

ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y
AGROINDUSTRIA**

**OBTENCIÓN DE JUGO CLARIFICADO CONCENTRADO DE
MORTIÑO (*Vaccinium floribundum* Kunth) MEDIANTE EL USO DE
TECNOLOGÍA DE MEMBRANAS**

**PROYECTO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO
AGROINDUSTRIAL**

**DIEGO SANTIAGO TUPUNA YEROVI
santiagotupuna@hotmail.com**

**DIRECTORA: ING. JENNY CUMANDÁ RUALES NÁJERA, Ph.D.
jenny.ruales@epn.edu.ec**

Quito, septiembre 2012

© Escuela Politécnica Nacional (2012)
Reservados todos los derechos de reproducción

DECLARACIÓN

Yo, Diego Santiago Tupuna Yerovi, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Escuela Politécnica Nacional puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

Diego Santiago Tupuna Yerovi

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Diego Santiago Tupuna Yerovi, bajo mi supervisión.

Ing. Jenny Ruales Ph.D.
DIRECTORA DE PROYECTO

AUSPICIO

La presente investigación contó con el auspicio financiero del proyecto OPCW-EPN: “Valorización del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) y desarrollo de productos saludables con potencial interés comercial” a nombre de la Organización para la Prohibición de Armas Químicas (OPCW), que se ejecuta en el Departamento de Ciencia de Alimentos y Biotecnología.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	PÁGINA
RESUMEN	ix
INTRODUCCIÓN	xi
1 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	1
1.1 El mortiño (<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth)	1
1.1.1 Identificación taxonómica	2
1.1.2 Descripción botánica	2
1.1.3 Requerimientos agroclimáticos	3
1.1.4 Composición química	4
1.1.5 Usos	4
1.1.6 Ubicación geográfica en el Ecuador	4
1.2 Compuestos con capacidad antioxidante	6
1.2.1 Compuestos bioactivos	6
1.2.2 Antioxidantes	7
1.2.3 Compuestos fenólicos	9
1.3. Uso de enzimas en el procesamiento de pulpas	11
1.3.1 Generalidades	11
1.3.2 Aplicación de las enzimas en el procesamiento de frutas	12
1.3.3 Tratamiento enzimático en el proceso de despulpado	14
1.3.3.1 Tratamiento enzimático antes del despulpado	14
1.3.3.2 Tratamiento enzimático después del despulpado	15
1.3.3.3 Hidrólisis enzimática de pulpas previa al proceso de microfiltración tangencial	16
1.4. Tecnología de membranas	17
1.4.1 Definición de membrana y procesos de membrana	18
1.4.2 Clasificación de las membranas	18
1.4.3 Clasificación de las tecnologías de membranas	19
1.4.4 Módulos de membranas	20
1.4.5 Microfiltración tangencial (MFT)	20
1.4.5.1 Fenómenos durante el proceso de microfiltración por membranas	22
1.4.5.2 Ventajas de la MFT	24
1.4.5.3 Aplicaciones de la MFT	25
1.4.6 Ósmosis inversa	25
1.4.6.1 Introducción	25
1.4.6.2 Definición de ósmosis imversa	26
1.4.6.3 Descripción del proceso y terminología	27
1.4.6.4 Aplicaciones de la OI	28

2	PARTE EXPERIMENTAL	29
2.1	Materiales	29
2.2	Caracterización de la materia prima y productos obtenidos	30
2.2.1	Caracterización de la materia prima	30
2.2.1.1	Análisis físico-químicos	31
2.2.1.2	Composición química	33
2.2.2	Caracterización de productos obtenidos	38
2.2.2.1	Caracterización de jugos clarificados	38
2.2.2.2	Caracterización de jugos clarificados concentrados	41
2.3	Estudio del efecto del tratamiento enzimático en el proceso del despulpado	43
2.3.1	Desintegrado	43
2.3.2	Tratamiento enzimático	43
2.3.3	Despulpado	45
2.4	Estudio del efecto de la presión y tratamiento enzimático en el proceso de microfiltración tangencial	47
2.4.1	Estudio del efecto de la presión en el proceso de microfiltración tangencial	47
2.4.1.1	Microfiltración tangencial de pulpas hidrolizadas de Mortiño	48
2.4.1.2	Descripción del equipo de microfiltración tangencial	48
2.4.1.3	Proceso	49
2.4.2	Estudio del efecto del tratamiento enzimático en el proceso de microfiltración tangencial	51
2.5.	Obtención de jugo clarificado concentrado de mortiño por ósmosis inversa	52
2.5.1	Ósmosis inversa	52
2.5.1.1	Descripción del equipo de ósmosis inversa	52
2.5.1.2	Proceso	54
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	58
3.1	Caracterización de materia prima	58
3.1.1	Análisis físico-químicos	58
3.1.2	Composición química	59
3.2	Resultados del estudio del efecto del tratamiento enzimático en el rendimiento del proceso de despulpado de mortiño	61
3.3	Resultados del estudio del efecto de la presión y el tratamiento enzimático en el proceso de microfiltración tangencial	66
3.3.1	Efecto de la presión en el proceso de microfiltración tangencial	66
3.3.2	Efecto del tratamiento enzimático en el proceso de microfiltración tangencial de la pulpa de mortiño	72

3.4	Caracterización de jugos clarificados de mortiño	77
3.4.1	Análisis físico-químicos	77
3.4.2	Caracterización reológica	79
3.4.3	Análisis sensorial	80
3.5	Obtención de jugo clarificado concentrado de mortiño por ósmosis inversa	81
3.5.1	Proceso de obtención	81
3.5.2	Factores de concentración	84
3.6	Caracterización de jugos clarificados concentrados de mortiño	85
3.4.1	Análisis físico-químicos	85
3.4.2	Caracterización reológica	87
3.4.3	Análisis sensorial	89
4.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	90
4.1.	Conclusiones	90
4.2.	Recomendaciones	92
	BIBLIOGRAFÍA	93
	ANEXOS	104

