

## EVALUACIÓN DE TRATAMIENTOS TÉRMICOS PARA INACTIVACIÓN DE ENZIMAS EN JUGO DE FIQUE (*Furcraea gigantea Vent.*)

## EVALUATION OF THERMAL TREATMENTS FOR INACTIVATION OF ENZYMES IN FIQUE JUICE (*Furcraea gigantea Vent.*)

## AVALIAÇÃO DE TRATAMENTO TÉRMICO PARA INATIVAÇÃO DE ENZIMAS EM SUCO DE SISAL (*Furcraea gigantea Vent.*)

LAURA INÉS LATORRE V.<sup>1</sup>, ANA LUCIA PANTOJA CH.<sup>1</sup>, DIEGO FERNANDO MEJÍA-ESPAÑA.<sup>2</sup>,  
OSWALDO OSORIO M.<sup>3</sup>, ANDRES MAURICIO HURTADO B.<sup>4</sup>

### RESUMEN

*El objetivo de este trabajo fue evaluar distintos tratamientos térmicos para inactivar las enzimas que causan el deterioro del jugo de fique sin alterar sus propiedades biocidas. Como indicador de un proceso exitoso se midió la actividad enzimática residual de las enzimas Peroxidasa (POD) y Polifenol oxidasa (PPO) causantes de alteración en distintos jugos vegetales. Para verificar que el tratamiento no afectó las propiedades biocidas del jugo se llevaron a cabo pruebas de inhibición de crecimiento micelial in vitro de *P. infestans*. El baremo de pasteurización que presentó*

**Recibido para evaluación:** 18/08/2011. **Aprobado para publicación:** 11/02/2013

- 1 Ingeniera Agroindustrial. Universidad de Nariño. Facultad de Ingeniería Agroindustrial. Grupo de Investigación Tecnologías Emergentes en Agroindustria (TEA). Pasto, Colombia.
- 2 Ingeniero Agroindustrial. MSc. Ciencias Agrarias. Énfasis en Producción de Cultivos. Docente Investigador Facultad de Ingeniería Agroindustrial Universidad de Nariño. Grupo de investigación Tecnologías Emergentes en Agroindustria (TEA). Pasto, Colombia.
- 3 Ingeniero Agroindustrial. PhD. Ciencia y Tecnología de Alimentos. Docente Investigador Facultad de Ingeniería Agroindustrial Universidad de Nariño. Grupo de investigación Tecnologías Emergentes en Agroindustria (TEA). Pasto, Colombia.
- 4 Ingeniero Químico. PhD Ciencia de Alimentos. Docente Investigador Facultad de Ingeniería Agroindustrial Universidad de Nariño. Grupo de investigación Tecnologías Emergentes en Agroindustria (TEA). Pasto, Colombia.

**Correspondencia:** diegomejiaes@udenar.edu.co

un menor crecimiento del fitopatógeno (2,1%), así como una reducción aceptable de la actividad enzimática (10,6% para POD y 3,2% para PPO), fue 75°C por 4 minutos. Se concluye que el tratamiento aplicado permite preservar las propiedades biocidas del jugo.

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate different heat treatments to inactivate enzymes that cause deterioration of sisal juice without altering its biocide properties. As an indicator of a successful process, residual enzymatic activity of peroxidase (POD) and polyphenol oxidase (PPO) was measured. To verify that the treatment did not affect the juice's biocide properties, micelial growth tests were carried out to assay in vitro inhibition of *P. infestans*. The successful pasteurization treatment that showed a lower growth of phytopathogen (2,1%) and an acceptable reduction on enzyme activity (10,6% for POD and 3,2% for PPO), was 75°C during 4 minutes. We conclude that the treatment applied preserves the biocide properties of the juice.

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar diferentes tratamentos térmicos para inativar enzimas que causam a deterioração do suco de sisal sem alterar suas propriedades biocidas. Como um indicador de um processo bem sucedido foi medida a actividade enzimática residual do enzima peroxidase (POD) e da polifenol oxidase (PPO), causando alterações na sumos de vegetais diferentes. Para verificar que o tratamento não afectou os testes propriedades biocidas suco foram realizadas a inibição do crescimento micelial in vitro de *P. infestans*. A pasteurização mostrou uma escala menor crescimento do micélio (2,1%) e uma redução da actividade da enzima aceitável (10,6% para 3,2% para o POD e PPO), foi de 75 ° C durante 4 minutos. Concluímos que o tratamento aplicado preserva as propriedades biocidas do suco.

## INTRODUCCIÓN

El jugo de fique variedad Negra Común (*Furcraea gigantea Vent.*) es un subproducto del proceso de obtención de fibra de cabuya; el proceso de desfibrado se lleva a cabo en el mismo lote de cultivo y el lavado de la cabuya se hace muchas veces en ríos y quebradas aledaños al mismo, causando contaminación y muerte de la ictio fauna que lo habita [1].

El porcentaje de aprovechamiento actual de la hoja es del 4%, los residuos del proceso de extracción constituyen el 96% del peso de la hoja, de los cuales el 50% lo constituyen los jugos de fique [2], que actualmente no está siendo aprovechado [3].

