



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA  
ESCOLA SUPERIOR D'AGRICULTURA DE BARCELONA  
GRAU EN ENGINYERIA ALIMENTÀRIA

---

# EFECTE DELS ULTRASONS I SOLUCIONS ÀCIDES EN L'ENFOSQUIMENT ENZIMÀTIC DE LA PATATA (*Solanum Tuberosum*)

---

**Treball de Final de Grau realitzat per:**

Andrea Caballero i Anento

**Sota la direcció de:**

Dra. Montserrat Pujolà i Cunill

Dr. Francesc Sepulcre i Sánchez

Castelldefels, juny de 2017

*Per la iaia Olga*



## Resum

### **EFFECTE DELS ULTRASONS I SOLUCIONS ÀCIDES EN L'ENFOSQUIMENT ENZIMÀTIC DE LA PATATA (*Solanum Tuberosum*)**

Autora: Andrea Caballero i Anento.

Directors: Dra. Montserrat Pujolà i Cunill i Dr. Francesc Sepulcre i Sánchez.

Escola Superior d'Agricultura de Barcelona – Grau en Enginyeria Alimentària,  
Universitat Politècnica de Catalunya.

L'enfosquiment enzimàtic en vegetals frescos, rics en compostos fenòlics, és causat per l'acció dels enzims polifenol oxidasa (PPO) i peroxidasa (POD). L'objectiu del present treball ha sigut determinar l'efecte dels ultrasons i diferents solucions àcides en la inhibició de l'enfosquiment enzimàtic en patata tallada. S'ha utilitzat un bany d'ultrasons de 42 kHz i 130 W a diferents temps (2, 5, 10 i 20 minuts) conjuntament amb solucions (a l'1%) d'àcid cítric, àcid ascòrbic i la combinació dels dos en proporció 1:1. S'han estudiat els efectes dels ultrasons tant en les solucions (pH, temperatura i el % de sòlids solubles) com en les mostres de patata. En el cas de les mostres, s'ha analitzat el color en l'espai CIE Lab ( $L^*$ ,  $C^* h^*$  i IC) i l'activitat enzimàtica mitjançant la mesura de la seva absorbància a  $\lambda = 410\text{nm}$  en el cas de la polifenol oxidasa i  $\lambda = 420\text{nm}$  per la peroxidasa, a partir de la reacció amb catecol i guaiacol amb peròxid d'hidrogen respectivament, obtenint lectures cada 30 segons durant 10 minuts. Els resultats indiquen que l'aplicació d'ultrasons incrementa la temperatura del bany amb el temps de sonicació però no té efecte sobre el pH. Els ultrasons sols o conjuntament amb els tractaments àcids i les concentracions utilitzades, disminueixen l'activitat de la polifenol oxidasa, tot i que el temps de sonicació afecta de manera diferent segons la solució aplicada. En la peroxidasa, la sonicació augmenta la seva activitat mentre que la combinació dels ultrasons amb solucions àcides la disminueixen (en menor proporció que en la PPO), tenint diferent efecte segons la solució emprada. S'han trobat diferents tipus de correlacions entre tractaments, temps de sonicació i color i entre les activitats de PPO i POD. En conclusió, les combinacions més efectives per inhibir les activitats enzimàtiques en mostres de patata tallada resulten ser l'efecte dels ultrasons conjuntament amb una solució d'àcid cítric 1% + ascòrbic 1% i 20 minuts de sonicació en el cas de la polifenol oxidasa, i la combinació de la sonicació durant 20 minuts en una solució d'àcid cítric 1% per la peroxidasa.

*Paraules clau:* Sonicació; Color; Activitat enzimàtica; Polifenol oxidasa; Peroxidasa.

## Resumen

### **EFFECTO DE LOS ULTRASONIDOS Y SOLUCIONES ÁCIDAS EN EL PARDEAMIENTO ENZIMÁTICO DE LA PATATA (*Solanum Tuberosum*)**

Autora: Andrea Caballero Anento.

Directores: Dra. Montserrat Pujolà Cunill y Dr. Francesc Sepulcre Sánchez.

Escola Superior d'Agricultura de Barcelona – Grado en Ingeniería Alimentaria, Universitat Politècnica de Catalunya.

El pardeamiento enzimático en vegetales frescos, ricos en compuestos fenólicos, es causado por la acción de las enzimas polifenol oxidasa (PPO) y peroxidasa (POD). El objetivo del presente trabajo ha sido determinar el efecto de los ultrasonidos y diferentes soluciones ácidas en la inhibición del pardeamiento enzimático en patata cortada. Se ha usado un baño de ultrasonidos de 42 kHz y 130 W a diferentes tiempos (2, 5, 10 y 20 minutos) conjuntamente con soluciones (al 1%) de ácido cítrico, ácido ascórbico y la combinación de ambos en proporción 1:1. Se han estudiado los efectos de los ultrasonidos tanto en las soluciones (pH, temperatura y % de sólidos solubles) como en las muestras de patata. En el caso de las muestras, se ha analizado el color en el Espacio CIE Lab ( $L^*$ ,  $C^*$ ,  $h^*$  y IC) y la actividad enzimática mediante la medición de su absorbancia a  $\lambda = 410\text{nm}$  en el caso de la polifenol oxidasa y  $\lambda = 420\text{nm}$  en la polifenol oxidasa, a partir de la reacción con catecol y guayacol con peróxido de hidrógeno respectivamente, con lecturas cada 30 segundos durante 10 minutos. Los resultados indican que la aplicación de ultrasonido incrementa la temperatura del baño con el tiempo de sonicación pero no tiene efectos sobre el pH. Los ultrasonidos solos o conjuntamente con los tratamientos ácidos y las concentraciones utilizadas, disminuyen la actividad de la polifenol oxidasa, aunque el tiempo de sonicación afecta de distinta manera según la solución aplicada. En la peroxidasa, la sonicación aumenta su actividad mientras que la combinación de los ultrasonidos con las soluciones ácidas la disminuyen (en menor proporción que en la PPO), teniendo un efecto diferente según la solución empleada. Se han encontrado diferentes tipos de correlaciones entre tratamientos, tiempos de sonicación y color y entre las actividades de PPO y POD. En conclusión, las combinaciones más efectivas para inhibir las actividades enzimáticas en muestras de patata cortada resultan ser los ultrasonidos juntamente con una solución de ácido cítrico 1% + ascórbico 1% y 20 minutos de sonicación en el caso de la polifenol oxidasa, y la combinación de la sonicación durante 20 minutos en una solución de ácido cítrico 1% para la peroxidasa.

*Palabras clave:* Sonicación; Color; Actividad enzimática; Polifenol oxidasa; Peroxidasa.

## Abstract

### **EFFECT OF ULTRASOUND AND ACID SOLUTIONS IN ENZYMATIC BROWNING OF POTATO (*Solanum Tuberosum*)**

Author: Andrea Caballero Anento.

Directors: Dr. Montserrat Pujolà Cunill and Dr. Francesc Sepulcre Sánchez.

Escola Superior d'Agricultura de Barcelona – Food Engineering Degree,  
Universitat Politècnica de Catalunya.

Enzymatic browning in fresh vegetables (rich in phenolic compounds), is caused by the action of polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD) enzymes. The aim of the present work has been to determine the effect of ultrasound and different acid solutions on enzymatic browning inhibition in cut potato. An ultrasonic bath of 42 kHz and 130 W, has been used at different times (2, 5, 10 and 20 minutes) together with solutions (1%) of citric acid, ascorbic acid and both mixtures in 1:1 proportion. It has been studied the ultrasonic effect in solutions (pH, temperature and percentage of soluble solids) and potato samples. In case of the samples, the color was analyzed in CIE Lab Space ( $L^*$ ,  $C^*$ ,  $h^*$  and IC) and enzymatic activity measuring its absorbance at  $\lambda = 410\text{nm}$  for polyphenol oxidase and  $\lambda = 420\text{nm}$  for peroxidase, from the reaction with catechol and guaiacol with hydrogen peroxide respectively, every 30 seconds for 10 minutes. The results indicate that the application of ultrasound increments the bath temperature and soluble solids concentration of the solutions, but does not affect the pH values. Ultrasound, independently or together with acid treatments, decreases the polyphenol oxidase activity, but the sonication time affects differently depending on the solution applied. In peroxidase, the sonication increases its activity while the combination of ultrasound with acid solutions decreases it, having different effect depending on the solution used. Different types of correlations have been found between treatments, sonication times and color and between PPO and POD activities. In conclusion, the most effective combination to inhibit the enzymatic activities in cut potato will be the ultrasound effect with citric acid 1% + ascorbic acid 1% (1:1) solution and 20 minutes of sonication in case of polyphenol oxidase and the combination of citric acid 1% solution and sonication during 20 minutes for peroxidase.

*Keywords:* Sonication; Color; Enzymatic activity; Polyphenol oxidase; Peroxidase.



# Índex

<b>1. INTRODUCCIÓ</b>	<b>2</b>
1.1. Patata	2
1.2. Descripció tècnica dels ultrasons	2
1.3. Aplicacions dels ultrasons d'alta energia en la Indústria Alimentaria	4
1.4. Activitat enzimàtica	6
1.4.1. Polifenol oxidasa (PPO)	7
1.4.2. Peroxidasa (POD)	8
1.4.3. Inactivació enzimàtica mitjançant ultrasons	9
<b>2. OBJECTIUS</b>	<b>11</b>
<b>3. MATERIALS I MÈTODES</b>	<b>12</b>
3.1. Material vegetal	12
3.2. Equip d'ultrasons	13
3.3. Disseny experimental	13
3.4. Mètodes analítics	14
3.4.1. Paràmetres determinants en les diferents solucions en el bany d'ultrasons	14
3.4.1.1. pH	14
3.4.1.2. Temperatura	15
3.4.1.3. Percentatge de sòlids solubles	15
3.4.2. Determinacions analítiques en la patata	15
3.4.2.1. Matèria seca	15
3.4.2.2. Color	15
3.4.2.3. Determinació de les activitats enzimàtiques polifenol oxidasa i peroxidasa	16
3.5. Anàlisi estadístic	17
<b>4. DISCUSSIÓ I RESULTATS</b>	<b>18</b>
A) Paràmetres determinants en les solucions utilitzades com a bany d'ultrasons	18
4.1. Efecte dels ultrasons en el pH i contingut de sòlids solubles de les solucions	18
4.2. Efecte dels ultrasons en la temperatura de les solucions	19
B) Efectes de la sonicació i les solucions sobre la patata	20
4.3. Efectes dels tractaments sobre la matèria seca	20
4.4. Avaluació dels diferents paràmetres del color (L*, C*, h* i IC)	21
4.5. Efectes de la sonicació i les solucions àcides sobre l'activitat enzimàtica de la polifenol oxidasa i la peroxidasa	25
4.5.1. Efecte dels diferents tractaments en la cinètica de la reacció de la PPO	25
4.5.2. Efecte dels diferents tractaments en la cinètica de la reacció de la peroxidasa	27
4.5.3. Efecte dels diferents tractaments en l'activitat enzimàtica de la polifenol oxidasa i la peroxidasa	29
4.5.4. Efecte inhibidor en l'activitat enzimàtica de les solucions àcides i ultrasons	31
4.6. Correlacions entre l'efecte dels tractaments (ultrasons i solucions àcides) en l'activitat enzimàtica i en el color de la mostra de patata	33
<b>5. CONCLUSIONS</b>	<b>35</b>
<b>6. REFERÈNCIES</b>	<b>36</b>



## Índex de taules

Taula 1. Mecanismes d'inactivació dels ultrasons	3
Taula 2. Aplicacions dels ultrasons d'alta potència en la Indústria Alimentària	5
Taula 3. Factors implicats en l'eficiència dels ultrasons	10
Taula 4. Informació nutricional de la patata <i>Red Pontiac</i>	12
Taula 5. Evolució del pH i percentatge de sòlids solubles per efecte del temps de sonicació i solució utilitzada	18
Taula 6. Evolució de la lluminositat, Chroma i hue en patates tractades i sense tractar amb ultrasons a diferents temps i en diferents solucions	21
Taula 7. Efecte del tractament en els diferents paràmetres del color	22
Taula 8. Efecte del temps de sonicació en els diferents paràmetres del color	22
Taula 9. Evolució de l'índex de color i la diferència de color total en patates tractades i sense tractar amb ultrasons a diferents temps i en diferents solucions	24
Taula 10. Cinètica de la polifenol oxidasa	27
Taula 11. Cinètica de la peroxidasa	29
Taula 12. Activitat enzimàtica deguda a l'efecte del pH o dels ultrasons	32
Taula 13. Evolució de l'absorbància de la POD segons el pH de les solucions	32
Taula 14. Correlacions de Pearson en cada tractament amb ultrasons entre el temps de sonicació i els diferents paràmetres de color	33
Taula 15. Correlacions de Pearson entre el temps de sonicació en els diferents tractaments i diferents paràmetres de color	34

## Índex de figures

Figura 1. Implosió de les bombolles de cavitació	3
Figura 2. Reaccions d'hidroxilació i oxidació sobre compostos fenòlics catalitzades per la PPO	7
Figura 3. Reaccions sobre compostos fenòlics catalitzades per la POD	8
Figura 4. Disseny experimental emprat en aquest treball	14
Figura 5. Evolució de la temperatura al llarg del temps en els diferents tractaments	19
Figura 6. Matèria seca dels diferents tractaments en mostres sonicades durant 20 minuts i en mostres sense tractar	20
Figura 7. Efecte del temps d'aplicació d'ultrasons en l'activitat de la PPO en patata a diferents solucions	26
Figura 8. Efecte del temps d'aplicació d'ultrasons en l'activitat de la POD en patata a diferents solucions	28
Figura 9. Cinètica enzimàtica de l'activitat inicial i final de la PPO i de la POD en cadascun dels temps de sonicació o d'exposició a l'aire (sense tractar)	30
Figura 10. Inhibició de la PPO i POD per efecte del temps de sonicació junt amb els diferents tractaments (solucions àcides)	31



# 1. Introducció

## 1.1. Patata

La patata, botànicament, correspon a l'espècie *Solanum tuberosum*, la qual pertany a la família de les solanàcies i a la subespècie *tuberosum*, àmpliament cultivada per la seva capacitat de formar tubercles en fotoperíodes de dies més llargs (Fálder, 2004).

La patata constitueix un aliment fonamental en la dieta humana però té altres usos com a planta per a farratge per al bestiar i per a usos industrials com a matèria primera per a la indústria del midó i de l'alcohol.

Correspon al quart cultiu mundial en importància per a l'alimentació humana, darrere del blat de moro, el blat i l'arròs. La producció mundial va superar els 380 milions de tones al 2014, ocupant una superfície de 19 milions d'hectàrees. Els principals productors d'aquest tubercle són actualment Xina, la Federació de Rússia i l'Índia (en aquest ordre) que sumen més de la tercera part de la producció mundial.