ÍNDICE DE TABLAS

		PÁGINA
Tabla 1.1.	Análisis proximal, azúcares, ácidos orgánicos, minerales, contenido total de fenólicos y capacidad antioxidante en mortiño de Ecuador	5
Tabla 1.2.	Aplicaciones de enzimas en industria de procesamiento de frutas	13
Tabla 1.3.	Clasificación de las técnicas de filtración sobre membranas	19
Tabla 2.1.	Composición de la muestra de 600 g de jugo clarificado de 14 °Brix usada para el análisis sensorial	41
Tabla 2.2.	Composición de 700 g de muestra de jugo clarificado concentrado de 14 °Brix usada para el análisis sensorial	42
Tabla 2.3.	Especificaciones técnicas de membrana cerámica KERASEP	50
Tabla 2.4.	Especificaciones técnicas de la membrana de poliamida Aquious PCI Membranes	54
Tabla 3.1.	Análisis físico-químicos del mortiño (<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth)	58
Tabla 3.2.	Composición química del mortiño (<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth)	60
Tabla 3.3.	Peso de pulpa de mortiño obtenido en la extracción	62
Tabla 3.4.	Análisis de varianza para el peso obtenido de pulpa	62
Tabla 3.5.	Contraste múltiple de rango para peso de pulpa según el experimento	63
Tabla 3.6.	Contenido de antocianinas en cada etapa de extracción de pulpa de mortiño	65
Tabla 3.7.	Masa de permeado en las pruebas de MFT para alcanzar el FR de 1,5 y 2	70
Tabla 3.8.	Análisis de varianza de Mp para FR de 1,5	70
Tabla 3.9.	Análisis de varianza de Mp para FR de 2	71
Tabla 3.10.	Contenido de antocianinas en muestras de Ro y P para cada prueba de MFT	72
Tabla 3.11.	Análisis de varianza para el contenido de antocianinas en Ro	73
Tabla 3.12.	Análisis de varianza para el contenido de antocianinas en el P	73

Tabla 3.13.	Caracterización de jugos clarificados de mortiño	78
Tabla 3.14.	Promedios para cada atributo sensorial del jugo clarificado de mortiño	80
Tabla 3.15.	Caudales y frecuencias requeridos para ajustar la velocidad de circulación de la bomba del equipo de OI MICRO 240	82
Tabla 3.16.	Flujo de permeado inicial y final en la prueba de OI a distintas velocidades de circulación	82
Tabla 3.17.	Factores de concentración para el jugo clarificado concentrado de mortiño	85
Tabla 3.18.	Caracterización del jugo clarificado concentrado de mortiño	86
Tabla 3.19.	Promedios para cada atributo sensorial del jugo clarificado concentrado	89
Tabla A.1.	Datos del proceso de OI para obtención de jugo clarificado concentrado de mortiño	126

ÍNDICE DE FIGURAS

		PÁGINA
Figura 1.1.	Mortiño (<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth), recinto Morochos, Reserva Ecológica Cotacachi – Cayapas, Imbabura, Ecuador.	1
Figura 1.2.	Diagrama general de un proceso de filtración por membranas	18
Figura 1.3.	Esquema general de un proceso de microfiltración	21
Figura 1.4.	Microfiltración tangencial	22
Figura 1.5.	Esquema del fenómeno de ósmosis y ósmosis inversa	26
Figura 1.6.	Esquema general de un proceso de ósmosis inversa	27
Figura 2.1.	Mortiño fresco (<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth)	29
Figura 2.2.	Procesos de operación para la obtención de pulpa y jugo clarificado concentrado de mortiño	46
Figura 2.3.	Esquema del equipo de microfiltración tangencial utilizado	49
Figura 2.4.	Esquema del equipo de ósmosis inversa MICRO 240	53
Figura 3.1.	Variación del flujo de permeado en función del FR en la MFT de pulpas hidrolizadas “antes de” a 2 bar de PTM	67
Figura 3.2.	Variación del flujo de permeado en función del FR en la MFT de pulpas “antes de” a 4 bar de PTM	67
Figura 3.3.	Variación del flujo de permeado en función del FR en la MFT de pulpas hidrolizadas “después de” a 2 bar de PTM	68
Figura 3.4.	Variación del flujo de permeado en función del FR en la MFT de pulpas hidrolizadas “después de” a 4 bar de PTM	68
Figura 3.5.	Superficie de respuesta estimada para el contenido de antocianinas en el Ro según la cantidad de coctel enzimático y el sitio de aplicación	74
Figura 3.6.	Superficie de respuesta estimada para contenido de antocianinas en el P según la cantidad de coctel enzimático y el sitio de aplicación	74
Figura 3.7.	Gráfico de efectos principales para contenido de antocianinas en el Ro	75
Figura 3.8.	Gráfico de efectos principales para contenido de antocianinas en el P	75

Figura 3.9.	Perfil de viscosidad para el jugo clarificado de mortiño	79
Figura 3.10.	Flujo de permeado y concentración del jugo clarificado concentrado de mortiño	83
Figura 3.11.	Perfil de viscosidad para el jugo clarificado concentrado de mortiño	88
Figura A.1.	Ubicación geográfica de “El Pedregal”	103
Figura A.2.	Croquis Vía Panamericana Sur - Comuna “El Pedregal”	104
Figura A.3.	Desintegrador Ritz	121
Figura A.4.	Despulpador Refinador	121
Figura A.5.	Limpieza de la malla del despulpador	122
Figura A.6.	Marmita y olla de volteo	122
Figura A.7.	Equipo de microfiltración tangencial SEMATEC a escala de laboratorio	123
Figura A.8.	Equipo de ósmosis inversa MICRO 240 a escala de laboratorio	124

ÍNDICE DE ANEXOS

	PÁGINA
ANEXO I	
Ubicación geográfica de “El Pedregal”	103
ANEXO II	
Método para la determinación de ácidos galacturónicos	105
ANEXO III	
Determinación de polifenoles solubles totales	107
ANEXO IV	
Determinación de antocianinas	112
ANEXO V	
Método TEAC para determinar la capacidad antioxidante	116
ANEXO VI	
Formato del reporte de análisis sensorial de jugo clarificado	119
ANEXO VII	
Formato del reporte de análisis sensorial de jugo clarificado concentrado	120
ANEXO VIII	
Proceso de extracción de pulpa de mortiño	121
ANEXO IX	
Equipo de microfiltración tangencial de pulpa de mortiño	123
ANEXO X	
Equipo de ósmosis inversa de jugo clarificado de mortiño	124
ANEXO XI	
Datos recopilados durante el proceso de ósmosis inversa para la obtención de jugo clarificado concentrado de mortiño	125

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue obtener un jugo clarificado concentrado de mortiño que conserve las características organolépticas y nutricionales de la fruta fresca mediante los procesos de microfiltración tangencial (MFT) y ósmosis inversa (OI).

Se evaluó en primer lugar el efecto del tratamiento enzimático sobre el rendimiento de pulpa en el proceso de despulpado. Se escogió el coctel enzimático Klerzyme 150[®] y se aplicó antes del despulpado a 3 niveles de cantidad de coctel enzimático 0 – 0,5 y 1,0 mL/kg de pulpa. La temperatura de operación fue de 30 °C durante 1 hora.

El mayor rendimiento de pulpa se logró al aplicar la mayor cantidad de coctel enzimático (1,0 mL/kg de pulpa). La pulpa obtenida presentó mayor contenido de antocianinas.