El jugo de fique además de ser un residuo en la producción de fibras naturales, es una sustancia que se caracteriza por tener propiedades tensoactivas, plaguicidas, y por poseer esteroides naturales entre los que se han encontrado saponinas [4], fitoesteroides [5], alcaloides, flavonoides,

## PALABRAS CLAVE:

Actividad enzimática, Pasteurización, Peroxidasa, *Phytophthora infestans*, Polifenol oxidasa.

## KEY WORDS:

Enzyme activity, Pasteurization, Peroxidase, *Phytophthora infestans*, Polyphenol oxidase.

## PALAVRAS-CHAVE:

Actividade enzimática, Pasteurização, Peroxidase, *Phytophthora infestans*, Polifenóis oxidase.

taninos, cumarinas, esteroides, quinonas y glucósidos cardiotónicos [6], entre otras.

Existen numerosos reportes que hablan sobre la diversa actividad biológica de estas sustancias [7, 8]. En Colombia se ha reportado algunos estudios *in vitro* del extracto de fique para determinar la acción biocida de esta sustancia sobre las estructuras micelial y conidial de los hongos fitopatógenos *Colletotrichum gloeosporoides* y *Sclerotinia sclerotiorum*, causantes de las enfermedades conocidas como pudrición algodonosa del lulo (*Solanum quitoense*), antracnosis en tomate de árbol (*Solanum betaceum*) [9], *Trichoderma* 33 spp. y *Fusarium* 34 spp [10], y tizón tardío o gota de la papa causado por el pseudohongo *Phytophthora infestans* [11, 12, 13].

Las propiedades biocidas del jugo de fique pueden alterarse o perderse debido a su rápida degradación a temperatura ambiente [11], lo cual se puede controlar con métodos de conservación, que emplean efectos físicos o químicos que impiden o retardan la descomposición de material biológico; como calor, frío, control de actividad de agua, entre otras [14].

Los métodos de conservación más comúnmente utilizados se basan en la aplicación de tratamientos térmicos, debido a su amplia difusión, facilidad de uso y versatilidad, que se evidencia en los diversos productos investigados, como es el caso de zanahoria [15], calabaza [16], arazá [17], hojas de menta [18], thymus [19], aguacate [20], lechuga [21], fresa [22] y uvas [23] entre otros.

Los tratamientos térmicos estabilizan productos porque tienen la capacidad de destruir microorganismos e inactivar enzimas [24] provocando un mínimo daño a las sustancias de interés en el producto.

Entre los agentes causales de deterioro en los jugos vegetales se encuentran las enzimas peroxidasa (POD) y polifenol oxidasa (PPO). Además de tener un importante papel en la fisiología de las plantas, estas enzimas son de gran interés en la tecnología de alimentos, debido a su influencia sobre la calidad de frutas y vegetales crudos y procesados [25, 26, 27].

La medición de actividad enzimática residual en el jugo tratado térmicamente se toma, pues, como un indicador de un tratamiento satisfactorio. Los valores de actividad residual comúnmente encontrados varían mucho para cada tratamiento y espe-

cie tratados, pero se ha establecido que un 10% de actividad residual de la enzima más termoestable en el jugo pasteurizado, es un indicador de un tratamiento adecuado.

Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue evaluar la efectividad de diferentes tratamientos térmicos que inactiven las enzimas peroxidasa y polifenol oxidasa, conservando las propiedades biocidas del jugo de fique, frente al fitopatógeno *Phytophthora infestans* a nivel *in vitro*, el cual es el principal limitante para el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) en Colombia [28].

## MÉTODO

### Extracción de jugo de fique

El jugo de fique se extrajo a partir de pencas de variedad Negra Común procedentes del municipio de El Tambo (Nariño). Las muestras se almacenaron en congelación (-23°C) con el propósito de evitar su degradación; el jugo se procesó al día siguiente.

### Extracción enzimática

La extracción de las enzimas se llevó a cabo siguiendo el procedimiento de Gonzales *et. al.*, (2000), con algunas modificaciones [29].

**Peroxidasa.** Se centrifugaron 5 mL de jugo con 5 mL de buffer fosfato 0,05M pH 6,5 y Tritón X-100 al 1,5% respecto al buffer, a 5.000 rpm por 15 minutos a 4°C.

**Polifenol Oxidasa.** El jugo se centrifugó a 5.000 rpm por 15 minutos a 4°C; se recogió 25 gr de precipitado el cual se reconstituyó en 75 mL de buffer fosfato 0,05M pH 6,5 con PVPP al 2% y Tritón X-100 al 1,5% respecto al buffer y se centrifugó a 8.000 rpm por 20 minutos a 4°C.

El sobrenadante recolectado constituyó el extracto de las enzimas utilizado para realizar los ensayos.

### Determinación de la actividad enzimática

La actividad de POD fue determinada aplicando el método propuesto por Morales-Blancas (2002) con algunas modificaciones; se preparó diariamente una solución sustrato con 99,8 mL de buffer fosfato 0,2 M pH 6,5, al cual se añadieron 0,1 mL de guayacol

al 98% y 0,1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30%. De esta solución sustrato se tomó 3,48 mL y se mezcló con 120 µL de extracto [25].