La producció a Espanya es troba estabilitzada des del 2005 en unes 2.500.000 tones i al voltant de 76.000 hectàrees de cultiu l'any 2014. La producció espanyola està molt per sota de la demanda del mercat, motiu pel qual s'importen unes 600.000 tones ("FAOSTAT", 2014), més del 70% procedent de França.

## 1.2. Descripció tècnica dels ultrasons

Els ultrasons són ones acústiques que posseeixen freqüències que superen el límit d'audició de l'oïda humana (aproximadament 20 Hz).

Els ultrasons provoquen cavitació, procés pel qual les ones es transformen en una forma químicament útil per a ser absorbides per les molècules, d'altra forma no seria possible. Com tots els sons, els ultrasons es propaguen a través d'un medi mitjançant una sèrie d'ones de compressió i expansió (Awad et al., 2012).

Els cicles de compressió ajunten les molècules presents en el medi, mentre que els d'expansió les separen. Els cicles d'expansió poden generar tal pressió com per trencar les forces que uneixen les molècules d'un medi i separar-les, creant així bombolles (o cavitats) que van augmentant al llarg dels cicles, a l'incorporar gasos presents en el medi. El creixement de la bombolla durant els cicles d'expansió és lleugerament superior a l'encongiment durant els cicles de compressió, per tant, al llarg de molts cicles acústics, la bombolla assoleix una mida crítica, podent absorbir l'energia dels ultrasons

de forma efectiva. Seguidament la bombolla adquireix una forma inestable, no pot absorbir més energia i el líquid del medi entra de forma violenta a la bombolla, produint així una implosió, tal com es pot veure a la Figura 1.

La ràpida compressió dels gasos i vapors dins de la bombolla genera temperatures i pressions elevades (de fins a 5000 °C i 1000 atm). Les bombolles són molt petites en comparació amb el líquid que les envolta, per tant la calor generada es dissipa molt ràpidament, mantenint així inalterades les condicions ambientals (Angurell et al., 2014).

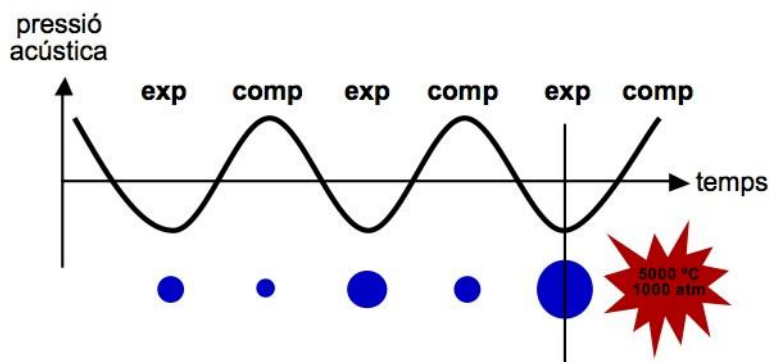


Figura 1. Implosió de les bombolles de cavitació  
Font: Angurell et al., 2014

Els mecanismes d'acció dels ultrasons es classifiquen en tèrmics (generació d'energia calòrica o mecànica) i no tèrmics (cavitació, rarefacció, formació de radicals lliures, xocs micromecànics i forces de radiació) (Taula 1).

Taula 1  
Mecanismes d'inactivació dels ultrasons

Teoria	Mecanisme	Aplicacions	Referència
<b>Cavitació</b>	Expulsió mecànica per irrupció, a través de les bombolles localitzades amb altes temperatures (5500 °C) i pressions (500 MPa).	Processos de desinfecció, lisi cel·lular, bactericida i inactivació enzimàtica.	Piyasena et al. (2003)
<b>Formació de radicals lliures</b>	Sonòlisi <sup>1</sup> de l'aigua pot produir ions (OH <sup>-</sup> i H <sup>+</sup> ) i peròxid d'hidrogen.	Inactivació microbiana i enzimàtica.	O'Donnell et al. (2010)
<b>Xocs mecànics intracel·lulars</b>	Ruptura de les cèl·lules i disminució del gruix de les parets cel·lulars.	Lisi cel·lular, inactivació enzimàtica i efecte antimicrobià.	O'Brien (2007) i Piyasena et al. (2003)
<b>Generació d'energia calòrica i mecànica</b>	Propagació de l'ona, decreix amb la distància al ser aplicat en un material. La part que és absorbida es tradueix en calor.	Inactivació microbiana.	O'Brien (2007)
<b>Força de radiació</b>	Moviment o vibració local d'un teixit per força de radiació acústica.	Anàlisis clínics.	Delgado (2011)
<b>Compressió i rarefacció</b>	Microcorrent acústica.	Inactivació microbiana i enzimàtica.	O'Donnell et al. (2010)

<sup>1</sup> Sonòlisi: descomposició d'una substància per acció d'ones sonores.

Els ultrasons són una de les tecnologies d'ús creixent desenvolupades com a alternativa a les operacions convencionals per tal de minimitzar el processat, maximitzar la qualitat i garantir la seguretat dels productes alimentaris.

### 1.3. Aplicacions dels ultrasons d'alta energia en la Indústria Alimentària

Les aplicacions dels ultrasons en el processat, anàlisi i control de qualitat dels aliments es poden donar de tres formes (Robles i Ochoa, 2012):

- Aplicació directa al producte.
- Acoblada a un dispositiu.
- Submergit en un bany ultrasònic, com és el cas del present treball.

D'altra banda les ones d'ultrasons poden ser classificades en dos grups segons el rang de freqüència:

- Els ultrasons de **baixa energia** (o baixa potència o intensitat) tenen unes freqüències superiors a 100 kHz a intensitats per sota de 1 W/cm<sup>2</sup>. El principal mecanisme són els corrents acústics<sup>2</sup> que corresponen al moviment i barreja del fluid sense formació de bombolles. Són usats com a mètodes analítics no destructius o per monitorar diversos materials alimentaris durant el seu processat i emmagatzematge, per tal d'assegurar la seva seguretat i l'alta qualitat (Awad et al., 2012).
- Per altra banda, els ultrasons d'**alta energia** (o alta potència o intensitat) utilitzen unes freqüències entre 20 i 100 kHz a intensitats superiors a 1 W/cm<sup>2</sup>, indueixen una cavitació acústica a causa de la generació, creixement i col·lapse de grans bombolles, que causa l'alliberació d'altres energies (Cárcel et al., 2012).

Els efectes químics dels ultrasons no ocorren d'una interacció directa amb les espècies moleculars, però sí a partir del fenomen de cavitació acústica, és a dir, de la formació, creixement i col·lapse implosiu de cavitats (bombolles de gas) en líquids, fent que s'alliberin grans quantitats d'energia molt localitzada.

Existeixen dubtes respecte el potencial dany oxidatiu associat als radicals lliures formats durant la sonicació. Segons Yeoh i Ali (2017), la sonicació és un desavantatge per a la preservació dels fenols però pot millorar l'eficiència com a antioxidant dels flavonoides. A més a més, es va comprovar que l'oxidació causada pels radicals lliures pot ser beneficiosa per alguns tipus de xocolata i perjudicial per altres.

<sup>2</sup> Corrent acústic: Corrent circular de fluids cel·lulars induïda pels ultrasons, proporcionalment superiors als microcorrents. Alteren l'activitat cel·lular al transportar materials des d'una part del camp d'ultrasons a una altra.

En les aplicacions on els radicals lliures tenen efectes nocius, es prefereix l'ús d'altres freqüències perquè tant el nombre de bombolles com el nombre de radicals lliures es veuen reduïts. Una altra forma és afegint desactivadors de radicals com l'etanol o l'àcid ascòrbic. És important doncs, adonar-se que els ultrasons d'alta energia, no són una tecnologia estàndard. La relació entre la duració, intensitat i freqüència de les ones d'ultrasons i els seus efectes (en les propietats tecnològiques i funcionals) en els aliments s'han de tenir molt en compte per a cada aplicació (Yeoh i Ali, 2017).

Algunes aplicacions dels ultrasons d'alta energia en la ciència i tecnologia dels aliments es poden veure a la llista de la Taula 2.

Taula 2  
*Aplicacions dels ultrasons d'alta energia en la Indústria Alimentària*

<b>Aplicació</b>	<b>Mecanisme</b>	<b>Avantatges/beneficis</b>
<b>Extracció</b>	L'energia generada pel col·lapse de les bombolles de cavitació produeix una millor penetració del dissolvent en el material cel·lular i millora la transferència de massa.	Augment de l'eficiència d'extracció i del rendiment del dissolvent.
<b>Emulsió o homogeneïtzació</b>	Si una bombolla de cavitació col·lapsa prop de la superfície de la capa límit de dos líquids immiscibles, l'ona de xoc provoca la barreja de les dues capes, formant emulsions fines i estables.	Formació rentable de l'emulsió. Aquest procés pot ser instal·lat en línia.
<b>Cristal·lització</b>	Nucleació i modificació de la formació de cristalls. S'usa per controlar la mida i la velocitat de formació de cristalls de gel en aliments congelats.	Formació de petits cristalls, de mida uniforme que redueixen considerablement el dany cel·lular i la integritat del producte.
<b>Filtració</b>	Els ultrasons produeixen vibració per mantenir les partícules en suspensió i moviment, deixant canals oberts i lliures en el filtre per a l'elució del dissolvent.	Prolongació de la vida útil del filtre degut a la contínua cavitació en la superfície del filtre que evita l'obstrucció d'aquest.
<b>Separació</b>	Els ultrasons condueixen la fase dispersa als nodes o antinodes del camp estacionari, mantenint així les gotes en posició i unides.	Auxiliar d'ús en procediments de separació no químics.
<b>Alteració de la viscositat</b>	Modificació sonoquímica que implica formació de xarxes i reestructuració.	Augmentar o disminuir la viscositat i donar efecte temporal o permanent.
<b>Antiespumant</b>	Ones aèries de pressió que causen el col·lapse de bombolles.	Reducció o eliminació de productes químics antiespumants.
<b>Extrusió</b>	Vibració mecànica, reducció de fricció.	Redueix la resistència i millora el comportament del flux. Increment del rendiment.
<b>Inactivació enzimàtica i microbiana</b>	Augment de la transferència de calor i d'alta cisalla. Dany cavitacional directe en les membranes cel·lulars microbianes.	Inactivació enzimàtica per millorar els atributs de qualitat. A temperatures elevades (> 50 °C), es debilita la membrana bacteriana i augmenta l'efecte de la cavitació deguda als ultrasons. Preservació qualitat (propietats fisicoquímiques, color i sabor) dels productes.
<b>Fermentació</b>	Els ultrasons usats com desgasificant, expulsen el CO <sub>2</sub> (produït durant la fermentació) que normalment inhibeix la fermentació.	Augment de la producció de metabòlits i acceleració dels processos fermentatius.
<b>Transferència de calor</b>	Millor transferència de calor a través de corrents acústics i cavitació.	Acceleració de l'escalfament, refrigeració i assecat de productes a temperatura baixa. Conservació de la integritat del producte.

Font: Adaptació de Patist i Bates, 2008

## 1.4. Activitat enzimàtica

La pasteurització i l'esterilització són les tècniques més comunes per inactivar els microorganismes i enzims en productes alimentaris. No obstant això, aquests tractaments tenen una sèrie d'efectes indesitjables en quant a pèrdua de nutrients, desenvolupament de gustos indesitjables i deteriorament de les propietats funcionals i organolèptiques del producte final.

El blanqueig és un altre procés emprat en la inactivació enzimàtica per tal de reduir o evitar l'enfosquiment enzimàtic, normalment va acompanyat d'una pèrdua de fermesa i altres atributs de qualitat, tals com nutrients, *flavors* i colors (Alvarez, Morillo i Canet, 2000).

Totes les matèries primeres contenen diferents enzims que segueixen sent actius en la postcollita, fins que s'ha consumit tot el substrat o fins que l'enzim és desnaturalitzat per un tractament (variació pH, escalfament, addició de certs compostos químics, etc.).

L'activitat enzimàtica pot augmentar durant l'emmagatzematge a causa de la destrucció de les estructures cel·lulars que separen als enzims dels seus substrats. Com per exemple, l'estovament dels tomàquets s'accelera després d'una maduració òptima, a causa de l'augment de l'activitat enzimàtica. La macadura o el tall d'una fruita o hortalissa produeixen un enfosquiment ràpid a causa de les polifenol oxidases. Una pell intacta és una de les millors proteccions contra l'enfosquiment. Elevades quantitats de fruita es perden a causa d'un maneig, transport o emmagatzematge inadequats, causats per l'activitat d'enzims endògens o exògens, procedents dels microorganismes adherits. De tal manera que es redueix el valor comercial o inclús es pot arribar a la seva inacceptabilitat per al consumidor (Fennema, Srinivasan i Parkin, 2008).

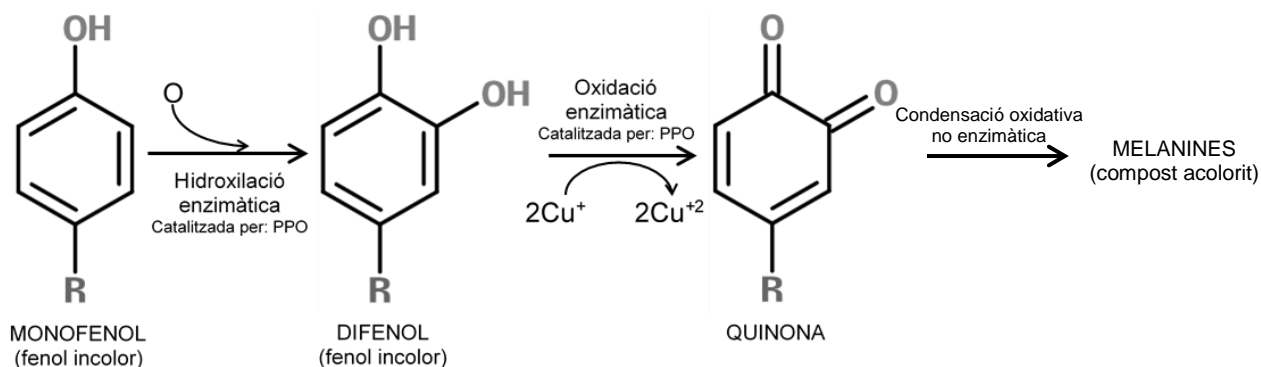
L'enfosquiment enzimàtic és causat per la oxidació dels fenols catalitzada per l'enzim polifenol oxidasa (PPO) amb la consegüent formació de components foscos. Aquest fenomen limita la vida útil de les fruites i verdures fresques, principalment després del tall, ja que provoca una pèrdua de qualitat visual indesitjable pels consumidors. Per reduir o eliminar l'activitat enzimàtica s'ha d'eliminar un o més substrats o cofactors.

Els principals enzims responsables de l'enfosquiment enzimàtic són la polifenol oxidasa (PPO) i la peroxidasa (POD).