Para evaluar el efecto de la PTM en el proceso de MFT, se realizaron ensayos de MFT con la PTM de 2 y 4 bar para pulpas hidrolizadas con tratamiento enzimático “antes de” y “después de” el despulpado. La PTM para obtener un mayor rendimiento de permeado se determinó mediante un análisis de varianza simple de una vía. La variable de respuesta utilizada fue la masa de permeado (Mp) obtenido al tiempo que cada ensayo alcanzó el factor de retención (FR) de 1,5 y 2,0. En todos los ensayos de MFT se mantuvo la temperatura constante de 25 °C.

La PTM de trabajo no mostró diferencias estadísticamente significativas entre las Mp obtenidas en cada experimento de MFT realizado tanto para PTM de 2 bar como para PTM de 4 bar.

Posteriormente se evaluó el efecto del tratamiento enzimático en el proceso de MFT. Se utilizó un diseño factorial de dos variables a dos niveles 2², las variables fueron: sitio de aplicación “antes de” y “después de” el despulpado y la cantidad de coctel enzimático de 0,5 y 1,0 mL/kg de pulpa.

Se determinó que la condición que permite conservar el mayor contenido de antocianinas en el jugo clarificado de mortiño es la cantidad de coctel enzimático de 1,0 mL/kg de pulpa aplicado antes del despulpado.

Finalmente se obtuvo el jugo clarificado concentrado de mortiño mediante OI a 30 °C de temperatura y 60 bar de PTM. En el producto final el contenido de polifenoles fue de 508,50 mg AG/100 mL y en la fruta fresca de 729,48 mg AG/100 g; la capacidad antioxidante en el producto final fue de 732,68 mg Trolox/100 g y en la fruta fresca de 1192,86 mg Trolox/100 g. Esto quiere decir que se consiguió mantener más del 60 % de capacidad antioxidante en el jugo clarificado concentrado en relación al mortiño fresco.

El tratamiento enzimático en el despulpado, la MFT, y la concentración por OI se presentaron como una alternativa eficaz en el área agroindustrial para la obtención de un jugo clarificado concentrado de mortiño, que mantenga las características nutricionales y funcionales de la fruta fresca.

INTRODUCCIÓN

En Ecuador, el mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) es un producto nativo de los páramos de la sierra andina, no se conoce que existan cultivos comerciales. La fruta crece en arbustos silvestres y es recolectada manualmente por las personas de las comunidades indígenas. Entre octubre y diciembre de cada año se produce una cosecha extendida y en algunas zonas se ha obtenido una segunda cosecha entre los meses de enero a marzo (Sanjinés *et al.*, 2006).

La fruta se comercializa en mercados locales, es una fruta de fácil uso pero en el Ecuador se consume muy poco en fresco, normalmente es adquirida para preparar la tradicional “colada morada” en el mes de noviembre.

Según Vasco *et al.*, (2009) el mortiño es rico en glucósidos de quercetina, ácidos hidroxicinámicos y antocianinas, tiene una alta actividad antioxidante que debe ser aprovechada usándolo como ingrediente de bebidas y productos alimenticios.

Numerosas investigaciones epidemiológicas han demostrado que el consumo de vegetales y frutas ayudan en la prevención del cáncer y de las enfermedades cardiovasculares; la ingesta diaria de alimentos ricos en antioxidantes naturales se correlaciona con una reducción del riesgo de padecer enfermedades coronarias, esto justifica recomendar una dieta rica en una variedad de frutas, vegetales, granos enteros, legumbres, aceites y nueces (Hertog *et al.*, 1993; Pokorny *et al.*, 2001).

Los sistemas con membranas son ahora implementados con efectividad en diversos sectores productivos, ya que el proceso de separación es atérmico y no implica ningún cambio de fase o el uso de aditivos químicos. La introducción de esta tecnología en el ciclo de transformación industrial de los jugos de frutas representa una de las respuestas tecnológicas al problema de la producción de jugos con alta calidad, sabor natural y sin aditivos (Cassano *et al.*, 2004).

La microfiltración tangencial es una tecnología de membranas altamente

innovadora a nivel industrial, es una excelente alternativa frente a los métodos convencionales de separación gracias a su alta selectividad, su posibilidad de operación continua y automatizada, y sus costos de procesamiento relativamente bajos. Una de sus aplicaciones más importantes es la clarificación de jugos de frutas, vino y cerveza (Mendoza, 2010).

El proceso de ósmosis inversa permite retener moléculas de bajo peso molecular, tales como las sales. Entre sus aplicaciones más importantes en la industria de bebidas tenemos: la concentración de jugo de frutas; la estabilización del vino y eliminación de sus tartratos; la obtención de aromas y sabores de zumos de frutas; y la reducción del contenido de alcohol en cerveza (Moliner, 2009).

En el presente trabajo se desarrolló el proceso para la obtención de jugo clarificado concentrado mediante el uso de microfiltración tangencial y ósmosis inversa. También muestra los resultados del estudio del efecto del tratamiento enzimático en el proceso de despulpado, así como el estudio del efecto de la presión y el tratamiento enzimático en el proceso de microfiltración tangencial.

ABREVIATURAS Y UNIDADES

L	Litro
mL	Mililitro
μ L	Microlitro
g	Gramo
kg	Kilogramo
mg	Miligramo
μ g	Microgramo
lb	Libra
m	Metro
km	Kilómetro
μ m	Micrómetro
nm	Nanómetro
mm	Milímetro
cm	Centímetro
min	Minuto
s	Segundo
MPa	Megapascal
bar	Bar
°C	Grados centígrados
%	Porcentaje
W	Watt
°Brix	Grados brix
Hz	Hertz
Pa.s	Pascal por segundo
ppm	Partes por millón
msnm	Metros sobre el nivel del mar
rpm	Revoluciones por minuto
nM	Nanomolar
mM	Milimolar
PG	Propyl gallate (Galato de propilo)
SIS	Sólidos insolubles en suspensión

FDA	Food and Drugs Administration (Agencia de Administración de Drogas y Alimentos de Estados Unidos)
MF	Microfiltración
UF	Ultrafiltración
J	Flujo
Am	Área filtrante de la membrana
[C]	Concentración
AOAC	Association of Official Agricultural Chemists
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
UV	Ultravioleta
REDOX	reducción/oxidación
AG	Acido gálico
DE	Desviación estándar
B1	Bloque 1
B2	Bloque 2
ANOVA	Análisis de varianza
EP	Extracción pulpa
ED	Extracción desintegrado
EDE	Extracción desintegrado hidrolizado
EPEA	Extracción pulpa hidrolizada antes del despulpado
EPED	Extracción pulpa hidrolizada después del despulpado
AGU	Ácidos galacturónicos
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
MFT	Microfiltración tangencial
OI	Ósmosis inversa
PTM	Presión transmembranaria
Mo	Masa inicial
Mp	Masa de permeado
FR	Factor de retención
Ro	Retenido inicial
Rf	Retenido final
P	Permeado

1 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 EL MORTIÑO (*Vaccinium floribundum* Kunth)



Figura 1.1 Mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth), recinto Morocho, Reserva Ecológica Cotacachi – Cayapas, Imbabura, Ecuador

El mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) es un producto nativo de los páramos ecuatorianos, crece en las partes altas de la cordillera de los Andes desde los páramos del Ángel en el Carchi hasta el Tambo en Cañar, existe únicamente en pequeñas parcelitas y extensiones de montaña donde la fruta crece en arbustos silvestres; para la cosecha se realiza la recolección manual por la gente de las comunidades indígenas que habitan en esos lugares (Sanjinés *et al.*, 2006; Pérez y Valdivieso, 2007).