En PPO la actividad se determinó siguiendo la metodología de Osorio (2008), modificada. Se mezcló 1,8 mL de buffer fosfato 0,2 M pH 6,5, con 1,0 mL de catecol 0,175 M, 0,1 mL de p-fenilendiamina 0,1% y 0,1 mL de extracto [30].

El aumento de absorbancia se midió en un espectrofotómetro Genesys 10 UV – VIS con escaneo de 6 celdas, durante diez (10) minutos, a longitudes de onda de 470 nm para POD y 420 nm para PPO; para ambas enzimas se utilizó como blanco el buffer de reacción (sin extracto enzimático).

La actividad enzimática se determinó como el cambio de absorbancia por min ( $\Delta$ Abs/min) bajo las condiciones de ensayo a 25°C. Para calcular el  $\Delta$ Abs/min, solamente se toma la parte lineal de la curva de absorbancia [18].

La actividad residual (AR) se determinó como:

$$\% AR = (A/A_0) * 100 \quad (\text{Ec. 1})$$

donde: A = actividad enzimática después del tratamiento térmico (Abs/min) y A<sub>0</sub> = actividad enzimática antes del tratamiento térmico (Abs/min) [31].

### Inactivación térmica

Los ensayos se llevaron a cabo en un baño termostático, con agitación y una precisión de +/- 0,1°C donde se introdujeron tubos de ensayo con 5 mL de jugo a temperaturas de 70, 75, 80, 85 y 90°C por tiempos de 2, 3, 4, 5 y 6 minutos. Posteriormente se introdujeron en un baño de agua con hielo con el fin de realizar el choque térmico. Todas las pruebas se realizaron por triplicado.

### Crecimiento micelial de *P. infestans*

Se evaluó el crecimiento radial de las colonias de *Phytophthora infestans* luego de ocho días después de la inoculación. Para esto, discos de micelio de 1,1 cm de diámetro del patógeno, se establecieron en cajas petri con medio agar tomate, enmendado con jugo de fiqué pasteurizado a 75.000 ppm [12].

Se evaluaron los tratamientos térmicos a temperaturas 70, 75, 80, 85 y 90°C por tiempos de 2, 3, 4, 5 y 6 minutos, los ensayos se realizaron por triplicado. El testigo absoluto (sin enmendar) se utilizó como comparador.

El porcentaje de crecimiento (PC) se calculó como se muestra en la ecuación 2:

$$PC = ((DMCM - 1.1) / DMCA) * 100 \quad (\text{Ec. 2})$$

donde: DMCM = diámetro medio de colonia creciente en el tratamiento (cm), 1.1 = diámetro del micelio (cm) y DMCA = diámetro medio de colonia sin enmendar (cm).

### Diseño experimental y análisis de datos

El análisis estadístico para la inactivación de las enzimas (POD y PPO), y la conservación del potencial biocida del jugo de fiqué, se realizó con ayuda del programa estadístico InfoStat Versión 2012, mediante un análisis de varianza con un diseño factorial multinivel con dos factores: tiempo (5 niveles: 2, 3, 4, 5 y 6 minutos) y temperatura (5 niveles: 70°C, 75°C, 80°C, 85°C y 90°C). Como variable de respuesta se tiene la actividad residual se las enzimas POD y PPO, y el crecimiento micelial de las colonias de *Phytophthora infestans*. Se realizó un análisis de correlación entre las variables de respuesta por medio de un coeficiente de correlación de Pearson.

## RESULTADOS

La cinética de las enzimas (figura 1), presentó valores de absorbancia mayores en PPO, pero el incremento de los mismos es menor que en POD, como se puede ver en el valor de la pendiente para cada una:

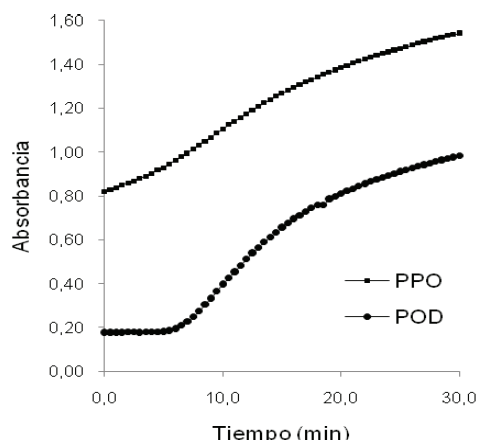
$$A_0 \text{ POD} = 0.0585 \text{ Abs/min}$$

$$A_0 \text{ PPO} = 0.0347 \text{ Abs/min}$$

A partir de los datos de absorbancia se calculó la actividad inicial A<sub>0</sub>, la cual es la pendiente de la fracción lineal de la curva y a su vez es indispensable para la determinación de la actividad residual de cada tratamiento.