### 1.4.1. Polifenol oxidasa (PPO)

Localitzada en els plastidis i cloroplasts (en vegetals superiors) i també en el citoplasma cel·lular, la PPO catalitza la formació de *o*-quinones amb dues reaccions diferents (o activitats enzimàtiques): la hidroxilació de monofenols a difenols i l'oxidació de difenols a quinones (Cefola et al., 2012), tal com es mostra a la Figura 2.



*Figura 2.* Reaccions d'hidroxilació i oxidació sobre compostos fenòlics catalitzades per la PPO.  
 Font: Adaptació de Queiroz et al. (2008), García et al. (2006) i Gacche et al. (2002).

La característica estructural més important és la presència de dos àtoms de coure en el seu centre actiu, cadascun d'ells units a tres histidines. En el seu entorn se situen una sèrie d'aminoàcids hidrofòbics amb anells aromàtics, els quals són importants per a la unió amb els substrats (monofenols o difenols).

Hi ha diferents mètodes per evitar l'enfosquiment de la polifenol oxidasa (Fennema et al., 2008), com ara:

- Eliminant el  $\text{O}_2$ , succeeix eficaçment per la permeabilitat selectiva natural de la majoria de fruites i verdures.
- Eliminant o alterant els fenols (substrats).
- Reduint el producte inicial, per formar de nou el substrat abans que es pugui oxidar, implicant així la formació de melanina (compost acolorit).

Entre els compostos que redueixen la *o*-benzoquinona, es troben l'àcid ascòrbic i els compostos tiòlics. Aquests compostos poden inactivar directament la PPO per la degradació de restes d'histidina o l'eliminació del  $\text{Cu}^{2+}$ , ambdós de la zona activa de l'enzim.

- L'efecte de l'ús de les solucions àcides combinades amb els ultrasons sobre l'activitat de la monofenolasa i la difenolasa, inactivant així l'activitat de la PPO en l'emmagatzematge de vegetals i fruites, contrastat amb l'aplicació individual dels ultrasons o de la solució àcida que no inactiva aquest enzim (Islam, Zhang, i Adhikari, 2014).

Segons Robinson i Eskin (1991), el pH òptim per la PPO en patates és entre 5,0 i 7,0, generalment a pH inferiors a 4,0 s'inactiva aquesta activitat, donant així un mètode per controlar les reaccions d'enfosquiment. Els perfils de pH enfront l'activitat poden variar amb el cultivar<sup>3</sup>, l'estat de maduració, la puresa de l'enzim i la naturalesa del substrat fenòlic. La PPO es considera un enzim de baixa estabilitat tèrmica, tractaments tèrmics a 70-90 °C de duració relativament curta són suficients per reduir i/o eliminar completament l'activitat d'aquest enzim en productes vegetals. En contrast, cal dir que l'enzim és estable durant l'emmagatzematge a temperatures sota zero.

#### 1.4.2. Peroxidasa (POD)

Les peroxidases (PODs) estan àmpliament distribuïdes en plantes, el seu rol en l'enfosquiment enzimàtic en aliments i vegetals és qüestionable, ja que el nivell intern de peròxid d'hidrogen en plantes limita l'activitat de les mateixes peroxidases.

La POD, a diferència de la polifenol oxidasa (Figura 2), realitza la oxidació d'un sol electró en una àmplia varietat de compostos en presència de peròxid d'hidrogen, mostrat en la Figura 3.

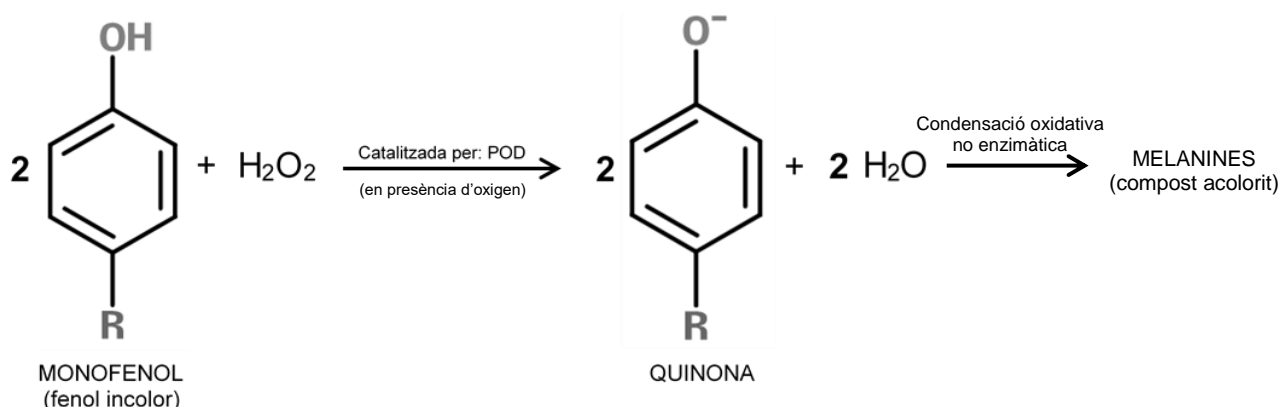


Figura 3. Reaccions sobre compostos fenòlics catalitzades per la POD.  
Font: Adaptació de Gacche et al. (2002).

El principal agent responsable de l'enfosquiment enzimàtic en fruits i vegetals és la PPO, tot i que pot haver-hi un possible efecte sinèrgic entre la PPO i la POD.

La presència d'un antioxidant té un efecte sinèrgic en la inactivació enzimàtica mitjançant ultrasons. L'efecte del tractament combinat dels ultrasons amb un àcid com és l'ascòrbic, pot inactivar la peroxidasa durant l'emmagatzematge de vegetals i fruites, mentre que els ultrasons aplicats de forma independent no mostren cap efecte per inactivar aquest enzim.

<sup>3</sup> Cultivar: En la pràctica és el mateix que varietat cultivada.

La velocitat d'inactivació de la peroxidasa decreix constantment amb l'increment del valor del pH. A pH inferiors a 5, els radicals lliures generats durant la cavitació ultrasònica reaccionen ràpidament amb els residus d'aminoàcids funcionals situats a les zones actives de la peroxidasa. Per tant, els radicals lliures juguen un paper principal en la inactivació d'aquest enzim (Islam et al., 2014).

Les peroxidases generalment tenen un pH òptim en el rang de 4,0-6,0, aquest pH òptim normalment és dependent del substrat. Les POD es troben entre els enzims més estables al calor en teixits vegetals, aquesta característica afavoreix el seu ús com a indicadors de blanqueig. La temperatura òptima es troba en el rang dels 40-50 °C, l'efecte de la temperatura varia amb l'hoste. L'estabilitat tèrmica és més alta que no pas en la polifenol oxidasa, la completa inactivació de la peroxidasa requereix diversos minuts d'exposició a 80-100 °C. Aquesta estabilitat tèrmica generalment decreix al disminuir el rang de pH a 3,0-7,0 (Fennema et al., 2008).

#### 1.4.3. Inactivació enzimàtica mitjançant ultrasons

La inactivació enzimàtica mitjançant ultrasons és el resultat de la desnaturalització de les proteïnes, ja sigui per forces de cisalla resultants de la formació i col·lapse de les bombolles de cavitació o per la formació de radicals lliures formats durant la sonòlisi (descomposició) de les molècules d'aigua.

La inactivació enzimàtica s'incrementa a l'augmentar la potència dels ultrasons, la freqüència, la intensitat de cavitació, la temperatura i la pressió del procés, però disminueix quan el volum a tractar augmenta (Gómez i López, 2009).

L'eficiència de la inactivació enzimàtica mitjançant els ultrasons depèn de diversos factors, presentats a la Taula 3.

Taula 3  
Factors implicats en l'eficiència dels ultrasons

Factor	Procés	Resultats
<b>Potència US</b>	Manotermosonicació a 20 kHz i diferents temperatures i pressions (70 °C/200 kPa i a 130 °C/500 kPa)	La producció de radicals lliures (OH <sup>-</sup> ) es veu incrementada a 70 °C mentre que a temperatures superiors és mínima.
	Sacarificació enzimàtica	Hidròlisi eficaç amb l'augment d'intensitats ultrasòniques.
<b>Temperatura</b>	Digestió ultrasònica	Augment del nombre de pèptids a l'incrementar la temperatura.
	Inactivació enzimàtica	A l'augmentar la temperatura augmenta la taxa d'inactivació.
	Producció de radicals lliures	A l'augmentar la temperatura disminueix la producció de radicals lliures.
<b>Temps</b>	Inactivació enzimàtica	L'activitat decreix amb el temps de sonicació.
	Hidròlisi enzimàtica	Amb l'augment del temps de sonicació, es redueix el temps d'hidròlisi.
<b>Freqüència</b>	Inactivació enzimàtica en buffer fosfat	Major energia d'activació en ultrasons de baixa freqüència.
<b>pH</b>	Degradació ultrasònica	Taxa de degradació disminueix amb l'increment de pH.
	Manotermosonicació enzimàtica	Efecte sinèrgic de la calor i els ultrasons és superior a pH àcids.
	Inactivació enzimàtica	A pH baixos, 4,0-5,0, l'activitat es veu reduïda i hi ha màxima inactivació, mentre que a pH superiors a 5,0 no té efecte.
	Inactivació enzimàtica en solucions buffer, pH 4,0-11,0 per sonicació	Alta cinètica d'inactivació a pH < 6,0 i pH > 9,0.
<b>Antioxidant</b>	Inactivació enzimàtica	L'antioxidant disposa la inactivació de l'enzim tant a alta com a baixa freqüència.
	Inactivació enzimàtica amb àcid ascòrbic (1%)	El tractament combinat inactiva l'activitat de la PPO i POD.
<b>Radicals lliures</b>	Inactivació i agregació enzimàtica	Els radicals lliures formats durant la cavitació no afecten l'estructura de tots els enzims.
	Inactivació enzimàtica	Els radicals lliures estan relacionats en la inactivació ultrasònica dels enzims en solucions aquoses.

Font: Adaptació de Islam et al., 2014.

L'equip de recerca *ALIMen* del DEAB ha estat treballant en projectes relacionats amb ultrasons, els resultats es veuen reflectits en diferents articles publicats. S'han estudiat l'efecte dels ultrasons en diferents àmbits, no només a nivell d'activitat enzimàtica sinó també la seva repercussió en altres paràmetres (textura, color, etc.) o com l'aplicació d'altres mètodes cocció (com és el *Sous Vide*) pot tenir repercussions en la qualitat final del producte. Amaral et al. (2017) afirma que el blanqueig inhibeix millor l'activitat enzimàtica que no pas els ultrasons. No obstant, l'efectivitat dels ultrasons depèn de la freqüència i potencial utilitzat, el tipus de microorganisme o enzim a tractar, el pH, la temperatura i la fruita o el vegetal emprat.

En altres treballs realitzats (Amaral et al., 2014) s'ha observat que l'efecte dels ultrasons depèn del temps d'aplicació i de si s'utilitzen o no combinats amb solucions àcides en el bany d'ultrasons. S'afirma que els ultrasons tenen un efecte inhibitori menor respecte al blanqueig però fan que es mantinguin propietats sensorials superiors.

## 2. Objectius

El principal objectiu d'aquest estudi és avaluar l'eficiència de l'ús de banys d'ultrasons (42 kHz i 130 W) amb aigua o diferents solucions àcides com a tècnica per a reduir l'enfosquiment enzimàtic en patata (*Solanum tuberosum*) tallada.

Objectius específics:

- Determinar l'efecte del temps d'exposició (2, 5, 10 i 20 minuts) dels ultrasons en la inhibició dels enzims polifenol oxidasa i peroxidasa.
- Determinar l'efecte de les solucions emprades en el bany d'ultrasons en la inactivació de la polifenol oxidasa i peroxidasa.
- Comprovar l'efecte dels ultrasons i solucions sobre el color ( $L^*$ ,  $C^*$ ,  $h^*$  i IC) de la patata tallada.
- Establir correlacions entre els diferents paràmetres estudiats.

### 3. Materials i mètodes

#### 3.1. Material vegetal

S'han utilitzat patates de la varietat *Red Pontiac* d'origen francès, adquirides en un supermercat de la zona. Les patates emprades en aquest estudi procedeixen del lot L.8236481001 i es presenten en paquets de 3 kg de pes net, escollits de forma aleatòria. El seu calibre oscil·la entre 50/80 mm, la data d'envasat és del 28-02-17 i van ser distribuïdes per MERCABARNA. El color de la pell és vermellós mentre que l'interior és blanc-groguenc.

En cada paquet es declara la informació nutricional del producte indicada a la Taula 4.

Taula 4  
*Informació nutricional de la patata Red Pontiac*

<b>Informació nutricional</b>	
<b>Valors mitjans per:</b>	<b>100 g</b>
Valor energètic	321 kJ (77 kcal)
Greixos	0,1 g
Dels quals saturats	0 g
Hidrats de carboni	17,5 g
Dels quals sucres	0,8 g
Fibra alimentària	2,2 g
Proteïnes	2 g
Sal	0,02 g

Des de la compra fins al processat han estat emmagatzemades en un lloc fresc i fosc per evitar que enverdeixin, per tant que s'amarguin, o germinin. En cap cas l'emmagatzematge ha durat més de 20 dies a una temperatura de  $18 \pm 2$  °C.

Cada patata ha sigut rentada i pelada de forma manual i tallada en petites tires (1 cm × 1 cm × 6 cm) amb l'ajuda d'una talladora. Les pells, trossos massa petits del tubercle i zones marrons han estat eliminades, mentre les tires de mida correcta han estat submergides en aigua destil·lada fins al seu ús en el bany d'ultrasons, mai superant la mitja hora de repòs.

### 3.2. Equip d'ultrasons

L'equip d'ultrasons utilitzat correspon a un sonicador *Branson 2510* d'una capacitat de 2,8 L i unes dimensions del tanc de 24,2 cm × 14,6 cm × 10,1 cm amb una potència de 130 W i una freqüència de 42 kHz.

L'aparell està dissenyat amb un exterior de polipropilè amb controls resistents a líquids, el tanc en canvi, és d'acer inoxidable i compta amb una cistella de malla per a col·locar la mostra. La peça clau en qualsevol aparell d'ultrasons és el transductor, un component electromecànic encarregat de generar els ultrasons, és a dir, transforma l'energia elèctrica en mecànica i produeix les vibracions en el bany, tot generant cavitació.

El tanc és emplenat amb 2 L d'aigua destil·lada o amb les diferents solucions àcides assajades (àcid cítric 1%, àcid ascòrbic 1% i àcid cítric + ascòrbic 1:1 a l'1%) i amb la cistella de malla col·locada, s'hi submergeixen 100 g de mostra de patata, que és sonicada durant 2, 5, 10 i 20 minuts.

### 3.3. Disseny experimental

S'han utilitzat un total de 10 kg de patates *Red Pontiac*.

La relació de patata/solució que s'ha emprat per fer els diferents tractaments ha sigut 1/8 aproximadament, és a dir 250 g de patata en 2 L de solució en el bany d'ultrasons. Per cada temps d'exposició s'han realitzat 3 rèpliques.

