3'.60°C	3	1.63045	XX
80°C	3	1.79414	X
ebu.des.3'.80°C	3	2.39836	X