**Inactivación térmica de peroxidasa.** El efecto de los tratamientos térmicos aplicados al jugo de fiqué sobre

**Figura 1.** Actividad enzimática inicial



la enzima POD se muestra en la figura 2, para temperaturas entre 70 y 90°C y tiempos de 2 a 6 minutos.

La actividad de la enzima POD muestra una reducción considerable con la aplicación de tratamientos térmicos desde aproximadamente un 65% hasta un 98% de su actividad inicial. Los resultados se muestran en escala logarítmica para mayor claridad.

Claramente se aprecia que temperaturas bajas de tratamiento a distintos tiempos no inhiben satisfactoriamente la actividad de POD. Por el contrario, a medida que los tiempos y temperaturas de pasteurización se incrementaron, la actividad de la enzima disminuyó.

Diversos autores han reportado la presencia de dos fracciones de la enzima; una termo lábil que es inac-

tivada fácilmente a bajas temperaturas y otra termo resistente [15, 25]. La actividad de la fracción termo resistente es la que debe inhibirse para lograr que el tratamiento térmico sea exitoso.

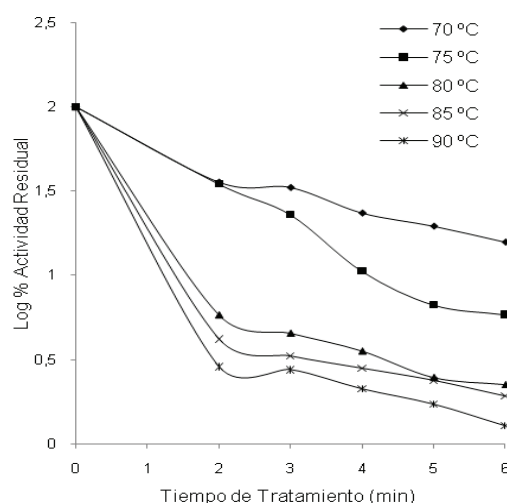
Los porcentajes de inactivación logrados están en el rango reportado por otros autores en brócoli (1%), es-párragos (15%) y zanahoria (10%) tras un tratamiento de 95°C por 10 minutos [25] y 84°C [32]. En coliflor se obtuvo una reducción del 50% en la actividad enzimática tratada a 50°C por 3 minutos y alrededor del 98% a los 15 minutos [33]. En hojas de menta, se obtuvo una mayor reducción de la actividad enzimática de POD en tiempos cortos a temperaturas superiores a los 80°C [18]. En calabaza, la actividad residual de POD decrece rápidamente con tratamientos a temperaturas superiores a 70°C mientras que a temperaturas inferiores tarda aproximadamente 10 minutos en reducir la actividad en un 90% [16].

**Inactivación térmica de polifenol oxidasa.** La enzima PPO de jugo de fique entre 75 y 90°C muestra una disminución significativa alrededor del 90% de su actividad inicial.

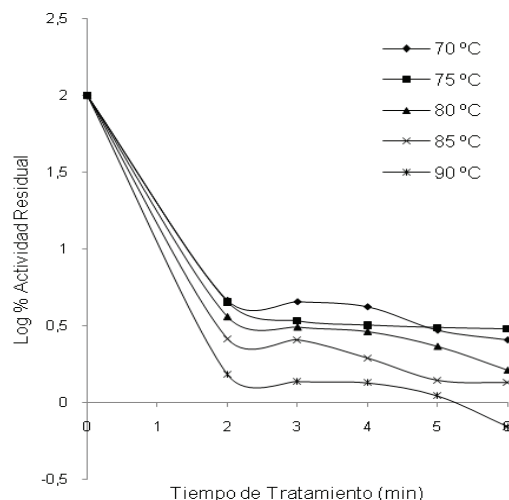
La figura 3 muestra los datos del logaritmo de la actividad residual en porcentaje como función del tiempo de tratamiento.

Los resultados obtenidos son similares a los reportados en cereza, donde la enzima se desestabiliza por encima de 75°C [34], en pera se inactivó por completo a 70 °C por 10 minutos y en manzana la inactivación total se produjo a 70 °C por 30 minutos [35]; en ba-

**Figura 2.** Actividad residual de POD



**Figura 3.** Actividad residual para PPO



nana la enzima se inactivó alrededor del 80% entre 60 y 75 °C [36], en piña se muestra una reducción de aproximadamente 60% después de la exposición entre 40-60°C por 30 minutos [37], y en lechuga se inactivó hasta un 50% de su actividad inicial a 50, 60 y 70°C por 30, 20 y 5 minutos respectivamente [38].