Cada tractament (aigua o solucions àcides) combinat amb diferents temps de sonicació (2, 5, 10 i 20 minuts), s'ha fet per triplicat.

A continuació, a la Figura 4, es troba representat el diagrama de flux que indica el procés realitzat durant tot el procés experimental del treball.

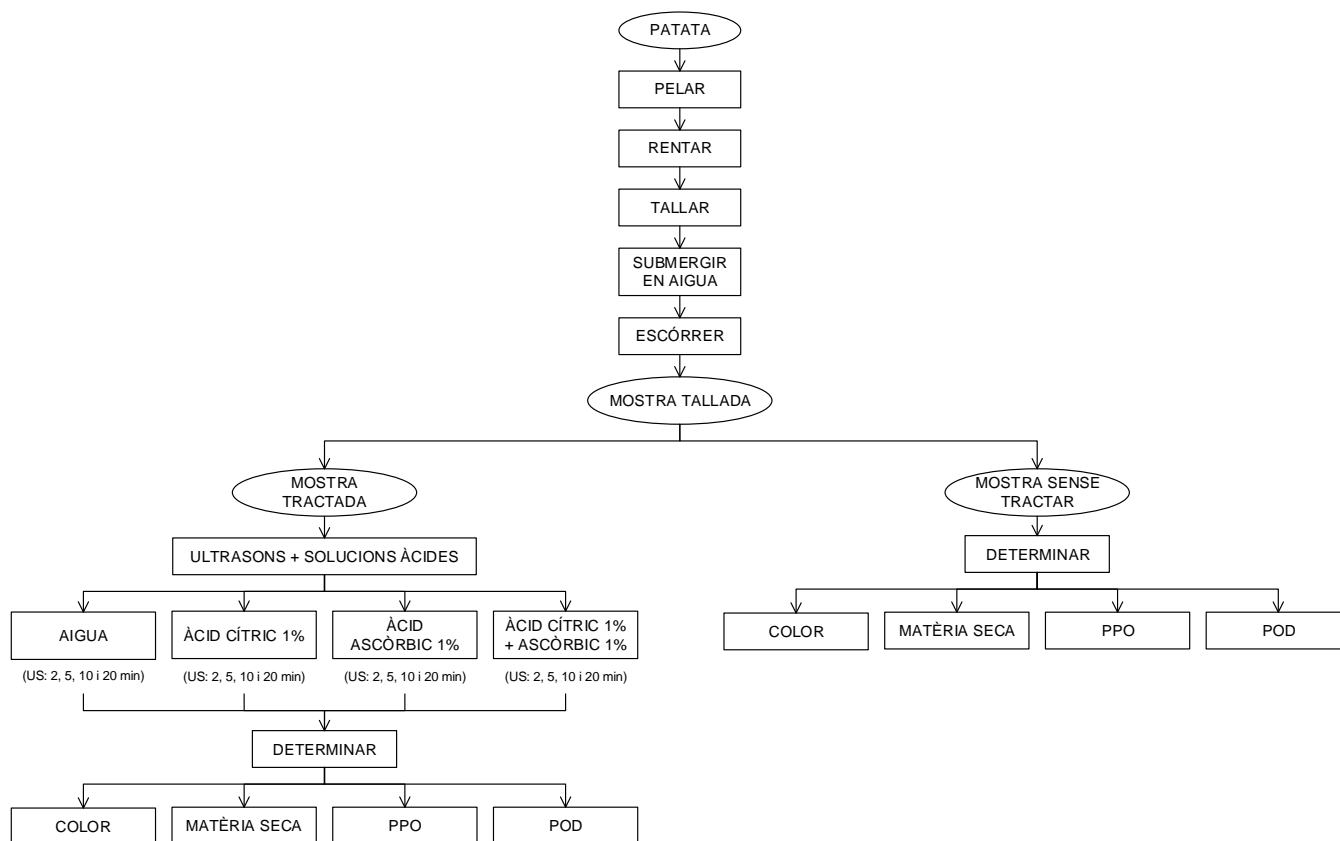


Figura 4. Disseny experimental emprat en aquest treball. US = Ultrasons.

En el cas de la mostra tractada, en cada solució utilitzada s'ha mesurat el pH, la temperatura i el contingut de sòlids solubles del bany d'ultrasons.

La mostra sense tractar és la que s'utilitzarà com a control per calcular la inhibició enzimàtica produïda pels diferents tractaments.

### 3.4. Mètodes analítics

#### 3.4.1. Paràmetres determinants en les diferents solucions emprades en el bany d'ultrasons

##### 3.4.1.1. pH

La mesura del pH s'ha dut a terme tant en les solucions àcides inicials com en cada temps assajat amb ultrasons. Es fa servir l'aparell *pH-METER CRISON BASIC 20 i GLP 22* amb una sonda *CRISON 52-01*, calibrat diàriament. S'ha fet una mesura del pH abans de l'assaig i després de cada temps d'exposició als ultrasons.



### 3.4.1.2. Temperatura

La temperatura és controlada amb un termòmetre d'alcohol. S'ha fet un seguiment de la temperatura de cada solució per cada temps de sonicació.

### 3.4.1.3. Percentatge de sòlids solubles

Els sòlids solubles presents en les diferents solucions després de la sonicació s'han mesurat amb un refractòmetre digital *ATAGO Pocket PAL-1* d'ampli rang (0,0 a 53,0 ± 0,2% Brix), calibrat diàriament amb aigua destil·lada.

## 3.4.2. Determinacions analítiques en la patata

### 3.4.2.1. Matèria seca

S'han assecat 10 ± 0,001 g de mostra fresca de patata sonicada per cadascun dels temps estudiats. Les mostres s'han assecat a una estufa de convecció natural *DIGITHEAT J.P. Selecta, S.A.* a 65 °C durant aproximadament 24 hores fins a pes constant. Els resultats s'expressen en % MS. Per cada experiment realitzat, s'han fet 2 rèpliques.

### 3.4.2.2. Color

La determinació del color es realitza mitjançant un colorímetre *Minolta CR-400* seguint el sistema d'espai de color *CIELab*.

L'espai de color CIE  $L^*a^*b^*$  permet als usuaris avaluar els atributs de color de forma precisa en termes numèrics (Konica Minolta Sensing, 2003). L'espai de color CIE  $L^*C^*h^*$  utilitza el mateix diagrama de color que l'anterior però amb coordenades cilíndriques en compte de rectangulars. Així doncs, es permet calcular els valors de Chroma mètrica ( $C^*$ ), angle de to mètric ( $h^*$ ) i Índex de Color (IC) a partir de les coordenades de cromaticitat  $a^*$  i  $b^*$ .

Al classificar els colors, es poden expressar en termes de  $L^*$  o lluminositat, que indica brillantor,  $C^*$  que representa la saturació (intensitat o vividesa) i  $h^*$  que és l'angle de matís (profunditat de color). El paràmetre  $\Delta E^*$  correspon a la diferència de color total, és la comparació numèrica del color de les mostres amb l'estàndard.

Les coordenades cromàtiques s'han emprat per calcular els paràmetres anteriors, sent  $a^*$  les coordenades vermell/verd (+a indica vermell, -a indica verd) i  $b^*$  les coordenades groc/blau (+b indica groc, -b indica blau).

$$\text{Chroma: } C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$$

$$\text{hue: } h^* = \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right)$$

$$\text{Índex de color: } IC^* = \frac{a^* \cdot 1000}{L^* \cdot b^*}$$

Les mesures s'han dut a terme immediatament després de la sonicació, per evitar així l'exposició prolongada de la mostra a l'oxigen que pot provocar enfosquiment, no desitjable en la mesura de color. Han estat analitzades 6 lectures de color per cada temps d'exposició als ultrasons i per cadascuna de les 3 rèpliques efectuades.

#### 3.4.2.3. Determinació de les activitats enzimàtiques polifenol oxidasa i peroxidasa

S'han utilitzat diferents solucions àcides conjuntament amb els ultrasons com a possibles agents inhibidors de l'activitat enzimàtica:

- Àcid cítric 1% (pH 1,7).
- Àcid ascòrbic 1% (pH 2,4).
- Solució barreja dels àcids cítric 1% i ascòrbic 1% en proporció 1:1 (pH 2,2).
- Aigua destil·lada (pH 6,2) com a sonicació control.

Un cop acabada la sonicació de les mostres fresques, es van emmagatzemar a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  fins al seu ús per fer l'anàlisi de la PPO i POD.

Per fer l'anàlisi, s'ha agafat la mostra congelada, s'ha tallat i triturat i immediatament es pesen  $3 \pm 0,001$  g. A continuació s'homogeneïtza amb 18mL de buffer sodi-fosfat (tampó *Mcllvaine buffer* 50mM, pH 5,0 que conté 50 g/L de polivinilpirrolidona) durant 2 minuts. Un cop homogeneïtzada la mostra, es centrifuga durant 20 minuts a 9500 RPM a una temperatura de  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Al finalitzar, es filtra la solució i l'extracte es recull en tubs *FALCON* de 50 mL. Els extractes es mantenen en refrigeració (si s'utilitza immediatament) o en congelació a  $-18 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ , fins al seu ús.

En cada extracte es determina la PPO i la POD mesurant l'absorbància de la reacció colorimètrica corresponent.

Per a la **polifenol oxidasa** (PPO) es col·loquen en una cubeta 1200  $\mu\text{L}$  d'extracte, 1000  $\mu\text{L}$  de buffer sodi-fosfat 50mM i 200  $\mu\text{L}$  de catecol 20 mM. Una vegada barrejats els reactius, es fa una lectura cada 30 segons, durant 10 minuts a una absorbància  $\lambda = 410$  nm.

Per a la **peroxidasa** (POD) s'utilitzen 1200  $\mu\text{L}$  d'extracte, 1000  $\mu\text{L}$  de guaiacol 40 mM i 400  $\mu\text{L}$  de peròxid d'hidrogen 26 mM, fent una lectura cada 30 segons, durant 10 minuts a una absorbància  $\lambda = 420$  nm.

Simultàniament es fa un blanc per a cada activitat, substituint l'extracte de la mostra pel mateix volum d'aigua destil·lada.

Per calcular l'activitat enzimàtica es té en compte que una unitat d'activitat enzimàtica equival a 0,001 unitats d'absorbància per minut.

S'ha emprat la següent equació (Manohan i Wong, 2012) per calcular el percentatge d'inhibició de l'activitat de la PPO i POD per efecte de les diferents solucions emprades i/o a la sonicació:

$$\text{Inhibició (\%)} = \left[ \frac{A_0 - A_1}{A_0} \right] \cdot 100$$

On la  $A_0$  és l'activitat inicial de la mostra sense tractar i  $A_1$  és l'activitat inicial de la mostra tractada, ambdós a cada temps d'exposició; la primera a l'aire i la segona amb ultrasons conjuntament amb el tractament.

### 3.5. Anàlisi estadístic

Amb els valors obtinguts s'ha fet un tractament estadístic utilitzant el programari *Minitab 17 Statistical Software*, el nivell de significació en tots els casos ha estat de  $\alpha = 0,05$ .

S'han realitzat anàlisis de variància (ANOVA) d'un factor en el cas de la matèria seca enfront del temps de sonicació i anàlisi de model lineal general (GLM) tant en els paràmetres de color com en els de l'aigua i les diferents solucions del bany d'ultrasons; pH, temperatura i sòlids solubles, enfront els diferents tractaments i temps de sonicació.

En el cas dels valors significatius, s'ha utilitzat la prova de comparació múltiple de Tukey amb un nivell de confiança del 95%, per observar les diferències entre tractaments i temps de sonicació.

S'ha fet un anàlisi de correlacions de Pearson per veure quins paràmetres afecten linealment a altres amb un nivell de significació de 0,05.

## 4. Resultats i discussió

A continuació es detallen els resultats obtinguts com a mitjana de tres rèpliques de mostres a diferents tractaments i temps i dels diferents paràmetres avaluats en les solucions emprades en el bany d'ultrasons. Es considera com a tractament cadascuna de les solucions presents en el bany d'ultrasons, sigui l'aigua o les solucions àcides a pH conegut.

### A) Paràmetres determinants en les solucions utilitzades com a bany d'ultrasons

#### 4.1. Efecte dels ultrasons en el pH i contingut de sòlids solubles de les solucions

Respecte a l'efecte dels tractaments, el primer que s'ha fet ha sigut avaluar les variacions de pH, % sòlids solubles i temperatura que van patir les diferents solucions a l'aplicar els ultrasons durant diferents temps d'exposició (Taula 5).

Taula 5  
Evolució del pH i percentatge de sòlids solubles per efecte del temps de sonicació i solució utilitzada

	Tractament	Temps de sonicació (min)									
		0		2		5		10		20	
<b>pH</b>	Aigua	6,37 ± 0,44	A a	6,01 ± 0,37	A a	5,75 ± 0,45	A a	5,67 ± 0,47	A a	5,68 ± 0,40	A a
	Cítric	1,74 ± 0,02	D a	1,74 ± 0,04	D a	1,78 ± 0,03	D a	1,77 ± 0,01	D a	1,79 ± 0,02	D a
	Ascòrbic	2,38 ± 0,12	B a	2,33 ± 0,11	B a	2,41 ± 0,12	B a	2,44 ± 0,11	B a	2,45 ± 0,12	B a
	Cítric i ascòrbic	2,22 ± 0,04	C a	2,14 ± 0,02	C a	2,11 ± 0,02	C a	2,06 ± 0,03	C a	2,01 ± 0,02	C a
<b>% Sòlids solubles</b>	Aigua	-		-		-		-		-	
	Cítric	1,2 ± 0,1	B a	1,1 ± 0,1	C ab	1,1 ± 0,1	B ab	1,1 ± 0,1	B ab	1,0 ± 0,0	B b
	Ascòrbic	1,3 ± 0,1	B a	1,3 ± 0,0	B ab	1,3 ± 0,1	B ab	1,2 ± 0,1	B ab	1,2 ± 0,1	B b
	Cítric i ascòrbic	2,1 ± 0,2	A a	2,1 ± 0,1	A ab	2,1 ± 0,0	A ab	2,1 ± 0,0	A ab	2,1 ± 0,0	A b

**Nota.** Concentració solucions àcides de l'1%, en el cas de la barreja d'àcids, es troben en proporció 1:1. Els valors de les mitjanes ± desviació estàndard (n = 15) que no comparteixen lletra són significativament diferents (p < 0,05). Lletres majúscules indiquen diferències significatives a nivell de tractament i minúscules a nivell de temps de sonicació.

La mostra amb aigua destil·lada és el que presenta inicialment un valor de pH superior (pH = 6,37) mentre que la solució de l'àcid cítric a l'1% és la que presenta un pH més baix (pH = 1,64). La barreja d'àcid cítric 1% + ascòrbic 1% comporta una pujada de pH de la solució. Els valors de pH són diferents significativament (p < 0,05) a nivell de solució (tractament), però no s'han trobat diferències significatives a nivell de temps d'exposició als ultrasons aplicats dins d'un mateix tractament (Taula 5).