La planta de mortiño es muy abundante en la Sierra Andina, especialmente en los países del norte: Colombia, Bolivia y Venezuela. Se encuentra en las elevaciones entre 1 400 y 4 350 msnm, en páramos y bosques húmedos montañosos. Es diferente del *blueberry* (nativo de Norte América) que se comercializa en el

mercado internacional, el mortiño que se produce en Ecuador está siendo promocionado bajo el nombre de “*Andean blueberry*” (Sanjinés *et al.*, 2006).

No existen datos bibliográficos acerca de su origen, se tiene información sobre un fruto similar que pertenece al mismo género, el arándano (*Vaccinium macrocarpon*), una especie de frutos rojos nativos de Norteamérica. Esta fruta fue considerada como un ingrediente básico en la alimentación y medicina para las tribus americanas nativas del noreste. Algunas partes de esta planta fueron usadas como medicina y el jugo se usó para tratar la tos. Posteriormente los arándanos secos fueron añadidos a los guisos, sopas y carnes (Cano y Barta, 2008).

1.1.1 IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA

El nombre científico del mortiño es *Vaccinium floribundum* Kunth y su clasificación taxonómica es la siguiente (Pérez y Valdivieso, 2007):

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Ericales
Familia: Ericaceae
Género: *Vaccinium*
Especie: *Floribundum*

1.1.2 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

La planta de mortiño es un arbusto delgado y pequeño, que crece desde 0,5 m hasta 1,0 m de altura con hojas pequeñas, lanceoladas y márgenes finamente aserrados. Las inflorescencias son racimos que salen de las axilas de tallos y hojas, con 6 - 10 flores pequeñas de cáliz articulado, corola con forma de olla de

color blanco, rosa o rojo. El fruto es una baya esférica de 5 – 8 mm de diámetro de color entre azul y azul oscuro, la pulpa es verde y las antocianinas se encuentran localizadas en la cáscara (Sanjinés *et al.*, 2006).

Las flores rosadas y el follaje verde oscuro le dan un aspecto atractivo a la planta. La baya se encuentra cubierta de un vello blanquecino similar al de las uvas. Cada fruto tiene características diferentes; hay algunos agradables y jugosos, y otros son apenas comestibles. Los frutos contienen semillas muy pequeñas y numerosas que no se pueden observar a simple vista (National Research Council Staff, 1989).

1.1.3 REQUERIMIENTOS AGROCLIMÁTICOS

De acuerdo a la información recopilada mediante visitas técnicas a los páramos donde crece el mortiño de forma silvestre, así como en publicaciones científicas, se resumen los siguientes parámetros técnicos (Sanjinés *et al.*, 2006; Cano y Barta, 2008):

Altitud:	1 400 – 4 350 msnm
Clima:	Frío – templado
Temperatura:	7 – 14 °C
Humedad:	60 – 80 %
Suelo:	Arenoso, humífero, suelto, rico en materia orgánica
pH:	4,0 – 5,0
Tiempo de vida:	Perenne
Pluviosidad:	800 – 2 000 mm

1.1.4 COMPOSICIÓN QUÍMICA

En la Tabla 1.1 se presenta el análisis proximal, la concentración de azúcares, ácidos orgánicos, minerales, el contenido de compuestos fenólicos solubles totales y la capacidad antioxidante del mortiño de Ecuador.

1.1.5 USOS

En Ecuador el mortiño es comercializado en mercados dentro de las poblaciones más cercanas a las comunidades indígenas que lo recolectan y a menudo también se vende en las ciudades. Es una fruta de fácil uso, pues no es necesario ni pelarla ni cortarla. Se consume en fresco, como complemento en ensaladas de frutas, vegetales y mezclados con cereales y yogurt. Por su sabor fuerte y agradable se la utiliza en la preparación de salsas, acompañamientos para diversos platos de carnes y preparaciones tipo gourmet, además de rellenos para repostería, salsas para pancakes, waffles y pastelería variada (Sanjinés *et al.*, 2006).

Es muy conocido en Ecuador su uso en fresco como un ingrediente principal de un plato tradicional que se conoce con el nombre de “colada morada”. Esta bebida contiene azúcar y otras frutas cortadas y se consume durante la época del Día de los difuntos en el mes de noviembre.

1.1.6 UBICACIÓN GEOGRÁFICA EN EL ECUADOR

El mortiño se encuentra en la Región Sierra en las provincias de Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Bolívar, Chimborazo, Cañar, Azuay y Loja (Pérez y Valdivieso, 2007).

Tabla 1.1 Análisis proximal, azúcares, ácidos orgánicos, minerales, contenido total de fenólicos y capacidad antioxidante en mortiño de Ecuador

Componente	Cantidad
Análisis proximal	
Humedad (g/100 g)	81,0 ± 2,00
Grasa (g/100 g)	1,0 ± 0,04
Proteína (g/100 g)	0,7 ± 0,02
Ceniza (g/100 g)	0,4 ± 0,03
Carbohidratos totales (g/100 g)	16,9 ± 0,10
Fibra dietética total (g/100 g)	7,6 ± 2,20
Fibra dietética soluble (g/100 g)	1,2 ± 1,00
Fibra dietética Insoluble (g/100 g)	6,5 ± 2,50
Azúcares solubles	
Fructosa (g/100 g)	4,4 ± 0,4
Glucosa (g/100 g)	2,6 ± 0,3
Valor calórico (Kcal/100 g PF)	84 ± 0,4
Ácidos orgánicos	
Ácido cítrico (mg/100 g)	3 142 ± 614
Ácido málico (mg/100 g)	1 823 ± 274
Minerales	
Fe (mg/100 g)	0,64 ± 0,20
K (mg/100 g)	607 ± 73,00
Ca (mg/100 g)	17,0 ± 2,30
Mg (mg/100 g)	10,2 ± 1,10
Cu (mg/100 g)	0,12 ± 0,02
Zn (mg/100 g)	0,13 ± 0,02
Componentes antioxidantes	
Ácido ascórbico (mg/100 g)	9,0 ± 2,0
β-caroteno (μg/100 g)	36,0 ± 6,0
Contenido fenólico soluble total (mg AG/100 g)	882 ± 38
Capacidad antioxidante TEAC (mg Trolox/100 g)	1 203 ± 94

Vasco *et al.*, 2009; todos los resultados están valorados por 100 g de fruta fresca

En la provincia de Imbabura se produce en zonas ubicadas en los páramos del cantón Cotacachi en la Reserva Ecológica Cotacachi – Cayapas. La fruta es recolectada en los recintos San Nicolás, Guanani y Morocho (Ruales, 2011).