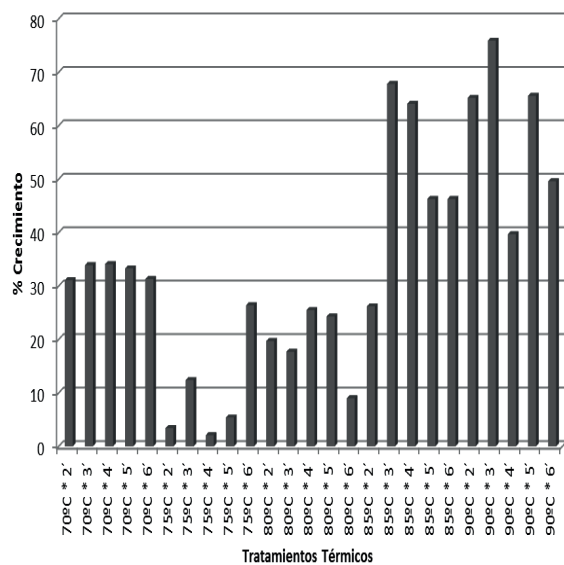
**Crecimiento micelial de *P. infestans***

La presencia de sustancias como saponinas, flavonoides y alcaloides aporta al jugo de fique un interesante potencial como bioinsumo.

Por lo tanto al aplicar un tratamiento térmico, como método de conservación, se observó que al incrementar la temperatura y el tiempo, estas sustancias tienden a perder sus efectos de inhibición en *P. infestans*, lo cual se confirmó con la investigación a escala *in-vitro*. Similares resultados fueron reportados por Álvarez (2010), quien encontró un efecto letal del bioinsumo a una concentración de 75.000 ppm en ensayos *in-vitro* con jugo fermentado y tratado a 65°C por 30 minutos [12].

La figura 4 presenta los porcentajes de crecimiento micelial de *P. infestans* en medio enmendado con jugo tratado a distintos tratamientos, presentándose el menor crecimiento en los tratamientos 75°C por 2, 4 y 5 minutos y 80°C por 6 minutos con valores de 3,4%, 2,1%, 5,4% y 9,0% respectivamente. Esto confirma los resultados alcanzados por Solarte et al., (2011) [13] y Álvarez et al., (2010) [12].

Figura 4. % Crecimiento de *P. infestans*



**Análisis de datos**

**Análisis estadístico de peroxidasa.** El modelo se ajusta con un porcentaje de variabilidad del 84%, siendo estadísticamente significativos los factores tiempo y temperatura con un p-valor menor de 0,05 como se muestra en el Cuadro 1, con un nivel de confianza del 95%.

Según el test de Tukey para la actividad residual de POD el tiempo y la temperatura presentan dos grupos homogéneos representados por la letra común en la Figura 5., con un nivel de significancia de 0,05 como se aprecia en la figura 5. En este caso, es la temperatura el factor que ejerce mayor efecto sobre la actividad de la enzima.

**Análisis estadístico de polifenol oxidasa.** Los resultados de actividad residual de la enzima PPO frente a los tratamientos aplicados (Cuadro 2.) presentan un porcentaje de variabilidad del 94%, encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre los factores, a un nivel de confianza del 95%.

Al realizar una comparación de medias de los factores tiempo y temperatura según el test de Tukey, a un nivel de significancia de 0,05, se encuentran cuatro grupos homogéneos representados por la letra común, tal como se muestra en la Figura 6., para cada factor. Esto indica que en PPO ambos factores estudiados afectan la actividad enzimática.

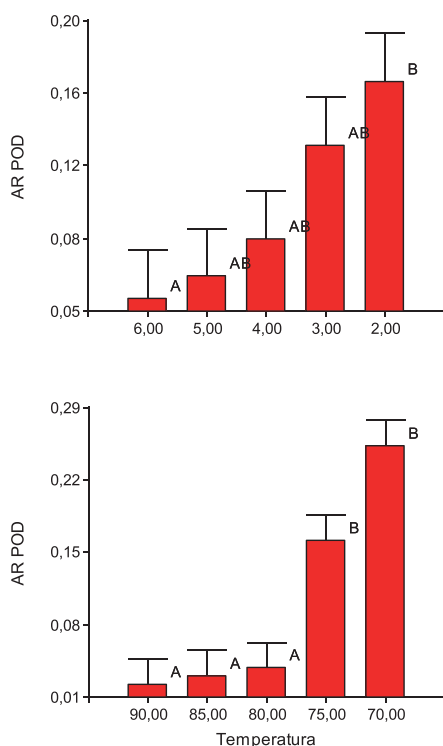
**Análisis estadístico del crecimiento micelial de *P. infestans*.** Según el análisis de varianza (Cuadro 3.), el modelo presenta un porcentaje de variabilidad del 81%, Solo el factor temperatura presenta diferencias estadísticamente significativa entre tratamientos con un p-valor menor a 0,05 y un nivel de confianza del 95%. El factor tiempo no presenta