En el cas dels sòlids solubles (Taula 5), només es troben diferències significatives (p < 0,05) a nivell de temps de sonicació entre temps inicial i temps final (20 minuts) i a nivell

de tractament; entre la barreja del cítric + l'ascòrbic que presenta un percentatge de sòlids solubles superior a la resta de solucions.

#### 4.2. Efecte dels ultrasons en la temperatura de les solucions

La temperatura del bany, i per tant de les mostres, es veu afectada significativament ( $p < 0,05$ ) pels diferents tractaments i temps de sonicació. A l'aplicar els ultrasons es produeix cavitació, per aquest motiu en tots els tractaments la temperatura augmenta, a l'augmentar el temps d'aplicació (Figura 5). L'aigua i la combinació (1:1) de l'àcid cítric 1% + ascòrbic a l'1% són els tractaments que presenten uns valors més alts de temperatura, valors que van dels 18 als 28 °C (increment de 10 °C), mentre que el cítric i l'ascòrbic per separat presenten valors inferiors. Els valors de temperatura també són diferents significativament ( $p < 0,05$ ) a nivell de temps d'exposició als ultrasons dins d'un mateix tractament. La màxima repercussió es troba al cap de 20 minuts i la mínima als 2 minuts. Els increments de temperatura per efecte del temps de sonicació són del 30% en el bany d'ultrasons amb aigua destil·lada i del 40% en els banys on s'ha utilitzat solució d'ascòrbic 1% i solució barreja (d'àcid cítric i ascòrbic). Per últim, l'ús de solució d'àcid cítric comporta un increment d'un 50% després de la sonicació durant 20 minuts.

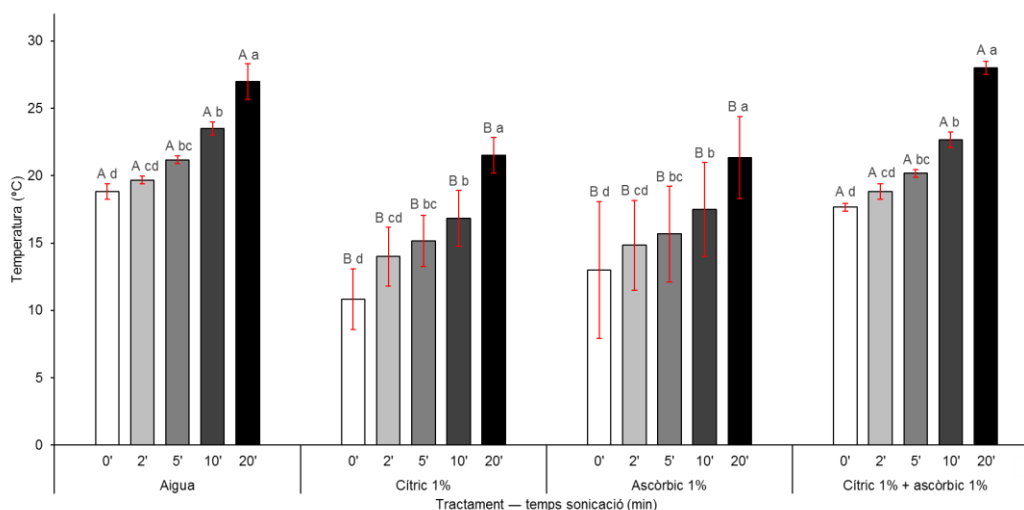


Figura 5. Evolució de la temperatura al llarg del temps en els diferents tractaments. Les lletres majúscules indiquen diferències significatives a nivell de tractament i les minúscules a nivell de temps de sonicació. Els valors de les mitjanes que no comparteixen lletra són significativament diferents ( $p < 0,05$ ).

No es pot saber exactament si aquest increment és degut a l'efecte dels ultrasons, ja que les variables de temps de sonicació i temperatura del bany estan lligades; hi ha una correlació natural entre elles, ja que a l'augmentar la primera també ho fa la segona. L'única forma de deslligar aquestes variables seria mantenir la temperatura dels banys

constant, és a dir, contrarestar l'escalfament de les solucions amb gel (o fer els mateixos experiments sense ultrasons a diferents temperatures).

## B) Efectes de la sonicació i les solucions sobre la patata

### 4.3. Efectes dels tractaments sobre la matèria seca

La indústria de la patata exigeix un tubercle de qualitat depenent de l'objectiu del seu processat. Per això les patates deuen tenir baixos continguts en sucres reductors i alts en matèria seca, d'aquesta forma s'eviten colors i sabors desagradables (Loyola, Oyarce i Acuña, 2010). En la determinació de la matèria seca es determina el contingut inicial (temps 0) i final (als 20 minuts de sonicació). La matèria seca després de 2, 5, i 10 minuts de sonicació no s'ha determinat, ja que en proves preliminars no es varen observar canvis significatius.

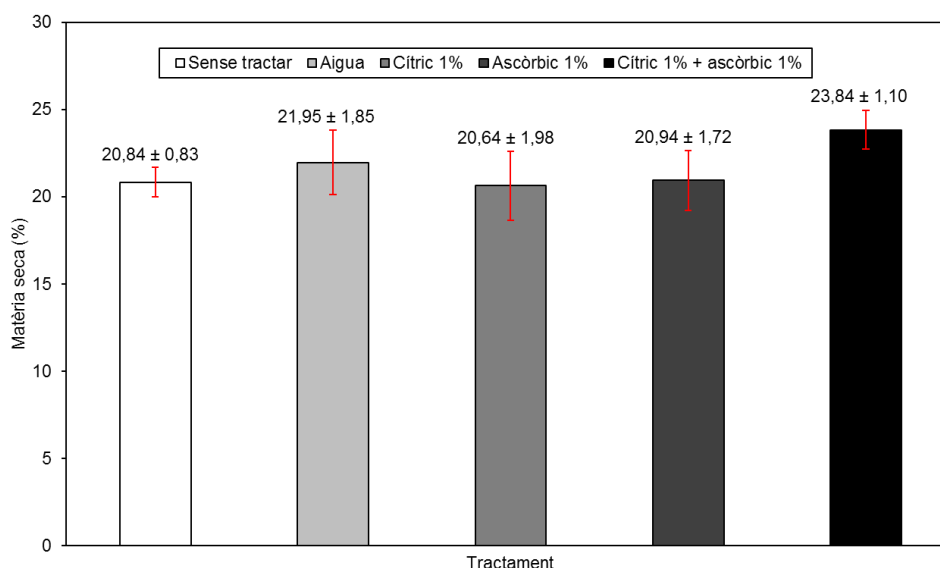


Figura 6. Matèria seca dels diferents tractaments en mostres sonicades durant 20 minuts i en mostres sense tractar. Es mostren els valors de les mitjanes ± desviació estàndard (n=9).

Com es pot observar a la Figura 6, no hi ha diferències significatives ( $p < 0,05$ ) entre tractaments a nivell de contingut de matèria seca després d'haver sonicat la mostra durant 20 minuts.

D'acord amb González (2000), el contingut ideal de matèria seca dels tubercles destinats a patates processades ha d'estar entre el 20 i el 25%. El contingut de matèria seca en totes les formes de tractament va ser superior al 20%, complint així els requisits mínims de qualitat exigits en les patates destinades a ser processades en la indústria.

#### 4.4. Avaluació dels diferents paràmetres del color ( $L^*$ , $C^*$ , $h^*$ , IC i $\Delta E^*$ )

S'ha quantificat la lluminositat ( $L^*$ ), les coordenades  $a^*$  i  $b^*$  i la diferència de color total ( $\Delta E^*$ ) dins l'espai CIE Lab després de cada temps de sonicació. A partir de les fórmules de l'apartat 3.4.2.2; s'ha obtingut el Chroma ( $C^*$ ), l'angle hue ( $h^*$ ) i l'Índex de Color (IC).

En la Taula 6 es pot observar l'evolució dels diferents paràmetres de color per cada tractament i temps de sonicació emprats, l'efecte del tractament (Taula 7) i l'efecte del temps de sonicació (Taula 8) en el color.

Taula 6  
Evolució de la lluminositat ( $L^*$ ), Chroma ( $C^*$ ), hue ( $h^*$ ) en patates tractades i sense tractar amb ultrasons a diferents temps i en diferents solucions

Tractament	Temps US (min)			
		$L^*$	$C^*$	$h^*$
Sense tractar Aigua	0	69,62 ± 2,23	8,44 ± 1,05	78,41 ± 1,90
	2	69,79 ± 2,15 a	8,82 ± 0,76 a	80,86 ± 2,66 a
	5	70,34 ± 2,58 a	8,43 ± 1,14 a	79,90 ± 2,90 ab
	10	70,21 ± 2,94 a	7,87 ± 0,91 ab	78,39 ± 2,31 ab
	20	69,62 ± 2,50 a	7,38 ± 0,95 b	77,13 ± 3,29 b
Cítric 1%	2	72,29 ± 2,06 a	9,13 ± 0,96 a	80,86 ± 1,87 a
	5	71,75 ± 2,85 a	8,57 ± 0,78 ab	79,55 ± 2,22 ab
	10	71,60 ± 2,74 a	7,72 ± 0,96 b	76,92 ± 2,91 b
	20	71,88 ± 2,31 a	7,70 ± 0,93 b	76,77 ± 2,28 b
Ascòrbic 1%	2	71,35 ± 2,18 a	7,46 ± 0,74 a	77,08 ± 2,64 a
	5	69,86 ± 1,89 a	7,40 ± 0,72 a	77,52 ± 2,29 a
	10	71,04 ± 2,92 a	7,46 ± 1,38 a	76,80 ± 3,78 a
	20	70,46 ± 2,27 a	7,24 ± 0,66 a	76,26 ± 2,04 a
Cítric 1% + ascòrbic 1%	2	70,90 ± 2,77 a	8,05 ± 0,73 a	78,85 ± 2,52 a
	5	70,60 ± 3,09 a	8,19 ± 0,81 a	79,51 ± 3,11 a
	10	70,25 ± 3,56 a	8,15 ± 0,95 a	79,38 ± 2,53 a
	20	70,32 ± 3,30 a	7,79 ± 0,59 a	78,78 ± 2,03 a

**Nota.** Les dades corresponen a la mitjana ± desviació ( $n = 12$ ). Lletres minúscules indiquen diferències significatives a nivell de temps de sonicació. Els valors de les mitjanes que no comparteixen lletra són significativament diferents ( $p < 0,05$ ). US = Ultrasons.

S'ha comprovat la interacció entre dos factors, el temps de sonicació i el tractament, mitjançant l'anàlisi de variància ANOVA. En els paràmetres de color ( $L^*$ ,  $C^*$ ,  $h^*$ , IC i  $\Delta E^*$ ) aquesta interacció no és significativa ( $p < 0,05$ ) en cap cas.

Taula 7  
Efecte del tractament en els diferents paràmetres del color

TRACTAMENT	L*	C*	h*	IC	ΔE
Aigua	69,99 B	8,13 A	79,07 A	2,73 B	45,73 B
Cítric 1%	71,88 A	8,28 A	78,52 AB	2,71 B	47,33 A
Ascòrbic 1%	70,68 AB	7,39 B	76,91 B	3,24 A	46,18 B
Cítric 1% + ascòrbic 1%	70,50 AB	8,05 A	79,16 A	2,66 B	45,98 B

**Nota.** Els valors corresponen a la mitjana de les lectures (n = 12). Lletres diferents indiquen diferències significatives a nivell de tractament. Apareixen només aquells paràmetres que són significativament diferents (p < 0,05).

Taula 8  
Efecte del temps de sonicació en els diferents paràmetres del color

TEMPS (min)	C*	h*	IC
2	8,37 a	79,45 a	2,55 b
5	8,15 a	79,12 a	2,65 b
10	7,80 ab	77,87 ab	2,99 ab
20	7,53 b	77,23 b	3,15 a

**Nota.** Els valors corresponen a la mitjana de les lectures (n = 12). Lletres diferents indiquen diferències significatives a nivell de temps de sonicació (p < 0,05). No s'ha inclòs la L\* ni la ΔE\* ja que no hi ha diferències significatives en el temps de sonicació.

#### - Luminositat (L\*)

La lluminositat (Taula 6) indica que la patata té més o menys brillantor (100 blanc, 0 negre). La mostra inicial sense tractar té una lluminositat de 69,62 ± 2,23, mentre totes les mostres tractades oscil·len entre valors de 69 i 72, és a dir, l'ús de solucions àcides amb ultrasons comporta un cert increment de la lluminositat, trobant diferències significatives (p < 0,05) entre l'aigua i la solució d'àcid cítric 1% (Taula 7). En canvi, el temps d'aplicació dels ultrasons, no ha tingut repercussions significatives en la lluminositat independentment de la solució emprada.

En la patata sense tractar, tenint en compte els diferents temps d'exposició a l'aire (2, 5, 10 i 20 minuts), l'únic paràmetre de color que es veu afectat significativament és la lluminositat.

No s'ha inclòs la lluminositat (L\*) a la Taula 8 perquè no s'han trobat diferències significatives a nivell de temps de sonicació.



- Chroma (C\*)

El Chroma és la saturació del color, els seus valors són significativament diferents ( $p < 0,05$ ) tant a nivell de tractament com a nivell de temps de sonicació. La mostra inicial sense tractar té uns valors de Chroma =  $8,44 \pm 1,05$ . Només s'observen diferències significatives a nivell de temps dins de la mateixa solució, en el cas d'utilitzar aigua o àcid cítric 1%, de tal manera que a major temps, menor valor de C\* (Taula 6).

A nivell de tractament i de temps de sonicació (Taula 7 i Taula 8), només s'observen variacions significatives en el cas de la solució d'àcid ascòrbic 1% i en el temps de sonicació de 20 minuts respecte a la resta de solucions.

- hue (h\*)

L'angle hue indica el matís del color. La mostra inicial sense tractar té un angle hue de  $78,41 \pm 1,90$ , valor que es troba dins del rang 76-80 on oscil·len els valors de les mostres sonicades. Dins d'un mateix tractament, en la majoria de casos no s'observa l'efecte del temps de sonicació a excepció de les solucions d'àcid cítric 1% o aigua (Taula 6). L'angle hue, igual que en el Chroma, els valors són significativament diferents a nivell de tractament i de temps de sonicació (Taula 7 i Taula 8).

- Diferència de color total ( $\Delta E^*$ ) i índex de color (IC)

La diferència de color total ( $\Delta E^*$ ) és la comparació numèrica del color de les mostres amb l'estàndard i indica les diferències en coordenades absolutes de color. Els valors de  $\Delta E^*$  només són diferents significativament ( $p < 0,05$ ) a nivell de tractament però no s'han trobat diferències significatives a nivell de temps de sonicació (Taula 9). Al ser una eina comparativa, es pot afirmar que el tractament que afecta més al color és el cítric a l'1% (Taula 7).