En el recinto El Pedregal que pertenece a la provincia de Pichincha en el cantón Mejía a 20 km de la ciudad de Machachi la fruta es recolectada por los habitantes de la comunidad y se comercializa en el mercado de la ciudad (Ruales, 2011).

En la provincia de Bolívar se produce en páramos aproximadamente a 3 510 m de altura, en la zona de Quindemuncho y Pambabuela (Ruales, 2011).

Los requerimientos agroclimáticos de la planta producen una sola cosecha extendida entre octubre y diciembre de cada año, aunque en algunas zonas se ha obtenido una segunda cosecha en los meses de enero hasta marzo. En los meses de julio y agosto también se produce pero en pocas cantidades (Sanjinés *et al.*, 2006).

1.2 COMPUESTOS CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

1.2.1 COMPUESTOS BIOACTIVOS

Los compuestos bioactivos son constituyentes adicionales que comúnmente existen en pequeñas cantidades en los alimentos de origen vegetal, en algunos de origen proteico y en alimentos ricos en lípidos; un componente puede ser denominado con el término “bioactivo” cuando aporta con una función específica al cuerpo humano que resulta en la promoción de una mejor salud (Muñoz *et al.*, 2010).

Varios estudios epidemiológicos han mostrado que una dieta rica en frutas y vegetales ayuda a reducir el riesgo de contraer enfermedades cardiovasculares y el cáncer, también actúa de manera positiva contra otras dolencias como la

artritis, los problemas pulmonares, las cataratas e incluso contra la enfermedad de Parkinson o el de Alzheimer (Szajdek y Borowska, 2008).

Los compuestos bioactivos varían ampliamente en su función y estructura química (Espín y Tomás, 2010). Una lista parcial incluye los polifenoles, fitoesteroles, carotenoides, flavonoides, tocoferoles, tocotrienoles, taninos, fibra soluble e insoluble y fruto-oligosacáridos (ácidos grasos) (Galina *et al.*, 2006).

Los compuestos fenólicos, incluyendo los flavonoides, están presentes en algunas plantas y han sido estudiados extensamente en cereales, legumbres, nueces, aceite de oliva, vegetales, frutas, té, y vino tinto (Muñoz *et al.*, 2010). Estos compuestos proporcionan algunas propiedades biológicas que son beneficiosas para la salud, entre estas la actividad antioxidante ha sido la que ha recibido un mayor interés (Espín y Tomás, 2010; Galina *et al.*, 2006). Es más frecuente encontrar mezclas de estos compuestos dentro del alimento, raramente son encontrados de forma individual (Meenakshi, 2007).

1.2.2 ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes son compuestos orgánicos específicos que actúan en la prevención de las reacciones químicas con oxígeno u óxido nítrico que son rápidas y nocivas produciendo un daño oxidativo en las células, es reacciones son conocidas como las reacciones de oxidación (Szajdek y Borowska, 2008).

Según Pokorny *et al.*, (2001) existen varios métodos de protección contra la oxidación de las biomoléculas, uno de ellos es el uso de compuestos específicos que inhiben esta reacción. La denominación correcta de estas sustancias es inhibidores de la oxidación, pero en la actualidad son más conocidos como antioxidantes.

En el cuerpo, las reacciones de oxidación generalmente involucran moléculas

altamente reactivas llamadas radicales libres que residen principalmente en la mitocondria de las células (Bratati y Archana, 2010).

Los radicales libres son especies que contienen electrones no apareados a su alrededor, los electrones alrededor de los antioxidantes reaccionan con estos electrones antes de que puedan reaccionar con otras moléculas, haciendo que estas especies se vuelvan mucho menos reactivas, proporcionando así la protección contra las reacciones de oxidación (Avello y Suwalsky, 2006; Bratati y Archana, 2010).

Existen diferentes compuestos con capacidad antioxidante agrupados de acuerdo a su naturaleza y estructura química, dentro de cada grupo hay subcategorías de sustancias que actúan como antioxidantes a través de diferentes mecanismos (Pokorny *et al.*, 2001).

Los radicales de oxígeno que se generan en muchos procesos redox pueden inducir un daño oxidativo en las biomoléculas, lo que provoca que se acelere el envejecimiento, la arterioesclerosis, el cáncer; enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas y pulmonares (Espín y Tomás, 2010).

La capacidad antioxidante de una sustancia depende de varios factores tales como: su composición lipídica, su concentración, la temperatura, la presión de oxígeno y la presencia de otros antioxidantes y componentes habituales de los alimentos, como pueden ser por ejemplo, las proteínas y el agua (Pokorny *et al.*, 2001).

Los primeros compuestos con capacidad antioxidante en ser utilizados fueron sustancias naturales como la vitamina E, C y los carotenoides, pero luego fueron reemplazados rápidamente por sustancias sintéticas, de menor costo, que presenten una pureza controlada y sean poseedoras de una capacidad antioxidante más uniforme. Sin embargo, el aumento del uso de aditivos alimentarios sintéticos fue cuestionado por parte de los consumidores, creándose

la necesidad de cambiar estas sustancias por otras de origen natural (Pokorny *et al.*, 2001).

De manera general se puede denominar como un antioxidante natural a las sustancias que poder de origen vegetal o animal. Prácticamente todas las plantas, microorganismos, hongos e incluso los tejidos animales son buenas fuentes de antioxidantes naturales (Pokorny *et al.*, 2001).

Los nutrientes antioxidantes: vitamina E, vitamina C y β -caroteno pueden desempeñar un papel beneficioso en la prevención de varias enfermedades crónicas (Szajdek y Borowska, 2008; Muñoz *et al.*, 2010). Los flavonoides, taninos, antocianinas y otros constituyentes fenólicos y algunos no fenólicos presentes en los alimentos y medicamentos obtenidos de las plantas son considerados como antioxidantes potenciales (Bratati y Archana, 2010).

Los antioxidantes se encuentran en muchas formas, la mayor parte de estas sustancias son compuestos fenólicos entre los cuales los grupos principales son los flavonoides y los ácidos fenólicos (Espín y Tomás, 2010; Muñoz *et al.*, 2010).

Estudios han demostrado que estos polifenoles contribuyen a proteger las células rojas de la sangre de la destrucción del ataque de los radicales libres. En los polifenoles presentes en el vino tinto también se ha encontrado un efecto protector contra la oxidación de las lipoproteínas de baja y alta densidad, que son factores muy importantes en la prevención del desarrollo de arterioesclerosis o enfermedad de las arterias coronarias (Avello y Suwalsky, 2006; Espín y Tomás, 2010; Muñoz *et al.*, 2010).