Cuadro 1. Análisis de Varianza para AR POD

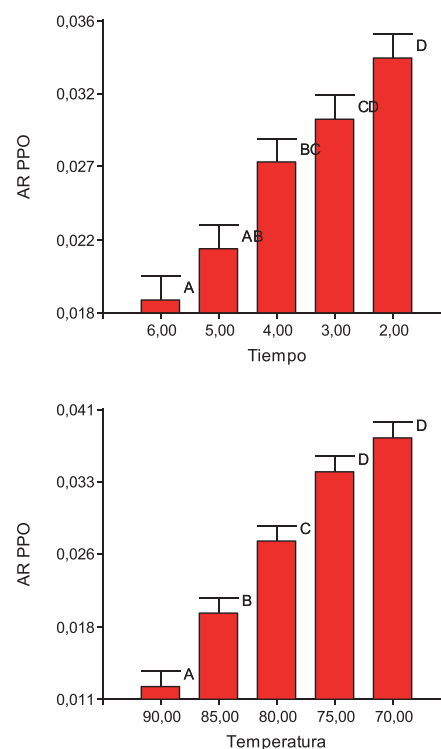
Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj.	CV	
AR POD	25	0,84	0,77	54,09	
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,26	8	0,03	10,89	0,0001
Tiempo	0,05	4	0,01	3,80	0,0234
Temper.	0,21	4	0,05	17,98	0,0001
Error	0,05	16	3E <sup>-03</sup>		
Total	0,31	24			



**Figura 5.** Gráfica de barras para AR POD



**Figura 6.** Grafica de barras para AR PPO



**Cuadro 2.** Análisis de Varianza para AR PPO

Variable	N		R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj.	CV
<b>AR POD</b>	<b>25</b>		<b>0,94</b>	<b>0,91</b>	<b>12,79</b>
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3E-03	8	3,7E-03	33,04	0,0001
Tiempo	7,7E-03	4	1,9E-03	16,95	0,0001
Temper.	2,2E-03	4	5,6E-03	49,13	0,0001
Error	1,8E-03	16	1,1E-03		
Total	3,2E-03	24			

**Cuadro 3.** Análisis de Varianza para crecimiento

Variable	N		R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj.	CV
AR POD	25		0,81	0,71	33,43
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,89	8	0,11	8,47	0,0002
Tiempo	0,04	4	0,01	0,80	0,5406
Temper.	0,85	4	0,21	16,14	0,0001
Error	0,21	16	0,01		
Total	1,10	24			

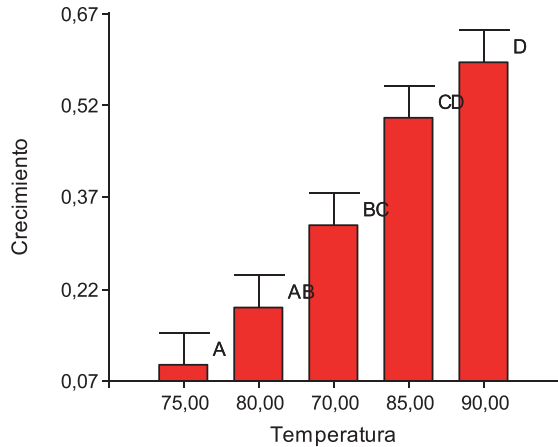
diferencias entre los tratamientos, el cual no afecta el crecimiento micelial del fitopatógeno.

El factor tiempo no presenta diferencias significativas entre tratamientos. Según la comparación de medias con el test de Tukey a un nivel de significancia de 0,05, el factor temperatura presenta 4 grupos homogéneos, representado por las letras comunes (Figura 7.).

Siendo la temperatura el factor determinante en el crecimiento micelial de *P. infestans* se puede inferir que a la temperatura de 75 y 80°C se presenta el menor crecimiento (Figura 7.)

**Análisis de correlación.** Al realizar una correlación entre los datos de las variables de respuesta (Cuadro 4) crecimiento del fitopatógeno y actividad residual de las enzimas peroxidasa y polifenol oxidasa, se encuentra una relación inversa entre la actividad enzimática residual y el crecimiento del fitopatógeno; a mayor porcentaje de actividad, menor crecimiento radial de las colonias de *P. infestans*, y a menor actividad residual se incrementa el crecimiento micelial.

Figura 7. Gráfica de barras para crecimiento



Cuadro 4. Correlación de Pearson

Coef / Probab	Crecimiento	AR POD	AR PPO
Crecimiento	1,00		
AR POD	-0,36	1,00	
AR PPO	-0,57	0,82	1,00

Esto indica que la aplicación de un tratamiento muy agresivo, disminuye considerablemente la actividad de las enzimas provocando una disminución en la actividad biocida del jugo, lo que se evidencia en un mayor crecimiento del fitopatógeno.

## CONCLUSIONES

El comportamiento de la actividad enzimática residual es decreciente con el incremento de la temperatura; los grupos homogéneos indican que existe una fracción termolábil la cual es inactivada rápidamente y una termo resistente la cual no puede ser inactivada completamente en estos rangos de temperatura y tiempo.

Con la aplicación de los tratamientos térmicos se consiguió una reducción considerable de la actividad enzimática expresada como actividad residual de las enzimas estudiadas, siendo el mejor tratamiento 75°C por 4 minutos con el menor porcentaje de crecimiento de 2.1%.

Se logró una actividad residual de 10.6% para POD y 3.2% para PPO, por lo cual se cumple con el objetivo de conservar sus características biocidas y evitar su degradación.

## AGRADECIMIENTOS

A la Vicerrectoría de Investigaciones, Postgrados y Relaciones Internacionales (VIPRI) de la Universidad de Nariño, por su apoyo económico tras la aprobación del proyecto según acuerdo No. 039 de 2010 y al grupo de investigación Tecnologías Emergentes en Agroindustria (TEA) por su apoyo técnico científico durante el desarrollo del proyecto.