**Taula 9**  
*Evolució de l'índex de color (IC) i la diferència de color total ( $\Delta E^*$ ) en patates tractades i sense tractar amb ultrasons a diferents temps i amb diferents solucions*

Tractament	Temps US (min)	$\Delta E^*$	
		IC	
Sense tractar	0	2,88 ± 0,45	45,40 ± 0,45
Aigua	2	2,20 ± 0,43	b 45,91 ± 1,92 a
	5	2,58 ± 0,53	ab 45,94 ± 2,05 a
	10	2,93 ± 0,59	ab 45,79 ± 2,93 a
	20	3,22 ± 0,63	a 45,29 ± 2,53 a
Cítric 1%	2	2,23 ± 0,47	c 48,03 ± 2,07 a
	5	2,50 ± 0,44	bc 47,25 ± 2,73 a
	10	2,97 ± 0,50	ab 46,95 ± 2,86 a
	20	3,16 ± 0,47	a 47,09 ± 2,06 a
Ascòrbic 1%	2	3,04 ± 0,43	a 46,64 ± 2,15 a
	5	3,05 ± 0,49	a 45,18 ± 1,94 a
	10	3,50 ± 0,73	a 46,82 ± 3,08 a
	20	3,36 ± 0,44	a 46,06 ± 2,36 a
Cítric 1% + ascòrbic 1%	2	2,73 ± 0,40	a 46,67 ± 2,77 a
	5	2,48 ± 0,49	a 45,70 ± 2,17 a
	10	2,55 ± 0,34	a 45,50 ± 3,17 a
	20	2,86 ± 0,41	a 46,06 ± 3,25 a

**Nota.**  $\Delta E^*$  = Diferència de color total. Les lletres minúscules indiquen diferències significatives a nivell de temps de sonicació. Els valors de les mitjanes que no comparteixen lletra són significativament diferents ( $p < 0,05$ ).

No s'ha inclòs el  $\Delta E^*$  a la Taula 8 perquè no s'han trobat diferències significatives a nivell de temps de sonicació (també es pot observar a la Taula 9).

D'altra banda, l'índex de color pot utilitzar-se com a variable de control de la qualitat dels aliments per les seves característiques de variació (Bello, Eyman, Almirón, i Cocco, 1981):

- IC entre -2 i +2, representa el groc-verdós.
- IC del +2 al +20, es relaciona amb els colors des del groc pàl·lid al taronja intens.

L'efecte del tractament i el temps de sonicació tenen diferències significatives ( $p < 0,05$ ) en l'índex de color, presentant la solució d'àcid ascòrbic 1% (Taula 7) i la sonicació durant 20 minuts (Taula 8), un increment significativament diferent respecte la resta.

En resum, es pot afirmar que l'aplicació d'ultrasons i/o solucions àcides afecten els paràmetres de color estudiats, sent la solució d'àcid ascòrbic 1% i la sonicació durant 20 minuts les que tenen repercussions significativament diferents sobre el  $C^*$ ,  $h^*$ , IC i  $\Delta E^*$ , mentre que la solució d'àcid cítric 1% té efectes significatius sobre la  $L^*$ .

#### 4.5. Efectes de la sonicació i les solucions àcides sobre l'activitat enzimàtica de la polifenol oxidasa (PPO) i la peroxidasa (POD)

El present estudi encara que pretén determinar l'efecte distingit dels diferents temps sonicació enfront al de les solucions àcides, l'acció inhibidora sobre la PPO i la POD serà el conjunt d'ambdós efectes.

Analitzar com evoluciona l'absorbància és analitzar el progrés de la reacció al llarg del temps, que proporcionarà els valors d'activitat enzimàtica (Figura 7 i Figura 8).

##### 4.5.1. Efecte dels diferents tractaments en la cinètica de la reacció de la polifenol oxidasa (PPO)

En la Figura 7, es pot observar que l'absorbància enfront el temps de reacció de la **polifenol oxidasa** en mostres sense tractar és superior a les mostres sonicades, però no tots els tractaments tenen el mateix comportament; l'evolució de la reacció és diferent segons la solució àcida emprada en el bany d'ultrasons.

En el cas de la sonicació amb aigua (Figura 7a), el comportament dels ultrasons segueix una tendència proporcional d'absorbància enfront el temps, és a dir, a mesura que augmenta el temps de sonicació, disminueix l'absorbància com a conseqüència de la disminució de l'activitat enzimàtica de la PPO. Totes les mostres sonicades, a qualsevol temps, tenen valors d'absorbància inferiors respecte les mostres sense tractar. A màxim temps de sonicació (20 minuts) respecte al mínim (2 minuts), l'absorbància disminueix aproximadament un 53% el seu valor i respecte a la mostra sense tractar un 57%.

A l'afegir una solució àcida juntament amb els ultrasons, els efectes que es produeixen sobre l'absorbància (o activitat enzimàtica) varien.

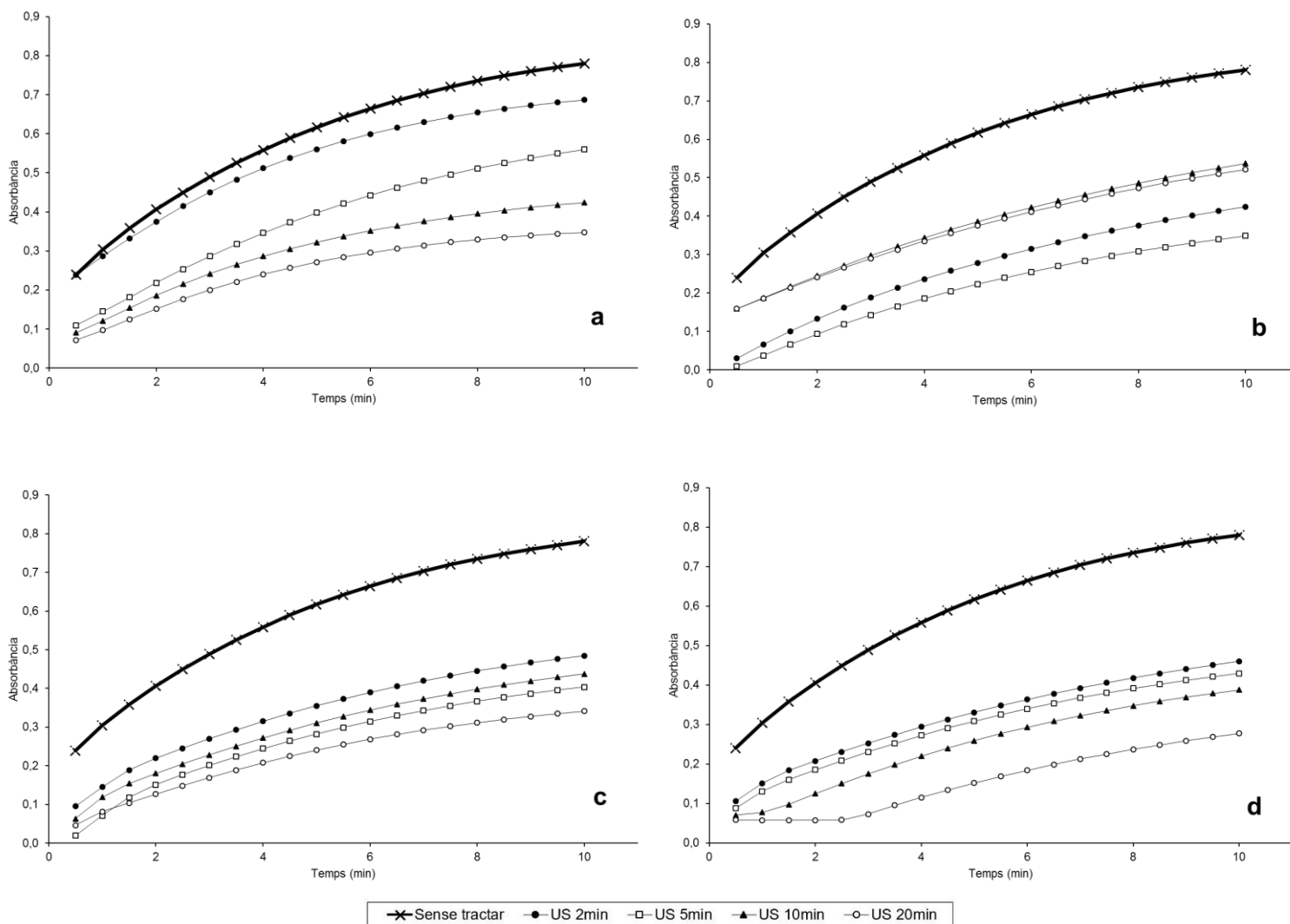


Figura 7. Efecte del temps d'aplicació d'ultrasons en l'activitat de la PPO en patata a diferents solucions: aigua (a), àcid cítric 1% (b), àcid ascòrbic 1% (c) i barreja d'àcid cítric i ascòrbic 1% (d). Les línies corresponen a la mitjana de tres rèpliques per tractament i dues per lectura d'absorbància. US = ultrasons.

El comportament de la solució d'àcid cítric 1% (Figura 7b) no té una relació directa entre temps de sonicació i absorbància (com té l'aigua), ja que a temps més curts de sonicació, més disminueix l'absorbància de la PPO, és a dir, passats 2 ó 5 minuts de sonicació hi ha menys absorbància que a 10 ó 20 minuts de sonicació. Els valors d'absorbància de partida són lleugerament més baixos que en el cas de la sonicació amb aigua, segurament degut a la major acidesa de la solució.

En el tractament amb àcid ascòrbic 1% (Figura 7c) aquesta relació (absorbància enfront temps) no és tan evident, només en el cas de mínim i màxim temps de sonicació es manté la relació, però hi ha un efecte clar de la solució àcida respecte a la mostra sense tractar, ja que els valors d'absorbància han disminuït considerablement.

En la barreja dels àcids cítric 1% i ascòrbic 1% (Figura 7d), durant els primers temps de sonicació, el comportament és similar entre ells (sent l'absorbància dels 5 minuts inferior

a la dels 2), però a l'augmentar el temps de sonicació (10 i 20 minuts) s'observa una major disminució de l'absorbància. Es contempla un efecte diferencial en la sonicació als 20 minuts respecte als altres tractaments durant les primeres lectures.

Per tal de calcular les unitats d'activitat enzimàtica de la polifenol oxidasa, s'ha dut a terme un reajustament de les rectes d'absorbància enfront temps, per cada tractament a diferents temps de sonicació. D'aquesta forma, s'han obtingut les equacions de la recta amb el seu corresponent coeficient de determinació (Taula 10).

Taula 10  
Cinètica de la polifenol oxidasa (PPO).

Temps	Tractament							
	Aigua (US)		Cítric 1%		Ascòrbic 1%		Cítric 1% i ascòrbic 1%	
2	$y = 0,0441x + 0,197$	$(R^2 = 0,99)$	$y = 0,0329x - 0,0007$	$(R^2 = 0,99)$	$y = 0,0374x + 0,0665$	$(R^2 = 0,98)$	$y = 0,0307x + 0,0839$	$(R^2 = 0,98)$
5	$y = 0,036x + 0,0732$	$(R^2 = 0,99)$	$y = 0,0274x - 0,0172$	$(R^2 = 0,99)$	$y = 0,0395x - 0,0111$	$(R^2 = 0,98)$	$y = 0,0295x + 0,0658$	$(R^2 = 0,98)$
10	$y = 0,0314x + 0,059$	$(R^2 = 0,99)$	$y = 0,0283x + 0,1312$	$(R^2 = 0,99)$	$y = 0,0344x + 0,041$	$(R^2 = 0,97)$	$y = 0,0207x + 0,042$	$(R^2 = 0,96)$
20	$y = 0,0264x + 0,045$	$(R^2 = 0,99)$	$y = 0,0267x + 0,133$	$(R^2 = 0,99)$	$y = 0,025x + 0,0262$	$(R^2 = 0,99)$	$y = -0,00002x + 0,0581$	-
Control (patata sense tractar):					$y = 0,0522x + 0,1949$	$(R^2 = 0,99)$		

**Nota.** Equacions de la recta per cada tractament i temps (minuts) de sonicació.

#### 4.5.2. Efecte dels diferents tractaments en la cinètica de la reacció de la peroxidasa (POD)

En el cas de la **peroxidasa** (Figura 8), contràriament a la polifenol oxidasa (Figura 7), l'activitat de les mostres sonicades es veu augmentada respecte a les mostres sense tractar, especialment en el cas de l'aigua on només és present l'efecte dels ultrasons.

En el cas de l'aigua (Figura 8a), els diferents temps de sonicació tenen una absorbància notablement superior a les mostres de patata sense tractar. La diferència més gran d'absorbància es troba entre la mostra sense tractar i la sonicada durant 10 minuts, aquesta última amb uns valors un 70% superior. Tot i que a 5 minuts de sonicació l'absorbància és menor, els valors continuen sent alts (55% superior a la mostra sense tractar). Les mostres que més activitat enzimàtica tenen són les que van ser sonicades durant un període de temps més llarg (10 i 20 minuts).

En el tractament amb aigua s'arriba a uns valors màxims d'absorbància entre 0,2 i 0,35, ja que l'enzim POD es troba aproximadament en el seu rang de pH òptim d'activitat, entre 4,0 i 6,0 (Fennema et al., 2008).