1.2.3 COMPUESTOS FENÓLICOS

Los compuestos fenólicos son producto del metabolismo secundario de las plantas y están ubicados en todos los órganos de la planta (Bratati y Archana, 2010). En las plantas pueden existir diferentes tipos de compuestos fenólicos y se

clasifican en varios grupos. Uno de estos grupos son los flavonoides, a este grupo pertenecen las antocianinas (Ramassamy, 2006).

Antocianinas

Las antocianinas son pigmentos naturales, responsables del color azul, morado y rojo de varias frutas y vegetales (Pascual y Sánchez, 2007). Pertenecen al grupo de los flavonoides y son glicósidos de las antocianidinas (Wong, 1995).

Se encuentran presentes en distintas partes de las plantas como: flores, frutas, ramas, raíces y hojas. Estos pigmentos se encuentran disueltos de manera uniforme en la solución vacuolar de las células epidermales. La fuente más importante de antocianinas son los frutos rojos, principalmente bayas y uvas rojas, y también se encuentra en cereales como el maíz morado, vegetales y vinos rojos (Aguilera *et al.*, 2011).

Las antocianinas generan interés por dos motivos: el primero es el impacto de las antocianinas en las características organolépticas que desempeñan un papel importante en el comportamiento de los alimentos durante el procesamiento (Pascual y Sánchez, 2007); y el segundo, estos compuestos presentan propiedades farmacológicas y terapéuticas beneficiosas en la salud humana (Aguilera *et al.*, 2011).

Otro uso importante se presenta en la industria de extracción de colorantes alimenticios ya que las antocianinas son un intenso pigmento que otorga colores muy llamativos (Konczack y Zhang, 2004).

Las antocianinas en algunos casos son de fácil oxidación. Presentan una sensibilidad al pH y a otros factores como la temperatura y las radiaciones UV que pueden afectar su estabilidad y color. Se ven afectadas además por la presencia de otros compuestos como el dióxido de sulfuro, ácido ascórbico, iones metálicos, además de otros componentes y aditivos (Rivas, 2003).

El contenido de antocianinas en los productos alimenticios puede modificarse dependiendo de la cadena de procesamiento, algunos parámetros como la temperatura de trabajo afectan a estos compuestos (Pascual y Sánchez, 2007).

Las alteraciones del contenido de antocianinas en la fruta fresca pueden ser causadas por cambios en las condiciones agronómicas y medioambientales, horas de sol, tipo de suelo y humedad, así como de otros factores, lo cual puede desembocar en un daño para la composición de la antocianina en las frutas y verduras. Los tratamientos postcosecha y biotecnológicos pueden incrementar el nivel del grupo de antocianinas de los alimentos de origen vegetal. El procesamiento de alimentos y el almacenamiento también pueden tener un efecto en las antocianinas (Pascual y Sánchez, 2007).

1.3 USO DE ENZIMAS EN EL PROCESAMIENTO DE PULPAS

1.3.1 GENERALIDADES

La aplicación de enzimas en la industria se ha utilizado desde hace muchos años en muchos procesos tradicionales poco conocidos, los mismos que se han caracterizado por seguir un procedimiento rudimentario en lugar de adoptar avances tecnológicos y científicos (Wiseman, 1991).

Las enzimas tienen un alto grado de especificidad y adaptabilidad, es decir funcionan a condiciones suaves de trabajo (temperatura, pH) de esta manera los procesos se vuelven más eficientes y se reduce el consumo de energía y costos de operación (Cortés, 2004).

En el mercado existe una gran variedad de enzimas disponibles, las cuales difieren en la fuente biológica, actividad, pureza, forma física y características tales como el pH y temperatura óptima de trabajo (Wiseman, 1991).

1.3.2 APLICACIÓN DE LAS ENZIMAS EN EL PROCESAMIENTO DE FRUTAS

Entre algunos de los usos de enzimas en la industria alimenticia se destaca la aplicación en la extracción de almidón y azúcar así como la producción de jugos a partir del procesamiento de frutas (Carrera, 2003; Cortés 2004).

En la industria alimentaria se procesa un amplio rango de frutas tropicales o de clima templado, con o sin hueso, incluyendo manzanas, peras y bayas (Wiseman, 1991). Durante el proceso de extracción de pulpa se añaden mezclas de pectinasas, amilasas, hemicelulasas y celulasas a las frutas (Carrera, 2003). Estas preparaciones son más conocidas como cocteles enzimáticos, la aplicación de estas enzimas reduce la viscosidad y permite incrementar el rendimiento, mejorar la extracción del jugo, color, aroma y sabor, así como optimizar el tiempo de fermentación, filtración y clarificación (Cortés, 2004).

La pectina se encuentra en las frutas inmaduras en forma insoluble y ayuda a mantener la dureza de la fruta, pero cuando la fruta está madura, la pectina es degradada parcialmente por las enzimas endógenas y esto hace que la fruta sea más blanda (Wiseman, 1991).

En el procesamiento de jugos de frutas como resultado de la desintegración de los tejidos vegetales, una parte de la pectina pasa al jugo y otra permanece en las paredes celulares (Carrera, 2003).

Las enzimas pécticas como las pectinliasas actúan sobre pectinas esterificadas, las pectinesterasas desmetilan los ácidos poligalacturónicos esterificados y las pectinasas hidrolizan los residuos de ácidos poligalacturónicos (Wiseman, 1991).

La pectinasa degrada los enlaces 1,4- α -D-galacturónicos de la pectina. La pectina es un heteropolisacárido componente estructural de diversas frutas y verduras que al solubilizarse parcialmente en el procesado provoca que se deteriore el aspecto y hayan efectos negativos en la floculación y/o capacidad de filtración del jugo, esto desembocaría en una reducción del rendimiento (Wiseman, 1991). El

tratamiento con pectinasas y celulasas incrementa el rendimiento, reduce la viscosidad del jugo, mejora el color y permite obtener un producto final más concentrado y estable (Cortés, 2004).

La aplicación de amilasas permite obtener jugos transparentes a partir de frutas ricas en almidón que no están completamente maduras, de esta manera se alcanza un sabor agradable y se evita el enturbiamiento después de la concentración (Cortés, 2004).

En la Tabla 1.2 se muestran varias aplicaciones de las enzimas que se usan en la industria del procesamiento de frutas.