## REFERENCIAS

- [1] SERVICIO NACIONAL DE APRENDIZAJE (SENA). Caracterización ocupacional del subsector fiquero de Colombia. Pasto (Colombia): Impresiones Ángel, 2006, 196 p.
- [2] CADEFIQUE Secretaría técnica nacional del fique. Cadena Agroindustrial del Fique. Informe de coyuntura. Bogotá (Colombia): 2006, 122 p.
- [3] EMPRESA COOPERATIVA DE FIBRAS SANTANDER LIMITADA (ECOFIBRAS). Memorias VI Encuentro Nacional de Fique. Provincia del Alto Ricaurte, 2005, 25 p.
- [4] SPARG, S.G., LIGHT, M.E. and VAN STADEN, J. Review. Biological activities and distribution of plant saponins. Journal of Ethnopharmacology, 94, 2004, p. 219-243.
- [5] GÓMEZ, M. y VANEGAS, E. Evaluación de la producción de esteroides a partir del jugo de fique con *Cunninghamella spp* [Tesis pregrado]. Medellín (Colombia): Universidad Pontificia Bolivariana de Medellín, Facultad de Ingeniería Química, 2001.
- [6] BENAVIDES, O.L., HURTADO A., ARANGO, O., BACCA, D. y ROJAS, M. Estudio fotoquímico del jugo de fique de las variedades Negra Común y Uña de Águila de los municipios de El Tambo y Guaitarilla (Nariño-Colombia). Memorias XXIX Congreso Latinoamericano de Química. Cartagena (Colombia): 2010.
- [7] VERÁSTEGUI, M.A., SÁNCHEZ, C.A., HEREDIA, N.L. and GARCIA-ALVARADO, J.S. Antimicrobial activity of extracts of three major plants from the Chihuahuan desert. Journal of Ethnopharmacology, 52, 1996, p. 175-177
- [8] GARCÍA, M.D., SÁENZ, M.T., PUERTA, R., QUILEZ, A., and FERNÁNDEZ, M.A. Antibacterial activity of *Agave intermixta* and *Cissus sicyoides*, Fitoterapia, 70, 1999, p. 71-73.
- [9] GÓMEZ, J. Evaluación del extracto de fique en el desarrollo *in-vitro* de *Colletotrichum gloeospor-*