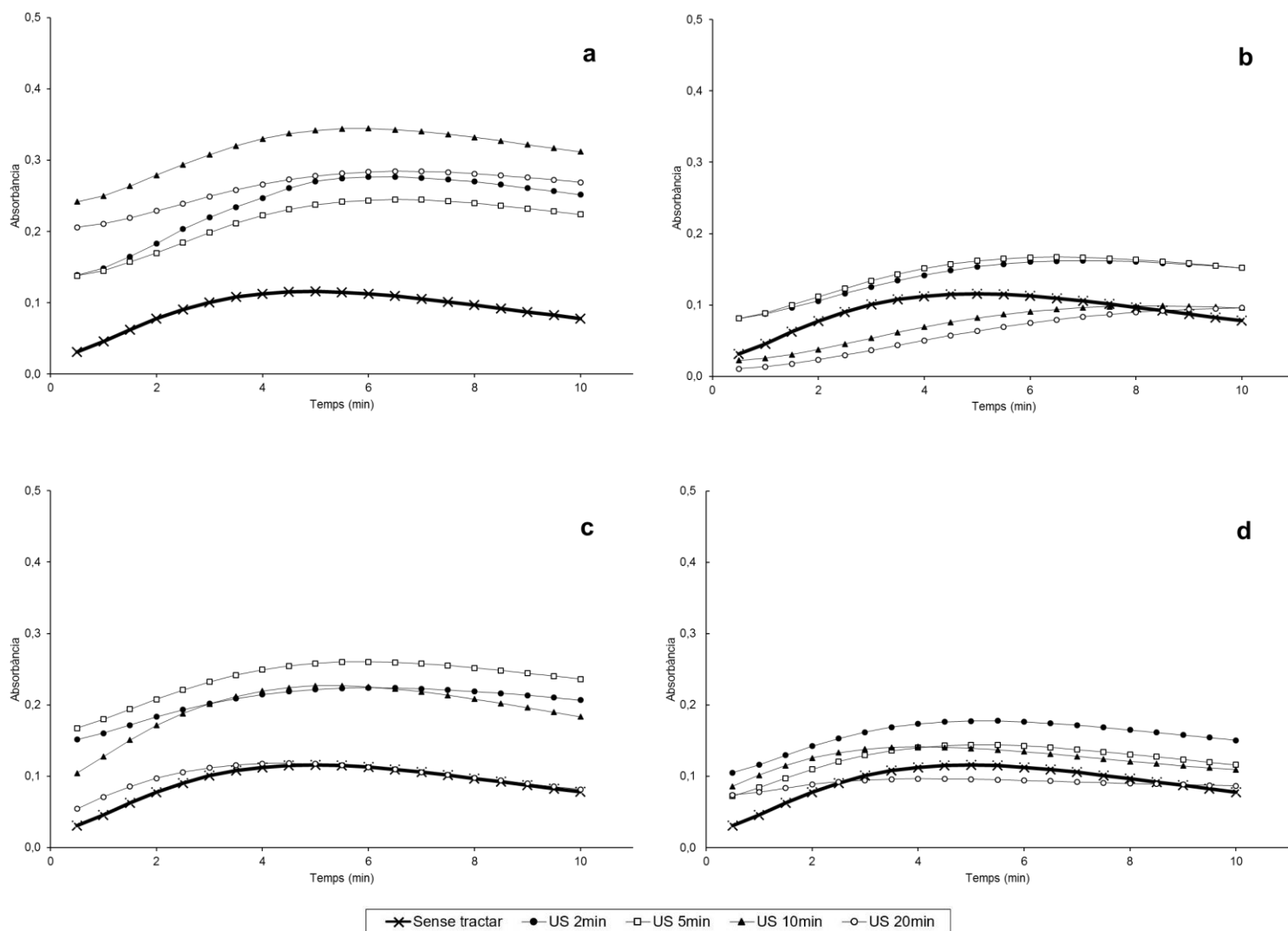


Figura 8. Efecte del temps d'aplicació d'ultrasons en l'activitat de la POD en patata a diferents solucions: aigua (a), àcid cítric 1% (b), àcid ascòrbic 1% (c) i barreja d'àcid cítric i ascòrbic 1% (d). Les línies corresponen a la mitjana de tres rèpliques per tractament i dues per lectura d'absorbància. US = ultrasons.

A l'afegir un àcid (cítric 1%, ascòrbic 1% o combinació dels dos) es contribueix a la disminució del pH en la solució, conseqüentment tots els valors d'absorbància de les mostres sonicades disminueixen respecte al tractament amb aigua, on només es contempla l'efecte dels ultrasons (Figura 8a). Per tant, el comportament de la POD està estrictament relacionat amb el pH de les solucions.

A l'addicionar cítric a l'1% (Figura 8b), es pot observar que un major temps de sonicació (10 i 20 minuts) comporta una major disminució de l'absorbància de la POD, i per tant de la seva activitat enzimàtica, mentre que temps inferiors impliquen un increment d'absorbància respecte a la mostra sense tractar.

En cas d'utilitzar l'àcid ascòrbic 1% (Figura 8c), hi ha un augment de l'absorbància respecte al tractament amb cítric 1%, només la sonicació durant 20 minuts comporta

absorbàncies similars a la mostra sense tractar, produint tots els altres temps, un increment d'activitat.

Altrament, en la barreja d'àcids (Figura 8d), es mostra una evolució temporal de l'absorbància similar a la de l'àcid ascòrbic però amb valors lleugerament inferiors.

De forma general, s'observa que el tractament amb cítric és el que té més efecte en la reacció de la peroxidasa, sembla que aquest comportament estigui relacionat amb el seu pH.

Per tal de calcular les unitats d'activitat enzimàtica de la peroxidasa, s'ha dut a terme un reajustament de les rectes, com en el cas de la polifenol oxidasa (Taula 10). S'han obtingut així les equacions de la recta amb el seu corresponent coeficient de determinació (Taula 11).

Taula 11  
Cinètica de la peroxidasa (POD).

Temps	Tractament			
	Aigua (US)	Cítric 1%	Ascòrbic 1%	Cítric 1% i ascòrbic 1%
2	$y = 0,0164x + 0,1185$ ( $R^2 = 0,98$ )	$y = 0,0089x - 0,0706$ ( $R^2 = 0,99$ )	$y = 0,0106x + 0,1401$ ( $R^2 = 0,98$ )	$y = 0,0122x + 0,0925$ ( $R^2 = 0,99$ )
5	$y = 0,0117x + 0,0732$ ( $R^2 = 0,99$ )	$y = 0,0106x - 0,0172$ ( $R^2 = 0,99$ )	$y = 0,0135x - 0,1533$ ( $R^2 = 0,98$ )	$y = 0,0123x + 0,06$ ( $R^2 = 0,99$ )
10	$y = 0,0133x + 0,059$ ( $R^2 = 0,99$ )	$y = 0,0058x + 0,1312$ ( $R^2 = 0,97$ )	$y = 0,0211x + 0,0848$ ( $R^2 = 0,96$ )	$y = 0,0118x + 0,0766$ ( $R^2 = 0,98$ )
20	$y = 0,0084x + 0,1955$ ( $R^2 = 0,99$ )	$y = 0,0048x + 0,0045$ ( $R^2 = 0,98$ )	$y = 0,0129x + 0,044$ ( $R^2 = 0,98$ )	$y = 0,0048x + 0,069$ -
Control (patata sense tractar):			$y = 0,0151x + 0,0163$ ( $R^2 = 0,99$ )	

**Nota.** Equacions de la recta per cada tractament i temps (minuts) de sonicació.

#### 4.5.3. Efecte dels diferents tractaments en l'activitat enzimàtica de la polifenol oxidasa (PPO) i la peroxidasa (POD)

Per calcular les unitats d'activitat enzimàtica (UA) s'ha fet una linealització o reajustament de les línies de tendència dels gràfics d'absorbància enfront temps. Una unitat d'activitat enzimàtica (UA), tant de PPO com de POD, és definida per Yeoh i Ali (2017) com la quantitat d'enzim que incrementa l'absorbància en  $0,001 \text{ min}^{-1}$  sota les condicions d'assaig.

En la Figura 9 es poden observar les unitats d'activitat enzimàtica tant a l'inici (1 i 3) com al final (2 i 4) del tractament.

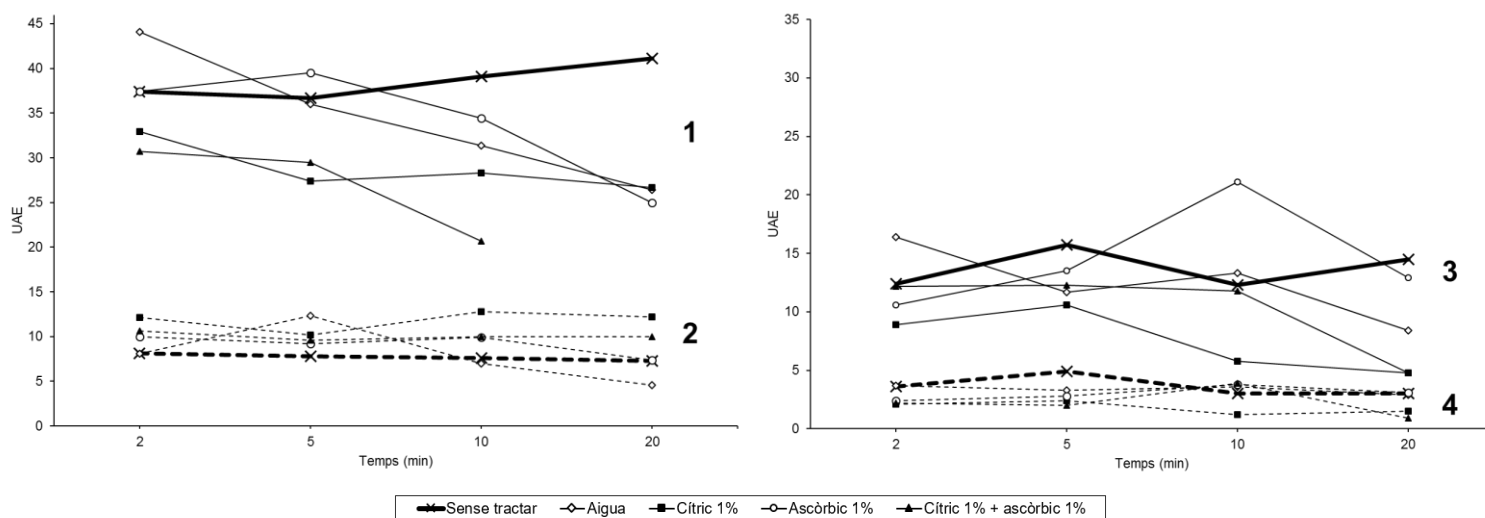


Figura 9. Cinètica enzimàtica de l'activitat inicial i final de la PPO (1 i 2) i de la POD (3 i 4) en cadascun dels temps de sonicació o d'exposició a l'aire (sense tractar). Les línies contínues mostren les activitats enzimàtiques inicials (PPO: 1, POD: 3) i les discontinues les finals (PPO: 2, POD: 4). UAЕ = Unitats d'activitat enzimàtica.

En general, tant a l'aplicar els ultrasons (tractament amb aigua) com els diferents tractaments (solucions àcides), hi ha una disminució de l'activitat de la PPO des del moment inicial, al contrari del comportament de la patata sense tractar, que és l'únic que va augmentant amb el temps de sonicació (Figura 9; 1 i 2).

En el cas de la PPO inicial (Figura 9; 1), la mostra sense tractar té una activitat de 37 UA que al final del temps de sonicació (20 minuts) es veu incrementada un 9%. Sota l'efecte dels ultrasons i els tractaments de solucions àcides, l'activitat de la PPO disminueix dràsticament. L'efecte dels ultrasons (en el bany amb aigua destil·lada) disminueix l'activitat a mesura que augmenta el temps de sonicació fins arribar a una reducció del 67%, als 20 minuts de sonicació.

En el cas de la sonicació amb tractament d'àcid cítric 1% l'activitat només disminueix un 20% respecte a l'activitat inicial, però aquesta ja era un 15% inferior que el tractament amb aigua o el de la mostra sense tractar. Quan està combinat amb ascòrbic la inhibició arriba a ser pràcticament total.

En tots els casos, la sonicació durant 20 minuts conjuntament amb aigua o les solucions àcides assajades, és la que resulta més efectiva per la inhibició de la PPO.

L'activitat residual de PPO (Figura 9; 2) després de 10 minuts de reacció amb el catecol és baixa, oscil·la entre 7 i 12 UA, sent les mostres sonicades amb aigua les que presenten valors inferiors als 20 minuts de sonicació.



En el cas de la POD, la reducció de la seva activitat per efecte dels ultrasons i/o solucions àcides és inferior que en la PPO, però cal considerar que en totes les mostres de patates l'activitat de la POD és considerablement inferior que en el cas de la PPO (Figura 9; 1 i 3).

Les activitats residuals de la POD (Figura 9; 4) són molt baixes, en tots els tractaments (en cap cas supera les 3UA) no s'observen diferències a nivell de tractament ni a nivell de temps.

Per als resultats obtinguts, la solució d'àcid cítric 1% conjuntament amb els ultrasons, sembla ser la millor solució per disminuir l'activitat de la POD, mentre que l'ús només dels ultrasons comporta un increment de l'activitat d'aquesta.

#### 4.5.4. Efecte inhibitor en l'activitat enzimàtica de les solucions àcides i dels ultrasons

Per tal d'esbrinar l'efecte inhibitor dels ultrasons o de les solucions àcides sobre l'activitat enzimàtica inicial, s'ha calculat el % d'inhibició dels enzims PPO i POD respecte a les mostres sense tractar (Figura 10).

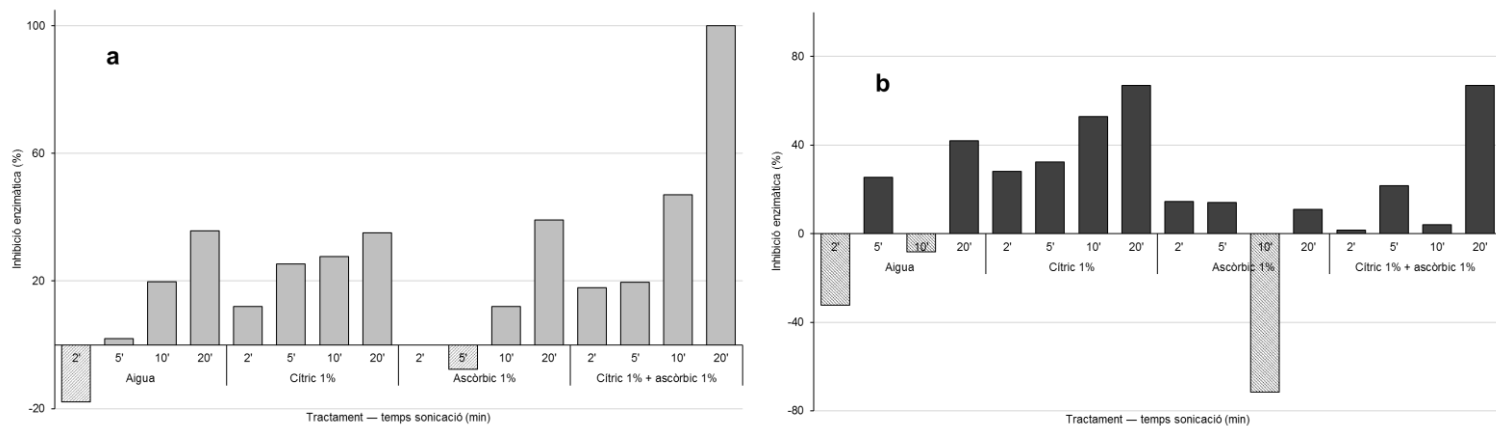


Figura 10. Inhibició de la PPO (a) i POD (b) per efecte del temps de sonicació junt amb els diferents tractaments (solucions àcides). Valors per sota de 0 indiquen que no hi ha hagut inhibició.

Es considera com a referència (100% d'activitat enzimàtica) la mostra de patata crua sense tractar i la inhibició es calcula a partir de l'equació de l'apartat 3.4.2.3.

D'altra banda, tots els tractaments, combinen l'acció dels ultrasons conjuntament amb l'acidesa (baixada de pH) que procuren les solucions àcides, a excepció de l'aigua, en la que només hi ha l'efecte dels ultrasons. Per tal d'esbrinar l'eficàcia dels dos inhibidors (pH i ultrasons) pel que respecta a l'activitat enzimàtica (Taula 12); es considera

l'activitat deguda només als ultrasons (tractament amb aigua) i tenint en compte que els altres tractaments són la suma dels ultrasons i acidesa, per diferència s'obté l'activitat diferenciada dels àcids (cítric, ascòrbic i combinació dels dos).