Tabla 1.2 Aplicaciones de enzimas en industria de procesamiento de frutas

Enzima (nombre vulgar)	Principales aplicaciones
α -Amilasa fúngica	Licuefacción del almidón de frutas
Celulasa	Procesado de frutas y verduras
Dextranasa	Hidrólisis de polisacáridos
β -Glucanasa	Hidrólisis de polisacáridos
Glucosa oxidasa	Antioxidante
Naringinasa	Eliminación sabor amargo en zumos de cítricos
Pectinasa/pectinesterasa	Extracción y clarificación de zumos de frutas
Proteasas microbianas	Producción de bebidas
Pectinasa, hemicelulasas y proteasas	Procesado de frutas (extracción y clarificación)

Wiseman, 1991

La extracción del jugo de los frutos rojos es un proceso delicado para poder lograr la preservación del color y el aroma natural de la fruta. Es importante que el coctel enzimático permita obtener los niveles de despectinización y estabilidad de color requeridos al mismo tiempo que se alcancen altos rendimientos de pulpa (Centerchem, 2006).

1.3.3 TRATAMIENTO ENZIMÁTICO EN EL PROCESO DE DESPULPADO

1.3.3.1 Tratamiento enzimático antes del proceso de despulpado

Los tratamientos enzimáticos son usados frecuentemente antes del despulpado, para hacer el proceso más fácil y aumentar el rendimiento (Cano y Barta, 2008).

Las frutas frescas poseen diferentes cantidades y tipos de pectina, según las especies y variedades. La pectina puede ser encontrada entre las capas de la pared celular conectando las partes sólidas que contienen celulosa y hemicelulosa, también puede ser encontrada en formas disueltas en los tejidos, incrementando su densidad y propiedades adhesivas (Cano y Barta, 2008).

Un alto contenido de pectina influye en los pasos siguientes de la producción de jugos. Por lo tanto, el nivel de composición de pectina tiene que ser disminuido o modificado de acuerdo al criterio de calidad del producto final o a la tecnología de producción. La solución más general para estos tejidos es el tratamiento enzimático de la fruta desintegrada/aplastada con enzimas que descomponen la pectina tales como: pectina transeliminasa y poligalacturonasa (Aehle, 2004).

Los cocteles enzimáticos añadidos también contienen enzimas celulasa y hemicelulasa para descomponer la pared celular y mejorar la permeabilidad. El tratamiento enzimático puede llevarse a cabo bajo circunstancias frías y calientes (Cano y Barta, 2008). Cuando se añade un coctel enzimático a la fruta antes de la extracción de pulpa, se facilita la liberación del jugo con un considerable incremento en el rendimiento y la capacidad de la extracción (Cortés, 2004).

La despectinización completa mediante el uso de enzimas pécticas asegura mejorar los procesos de extracción de pulpa, la clarificación y filtración de jugos de frutas, así como una buena estabilidad de los concentrados producidos (Carrera, 2003; Cortés, 2004).

Para los jugos concentrados de fruta la despectinización permite impedir la gelatinización durante el procesamiento para su obtención o el almacenamiento de producto final (Cortés, 2004).

El tratamiento frío de hidrólisis a 20 °C – 25 °C toma más horas, lo que pone en peligro la calidad del jugo, mientras que, el tratamiento caliente se lleva a cabo en 0,5 – 1 hora, a 50 °C – 55 °C (Schmitt, 1990). Como las enzimas son proteínas, éstas son sensibles al calor y solo se activan a ciertos valores de pH. Si las condiciones de temperatura y pH de la mezcla no son óptimas, la descomposición exitosa de la pectina requiere largo tiempo o alta concentración de enzimas (Dietrich, 1998).

1.3.3.2 Tratamiento enzimático después del proceso de despulpado

Dentro de los pasos tecnológicos para el procesamiento de jugos clarificados de frutas se recomienda aplicar un tratamiento enzimático a la pulpa obtenida en el despulpado como un pre-tratamiento previo a la clarificación mediante tecnología de membranas (Reddy, 2010).

Esta operación se aplica a varias frutas mediante la adición de 2 – 8 % de enzimas pectolíticas a unos 50 °C durante 30 minutos. Este paso opcional tiene las siguientes ventajas (Reddy, 2010):

- Mejorar el rendimiento de la extracción
- Mejorar el fijado del color de la fruta en el jugo
- Mejorar el sabor del producto final

La clarificación de un jugo también puede realizarse por centrifugación o mediante un tratamiento enzimático. La centrifugación permite alcanzar una separación de partículas en suspensión en el jugo y puede ser considerada como un paso de pre-clarificación. Esta operación se lleva a cabo en separadores centrífugos con una velocidad de 6000 a 6500 rpm. La clarificación enzimática está basada en la

hidrólisis de sustancias pécticas; esto va a disminuir la viscosidad de los jugos y facilitar su filtración (Reddy, 2010).

En la clarificación enzimática a partir de pulpas de frutas, el tratamiento consiste en la adición de cocteles de enzimas pectolíticas en una concentración de 0,5 – 2,0 g/L durante 2 a 6 horas a temperatura ambiente, o menos de 2 horas a 50 °C, una temperatura que no debe superarse. El control de esta operación se hace mediante la comprobación de la disminución de la viscosidad del jugo (Reddy, 2010).

1.3.3.3 Hidrólisis enzimática de pulpas previa al proceso de microfiltración tangencial (MFT)

En varios estudios científicos relacionados con la microfiltración se habla sobre la hidrólisis enzimática como un pre-tratamiento que deben recibir los productos antes de ser sometidos a este proceso. Los cocteles enzimáticos a utilizarse dependen de la composición de los compuestos insolubles de la pared celular de la materia prima (Millán, 2003).

La hidrólisis enzimática se aplica a las pulpas de frutas como un paso previo al proceso de MFT. El objeto es disminuir el contenido de sólidos insolubles en suspensión (SIS), ya que una alta concentración de estas macromoléculas en la superficie de la membrana forma una capa impermeable. El objetivo de este pre-tratamiento es reducir el efecto de colmataje y taponamiento de la membrana. De esta manera se aumenta el rendimiento del jugo clarificado (permeado), es decir se logra optimizar el proceso (Vaillant *et al.*, 1998).

Actualmente en algunos proyectos de investigación como los realizados por Marcillo (2010) para obtener jugos clarificados concentrados de frutas, en los cuales se utiliza la tecnología de membranas se evalúa el efecto del tipo, la concentración y tiempo de aplicación de los cocteles enzimáticos, a través del porcentaje de disminución del contenido de sólidos insolubles en suspensión.

1.4 TECNOLOGÍA DE MEMBRANAS

Las membranas han ganado un lugar importante en la tecnología química y se utilizan en una amplia gama de aplicaciones. La propiedad clave que se explota es la capacidad de una membrana para controlar la velocidad de penetración de una especie química a través de ella. En las aplicaciones de separación, el objetivo es permitir que uno de los componentes de una mezcla atraviese la membrana libremente, mientras que se impide la penetración de otros componentes (Baker, 2004).