- roides* (Penz) Penz & Sacc. y *Sclerotinia sclerotiorum*. (Lib.) de Bary. IV Seminario Nacional de Frutales de Clima Frio Moderado. Popayan (Cauca): 2001, p. 183-188.
- [10] ACEVEDO, J. y SERNA, E. Optimización del proceso de extracción de material orgánico procedente de fique (*Furcraea* spp) y observación del efecto biofungicida [online]. Available: <http://www.agronet.gov.co>, pág. 200. 2004.
- [11] ROJAS, M. Elaboración y evaluación de un bioinsumo a partir del jugo de fique (*Furcraea* spp.) para el control de la gota (*Phytophthora infestans*) del cultivo de la papa en el departamento de Nariño [Tesis pregrado]. Pasto (Nariño): Universidad de Nariño, Facultad de Ingeniería Agroindustrial, 2008, 120 p.
- [12] ÁLVAREZ, D.E., SALAZAR, C., HURTADO, A.M., DELGADO, D. y ARANGO, O. Sensibilidad *in vitro* de *Phytophthora infestans* al extracto de fique (*Furcraea gigantea* Vent.) y fungicidas sistémicos. Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial, 9(2), 2011, p. 96-104.
- [13] SOLARTE, R., OSORIO, O., HURTADO, A. y MEJIA, D. Evaluación del bioinsumo de fique pulverizado (*Furcraea* spp) para el control *in vitro* de *Phytophthora infestans* en papa (*Solanum tuberosum* L). Información Tecnológica, 23 (3), 2012, p. 77 - 78.
- [14] FELLOWS, P. Tecnología del procesado de los alimentos: Principios y prácticas. Zaragoza (España) : Acribia, 1994, 549 p.
- [15] SOYSAL, C. and SOYLEMEZ, Z. Kinetics and inactivation of carrot peroxidase by heat treatment. Journal of Food Engineering, 68, 2005, p. 349-356.
- [16] AGÜERO, M.V., ANSORENA, M.R., ROURA, S.I. and DEL VALLE, C.E. Thermal inactivation of peroxidase during blanching of butternut squash, LWT Food Science and Technology, 41(3), 2008, p. 401-407.
- [17] NARVÁEZ-CUENCA, C.E. Extracción y medida de peroxidasa en pulpa de arazá (*Eugenia stipitata* MC Vaugh). Quím. Nova, 31(8), 2008, p. 2047-2051.
- [18] RUDRA-SHALINI, G., SHIVHARE, U.S. and BASU, S. Thermal inactivation kinetics of peroxidase in mint leaves, Journal of Food Engineering, 85(1), 2008, p. 147-153
- [19] DOGAN, S. and DOGAN, M. Determination of kinetic properties of polyphenol oxidase from *Thymus* (*Thymus longicaulis* subsp. *chaubardii* var. *chaubardii*), Food Chemistry, 88(1), 2004, p. 69-77.
- [20] LUIZ, R.C., HIRATA, T.A.M. e CLEMENTE, E. Cinética de inativação da polifenoloxidase e peroxidase de abacate (*Persea americana* Mill.). Ciênc. agrotec., 31(6), 2007, p. 1766-1773.
- [21] GRAWLIK-DZIKI, U., SZIMANOWSKA, U. and BARANIAK, B. Characterization of polyphenol oxidase from broccoli (*Brassica oleracea* var. *botrytis italica*) florets. Food chemistry, 105 (3), 2007, p. 1047-1053.
- [22] OSORIO, O. MARTÍNEZ-NAVARRETE, N., MORAGA, G. and CARBONELL, J.V. Effect of thermal treatment on enzymatic activity and rheological and sensory properties of strawberry purees. Food Science and Technology International, 14 (5 suppl), 2008, p. 103-108.
- [23] RAPEANU, G., VAN LOEY, A., SMOUT, C. and HENDRICX, M. Biochemical characterization and process stability of polyphenol oxidase extracted from Victoria grape (*Vitis vinifera* ssp. *sativa*). Food chemistry, 94 (2), 2006, p. 253-261.
- [24] CRUZ, M., VIEIRA, C. and SILVA, L. Effect of heat and thermosonication treatments on watercress (*Nasturtium officinale*) vitamin C degradation kinetics. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 9 (4), 2008, p. 483-488.
- [25] MORALES-BLANCAS, E.F., CHANDIA, V.E. and CISNEROS-ZEVALLOS, L. Thermal Inactivation Kinetics of peroxidase and lipoxygenase from broccoli, green asparagus and carrrots. Journal of Food Science, 67 (1), 2002, p. 146-154.
- [26] PRESTAMO, G. and MANZANO, P. Peroxidases of selected fruits and vegetables and the possible use of ascorbic acid as an antioxidant. Hort Science, 28 (1), 1993, p. 48-50.
- [27] ROBINSON, D.S. Peroxidase and catalase in foods. Elsevier Applied Science, 1991, 49 p.
- [28] RODRÍGUEZ-POLANCO, E. and GARCÍA, C. Efecto de la combinación de un fungicida protectante y la resistencia poligénica a *Phytophthora infestans* en el manejo de la gota en papa. Fitopatología Colombiana, 24 (2), 2000, 83 p.
- [29] GONZALES, E.M., ANCOS, B. and CANO, M.P. Partial characterization of peroxidase and polyphenol oxidase activities in blackberry fruits. J. Agric. Food Chem., 48 (11), 2000, p. 5459 - 5464.
- [30] OSORIO, O. Influencia de tratamientos térmicos en la calidad y estabilidad del puré de fresa (*Fragaria x Ananassa*, cv *Camarosa*) [Tesis Docto-

- ral]. Valencia (España): Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de Tecnología de Alimentos, 2008, 172 p.
- [31] MATSUI, K.N., GRANADO, L.M., DE OLIVEIRA, P.V. and TADINIA, C.C. Peroxidase and polyphenol oxidase thermal inactivation by microwaves in green coconut water simulated solutions. *LWT - Food Science and Technology*, 40 (5), 2007, p. 852-859.
- [32] ANTHON, G.E. and BARRETT, D.M. Kinetic Parameters for the Thermal Inactivation of Quality-Related Enzymes in Carrots and Potatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (14), 2002, p. 4119-4125.
- [33] LEE, C.Y., PENNESI, A.P. and DICKSON, M.H. Characterization of the cauliflower peroxidase isoenzyme. *J. Agric. Food Chem.*, 32 (1), 1984, p.18-21.
- [34] ANIL-KUMAR, V.B., KISHOR-MOHAN, T.C. and MURUGAN, K. Purification and kinetic characterization of polyphenol oxidase from Barbados cherry (*Malpighia glabra* L.). *Food Chemistry*, 110 (2), 2008, p. 328-333.
- [35] GASULL, E. y BECERRA, D. Caracterización de polifenoloxidasas extraídas de Pera (cv. Packam's Triumph) y Manzana (cv. Red Delicious). *Información Tecnológica*, 17 (6), 2006, p. 69-74.
- [36] ÜMIT-ÜNAL, M. Properties of polyphenol oxidase from Anamur banana (*Musa cavendishii*). *Food Chemistry*, 100 (3), 2007, p. 909-913.
- [37] CHUTINTRASRI, B. y NOOMHORM, A. Thermal inactivation of polyphenol oxidase in pineapple puree. *LWT - Food Science and Technology*, 39 (5), 2006, p. 492-495.
- [38] GAWLIK-DZIKI, U., ZLOTEK, U. and SWIECA, M. Characterization of polyphenol oxidase from butter lettuce (*Lactuca sativa* var. *capitata* L.). *Food Chemistry*, 107 (1), 2008, p. 129-135.