Taula 12  
*Activitat enzimàtica deguda a l'efecte del pH o dels ultrasons (expressada en %)*

Tractament	Temps (min)	Activitat PPO	
		Efecte del pH	Efecte dels US
Cítric 1% (pH 1,7)	2	25,4	74,6
	5	23,9	76,1
	10	9,9	90,1
	20	<1	>95
Ascòrbic 1% (pH 2,4)	2	15,2	84,8
	5	<1	>95
	10	<1	>95
	20	5,3	94,7
Cítric 1% + ascòrbic 1% (pH 2,2)	2	30,4	69,6
	5	18,1	81,9
	10	34,1	65,9
	20	>95	<1

**Nota.** Valors <1 indiquen que només es deu a un dels efectes considerats.

En la Taula 12 es pot observar que a l'utilitzar l'àcid cítric 1%, encara que l'efecte inhibitor majoritàriament es deu als ultrasons, a temps curts de sonicació l'efectivitat d'inhibició del medi àcid és superior (aproximadament del 25%). En la barreja d'àcids (cítric 1% + ascòrbic 1%) el poder d'inhibició a causa de l'acidesa augmenta, arribant al temps final de sonicació (20 minuts) a ser > 95%. Això pot ser degut a l'efecte antioxidant de l'àcid ascòrbic conjuntament amb l'efecte quelant de l'àcid cítric i el pH baix (per sota del mínim necessari per a la inactivació de la PPO), siguin suficients per inhibir l'activitat.

Els ultrasons per si sols (tractament amb aigua), no tenen un efecte definit sobre la POD i inclús en alguns casos s'afavoreix la seva activitat. La major inhibició, com ja s'ha comentat anteriorment, es deu al medi àcid, ja que desnatura i inhibeix l'enzim. Com es pot observar a la Taula 13, a mesura que disminueix l'acidesa, l'absorbància augmenta i per tant, l'activitat també.

Taula 13  
*Evolució de l'absorbància de la POD segons el pH de les solucions*

	Cítric 1%	Cítric 1% + ascòrbic 1%	Ascòrbic 1%	Aigua
pH	1,7	2,2	2,4	6,4
Absorbància	0,1	0,15	0,25	0,3

#### 4.6. Correlacions entre l'efecte dels tractaments (ultrasons i solucions àcides) en l'activitat enzimàtica i en el color de la mostra de patata

S'ha analitzat la relació lineal entre l'efecte dels ultrasons i els diferents tractaments emprats enfront el color de les mostres (Taula 15), mitjançant el coeficient de correlació de Pearson com a mesura de la bondat de la predicció.

A la Taula 14 es mostren les correlacions a nivell de tractament, mostrant només els paràmetres que tenen relació lineal entre ells amb un nivell de significació més petit que 0,05.

Taula 14

Correlacions de Pearson en cada tractament amb ultrasons entre el temps de sonicació i els diferents paràmetres del color

Correlacions		Tractaments				
		Aigua	Cítric 1%	Ascòrbic 1%	Cítric 1% + ascòrbic 1%	Sense tractar
<b>Temps US</b>	<b>C*</b>	-0,844 (0,001)	-0,715 (0,009)	-	-	-
	<b>h*</b>	-0,761 (0,004)	-0,765 (0,004)	-	-	-
	<b>PPO</b>	-0,616 (0,033)	-	-0,791 (0,002)	-0,914 (0,000)	-
	<b>POD</b>	-0,686 (0,014)	-0,640 (0,000)	-	-	-
<b>C*</b>	<b>h*</b>	0,925 (0,000)	0,970 (0,000)	0,949 (0,000)	-	0,923 (0,001)
<b>PPO</b>	<b>C*</b>	0,621 (0,031)	0,657 (0,020)	-	-	-
	<b>h*</b>	0,578 (0,049)	0,601 (0,039)	-	-	-
<b>POD</b>	<b>C*</b>	-	0,714 (0,009)	-	-	-0,916 (0,001)
	<b>h*</b>	-	0,719 (0,008)	-	-	-
	<b>PPO</b>	0,733 (0,007)	-	-	-	-

**Nota.** Valors entre parèntesis de  $p < 0,05$  indiquen correlacions de Pearson significatives.  
Tractament = US junt amb solucions àcides.

En general, tal com s'observa a la Taula 14, el Chroma (C\*) i el hue (h\*) amb el temps de sonicació i les solucions d'àcid cítric i aigua es troben altament correlacionats de forma negativa ( $p < 0,05$ ). A nivell de PPO i POD, es troben correlacions positives entre aquestes activitats i els paràmetres de color C\* i h\*, tant quan s'utilitzen els ultrasons sols (amb aigua) com combinats amb àcid cítric 1%. En canvi, només s'obtenen correlacions positives amb la POD, la combinació dels ultrasons amb la solució d'àcid

cítric 1%. També s'han trobat correlacions positives entre l'activitat de la PPO i la de la POD quan només es té en compte l'efecte dels ultrasons (amb aigua).

Amb l'ús dels ultrasons combinats amb les solucions d'àcid ascòrbic 1% i la solució barreja (1:1) de cítric 1% + ascòrbic 1%, no s'han trobat correlacions amb els paràmetres de color, només s'han trobat correlacions negatives entre la PPO i el temps de sonicació.

A l'avaluar conjuntament l'efecte del tractament i el temps de sonicació, es pot observar (Taula 15) que les correlacions obtingudes ( $p < 0,05$ ) són molt més baixes, però es continuen mantenint correlacions negatives entre els temps de sonicació i la PPO,  $C^*$  i  $h^*$ , i correlacions positives entre la PPO i POD ( $r = 0,326$ ,  $p < 0,05$ ).

Taula 15

*Correlacions de Pearson entre el temps de sonicació en els diferents tractaments i diferents paràmetres del color*

	Tractament	Temps US	$L^*$	$C^*$	$h^*$	PPO
Temps US	0,000 (1,000)	-	-	-	-	-
$L^*$	<b>0,279</b> (0,037)	-0,077 (0,572)	-	-	-	-
$C^*$	0,058 (0,671)	<b>-0,411</b> (0,002)	0,247 (0,066)	-	-	-
$h^*$	0,209 (0,121)	<b>-0,378</b> (0,004)	-0,014 (0,920)	<b>0,885</b> (0,000)	-	-
PPO	<b>-0,296</b> (0,027)	<b>-0,343</b> (0,010)	-0,072 (0,596)	<b>0,290</b> (0,030)	0,252 (0,061)	-
POD	-0,100 (0,464)	-0,256 (0,057)	-0,139 (0,307)	-0,048 (0,725)	-0,032 (0,816)	<b>0,326</b> (0,014)

**Nota.** Valors entre parèntesis de  $p < 0,05$  indiquen correlacions de Pearson significatives (color vermell). Tractament = US junt amb solucions àcides.

## 5. Conclusions

A partir dels resultats obtinguts es pot concloure que:

- El temps de sonicació té repercussions sobre l'activitat enzimàtica de la patata tallada, tant de la polifenol oxidasa com de la peroxidasa. Però el major o menor efecte sobre la seva activitat depèn de la solució àcida aplicada.
- En general, el tractament més efectiu en la inhibició dels enzims causants de l'enfosquiment enzimàtic ha resultat ser la combinació dels ultrasons amb una solució d'àcid cítric a l'1%.
- En el cas de la polifenol oxidasa el tractament més efectiu en la seva inhibició, ha estat la combinació dels ultrasons amb la barreja d'àcid cítric 1% + ascòrbic 1% (1:1), atribuïble a l'efecte combinat de l'activitat antioxidant de l'àcid ascòrbic i l'efecte complexant de l'àcid cítric conjuntament amb l'efecte del pH i la sonicació.
- En la peroxidasa, la inhibició més efectiva es deu a l'efecte del pH de la solució emprada, ja que la sonicació comporta un augment de la seva activitat, per tant el tractament que major inhibeix la seva activitat ha sigut l'àcid cítric a l'1% (pH = 1,7).
- La composició de les solucions àcides i la sonicació afecten de forma diferent als paràmetres de color. La lluminositat es veu especialment afectada per l'àcid cítric 1% mentre que és l'àcid ascòrbic 1% el que més afecta al Chroma i a l'angle hue. El temps de sonicació té repercussions sobre el C\* i el h\*, especialment als 2 i 20 minuts.
- Les correlacions de Pearson ( $p < 0,05$ ) trobades, corroboren el comportament diferencial entre solucions i temps de sonicació respecte al seu efecte sobre l'activitat enzimàtica. Els ultrasons sols, afecten pràcticament a tots els paràmetres i el temps de sonicació té efecte sobre el color i l'activitat enzimàtica. Existeix una important correlació positiva entre l'activitat de polifenol oxidasa i la peroxidasa en el cas de l'ús dels ultrasons en aigua ( $r = 0,733$ ,  $p < 0,05$ ).

## 6. Referències

- Alvarez, M. D.; Morillo, M. J. i Canet, W. (2000). Characterization of the frying process of fresh and blanched potato strips using response surface methodology. *European Food Research and Technology*, 211(5), 326–335.  
<https://doi.org/10.1007/s002170000161>
- Amaral, R. D. A.; Achaerandio, I.; Benedetti, B. C. i Pujolà, M. (2017). The influence of edible coatings, blanching and ultrasound treatments on quality attributes and shelf-life of vacuum packaged potato strips. *LWT - Food Science and Technology*.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.03.062>
- Amaral, R. D. A.; Benedetti, B. C.; Pujolà, M.; Achaerandio, I. i Bachelli, M. L. B. (2014). Effect of Ultrasound on Quality of Fresh-Cut Potatoes During Refrigerated Storage. *Food Engineering Reviews*, 7(2), 176–184. <https://doi.org/10.1007/s12393-014-9091-x>
- Angurell, I.; Casamitjana, N.; Caubet, A.; Dinarès, I.; Llor, N; ... Velasco, D. (2014). Tècniques i operacions avançades al laboratori químic (TALQ). [Consulta: 22 març 2017]. Disponible a: <http://www.ub.edu/talq/ca/content/361-fonament-de-la-tecnica>
- Awad, T. S.; Moharram, H. A.; Shaltout, O. E.; Asker, D. i Youssef, M. M. (2012). Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Research International*, 48(2), 410–427.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.004>
- Bello, F.; Eyman, L.; Almirón, N. i Cocco, A. (1981). Cartillas para determinar el índice de color de mandarinas y naranjas. *Ediciones Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. EEA Concordia. Poscosecha*.
- Cárcel, J. A.; García-Pérez, J. V.; Benedito, J. i Mulet, A. (2012). Food process innovation through new technologies: Use of ultrasound. *Journal of Food Engineering*, 110(2), 200–207. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.05.038>
- Cefola, M.; D'Antuono, I.; Pace, B.; Calabrese, N.; Carito, A.; Linsalata, V. i Cardinali, A. (2012). Biochemical relationships and browning index for assessing the storage suitability of artichoke genotypes. *Food Research International*, 48(2), 397–403.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.04.012>
- Delgado, J. (2012). Aplicación del Ultrasonido en la Industria de los Alimentos. *Revista Especializada En Ingeniería de Procesos En Alimentos Y Biomateriales*, 6, 141–152.
- Fálder, Á. (2004). Enciclopedia de los Alimentos. *Distribución Y Consumo*, (I), 129–151.
- FAOSTAT. (2014). [Consulta: 22 març 2017]. Disponible a:  
<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QI>

- Fennema, O. R.; Srinivasan, D. i Parkin, K. L. (2008). *Fennema's Food Chemistry* (4th ed.). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Gacche, R. N.; Ghole, V. S.; Khobragade, C. N. i Sagar, A. D. (2002). Potato phenol oxidases immobilized s-triazine containing dialdehyde: An efficient biocatalysts for bioremediation of phenols. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 61(8), 621–624.
- García, L.; Giraldo, G. i Mendivil, C. (2006). Cinética Enzimática De La Polifenol Oxidasa Del Banano Gros Michel En Diferentes Estados De Maduración. *Facultad De Química Farmacéutica*, 1–7.
- Gómez, J. i López, A. (2009). Aplicaciones del ultrasonido en el tratamiento de alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 3–1, 59–73.
- González, H. (2000). Producción de patatas: consideraciones sobre su cultivo y conservación. *Revista Patatas*, 5, 70.
- Islam, M. N.; Zhang, M. i Adhikari, B. (2014). The Inactivation of Enzymes by Ultrasound—A Review of Potential Mechanisms. *Food Reviews International*, 30(1), 1–21. <https://doi.org/10.1080/87559129.2013.853772>
- Konica Minolta Sensing. (2003). Entendiendo El Espacio de Color CIE L\*A\*B\*. [Consulta: 25 abril 2017]. Disponible a: <http://sensing.konicaminolta.com.mx/2014/09/entendiendo-el-espacio-de-color-cie-lab/#stq=&stp=0>
- Loyola, N.; Oyarce, E. i Acuña, C. (2010). Evaluación Del Contenido De Almidón En Papas. *IDESIA*, 28(2), 41–52. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292010000200005>
- Manohan, D. i Wong, C. W. (2012). Characterization of Polyphenol Oxidase in Sweet Potato (*Ipomoea Batatas* (L.)). ... *for the Advancement of Science & Arts*, 3(1), 14–31.
- O'Brien, W. D. (2007). Ultrasound-biophysics mechanisms. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 93(1–3), 212–255. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2006.07.010>
- O'Donnell, C. P.; Tiwari, B. K.; Bourke, P. i Cullen, P. J. (2010). Effect of ultrasonic processing on food enzymes of industrial importance. *Trends in Food Science and Technology*, 21(7), 358–367. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.04.007>
- Patist, A. i Bates, D. (2008). Ultrasonic innovations in the food industry: From the laboratory to commercial production. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9(2), 147–154. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.07.004>
- Piyasena, P.; Mohareb, E. i McKellar, R. (2003). Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 87(3), 207–216. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00075-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00075-8)

- Queiroz, C.; Mendes Lopes, M. L.; Fialho, E. i Valente-Mesquita, V. L. (2008). Polyphenol Oxidase: Characteristics and Mechanisms of Browning Control. *Food Reviews International*, 24(4), 361–375.  
<https://doi.org/10.1080/87559120802089332>
- Robinson, D. S. i Eskin, N. A. M. (1991). *Oxidative enzymes in foods*. London; New York: Elsevier Applied Science.
- Robles, L. E. i Ochoa, L. A. (2012). Ultrasonido y sus aplicaciones en el procesamiento de alimentos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 13 (2).
- Yeoh, W. K. i Ali, A. (2017). Ultrasound treatment on phenolic metabolism and antioxidant capacity of fresh-cut pineapple during cold storage. *Food Chemistry*, 216, 247–253. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.074>