Desde la aparición de esta tecnología su aplicación en el área industrial se ha limitado a procesos de tratamiento de aguas como la desalinización de agua de mar. Sin embargo desde hace algunos años ha tomado un gran interés en la industria de alimentos debido a la capacidad de varias membranas para separar, concentrar y purificar determinadas sustancias presentes en fluidos alimenticios, a condiciones de operación que permiten minimizar el daño mecánico, un bajo consumo de energía y una alta selectividad que permite obtener los productos deseados sin el uso de aditivos (Cheryan, 1998; Jiao *et al.*, 2004).

Los procesos de separación mediante el uso de membranas más utilizados en la actualidad en la industria de alimentos son: la microfiltración (MF), ultrafiltración (UF) y ósmosis inversa (OI). Estos procesos permiten realizar las siguientes operaciones (Martínez, 2004; De la Casa, 2006):

- Concentración de jugos de frutas, aceites vegetales, enzimas, leche, extractos naturales, almidón, ácido cítrico, etc.
- Clarificación de jugos de frutas, vinos, cervezas, etc.
- Fraccionamiento de componentes como proteínas, oligosacáridos, enzimas, etc.

1.4.1 DEFINICIÓN DE MEMBRANA Y PROCESOS DE MEMBRANAS

Una membrana sintética se puede definir como una barrera semipermeable, la cual separa dos fases entre sí evitando su contacto directo para restringir el transporte de algunos compuestos químicos de una fase a otra en forma selectiva y específica (Porter, 1990; Mendoza, 2010; Moliner, 2009).

La membrana puede ser homogénea o heterogénea, simétrica o asimétrica en estructura; puede ser sólida o líquida, o puede ser neutra; puede llevar carga positiva o negativa, o puede ser bipolar (Porter, 1990).

En el proceso de separación por membranas se distinguen tres corrientes como se muestra en la Figura 1.2, éstas se conocen como alimentación, retenido y permeado.

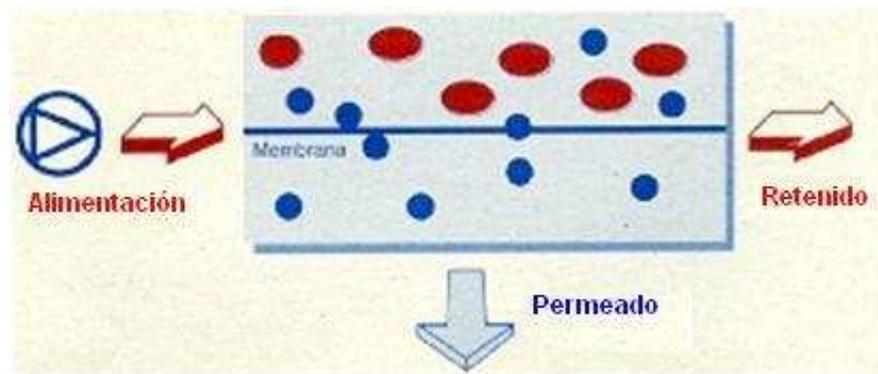


Figura 1.2 Diagrama general de un proceso de filtración por membranas (Vidal, 1999)

1.4.2 CLASIFICACIÓN DE LAS MEMBRANAS

Las membranas pueden clasificarse según diferentes parámetros tales como (Porter, 1990; Baker, 2004; 2006; Moliner, 2009; Mendoza, 2010):

- Morfología y material de fabricación
- Porosidad de la membrana

- Estructura físico-química
- Geometría
- Fuerza impulsora
- Proceso de separación del que forma parte

1.4.3 CLASIFICACIÓN DE LAS TECNOLOGÍAS DE MEMBRANAS

Los procesos de filtración se clasifican según las características de la membrana que se utiliza. En la Tabla 1.3 se puede observar una clasificación de acuerdo a varios factores como la fuerza impulsora aplicada para lograr la separación, la magnitud de esta fuerza, tipo y rango de tamaño de los compuestos a separar (Mendoza, 2010).

Tabla 1.3 Clasificación de las técnicas de filtración sobre membranas

PROCESO	FUERZA DIRECTORA	RETENIDO	PERMEADO	EJEMPLOS DE APLICACIÓN
Microfiltración (MF)	Diferencia de presión 0,1 – 5 bar	Partículas	Disolventes, Componentes diluidos	Lavado de pigmentos, limpieza y reciclaje de agua–jabón, separación aceite/agua de emulsiones, combinación de extracción de sólidos y filtración
Ultrafiltración (UF)	Diferencia de presión 1 – 10 bar	Partículas, Macro-moléculas	Disolventes, Componentes diluidos con masa molecular pequeña, iones	Concentración y limpieza de equipos biotecnológicos, concentración de albúmina, gelatina y suero
Nanofiltración (NF)	Diferencia de presión 10 – 40 bar	Partículas, Sustancias diluidas, Iones polivalentes	Disolventes, Componentes diluidos con masa molecular muy pequeña, iones monovalentes	Limpieza, desalinización, y concentración de productos como: colorantes, productos químicos y farmacéuticos, concentración, reciclaje y limpieza de aguas residuales
Ósmosis Inversa (OI)	Diferencia de presión 10 – 200 bar	Partículas y todos los componentes diluidos	Solamente disolventes (agua, MeOH, EtOH)	Desalinización de agua de mar, limpieza de aguas residuales, reciclaje de productos, concentración de productos

Mendoza, 2010

En el área industrial los procesos de filtración más utilizados han sido aquellos que funcionan mediante la aplicación de un diferencial de presión como fuerza motriz, éstos son la microfiltración (MF), ultrafiltración (UF), nanofiltración (NF) y ósmosis inversa (OI) (Mendoza, 2010).

Debido a que la separación por filtración con membranas utiliza una diferencia de presión como fuerza motriz y no está acompañada de un cambio de fase, se puede decir que tiene las siguientes ventajas (Li *et al.*, 2008):

- El proceso de separación se logra con un bajo consumo de energía
- El compuesto a ser separado no es desnaturalizado o destruido debido a que la separación se realiza en condiciones suaves de temperatura

1.4.4 MÓDULOS DE MEMBRANAS

La membrana es uno de los componentes más importantes dentro de un sistema de filtración, no puede funcionar sola, sino que necesita una unidad física que la albergue (Martínez, 2004; De la Casa, 2006).

Esta unidad se conoce como módulo y debe satisfacer requisitos mecánicos, hidrodinámicos y económicos (Grandison y Lewis, 1996). Para sus aplicaciones industriales la membrana debe montarse sobre uno de estos soportes que le confieren diferentes configuraciones.

1.4.5 MICROFILTRACIÓN TANGENCIAL (MFT)

La microfiltración se utiliza para separar partículas en el rango de 0,05 a 10 μm mediante el uso de membranas microporosas. Son semipermeables y selectivas como se muestra en la Figura 1.3 Es un proceso de baja presión en el cual se suele trabajar con presiones en un rango entre 0,5 y 5 bares. El diferencial de

presión que se aplica depende del material de fabricación de la membrana y del tipo de configuración del módulo (Moliner, 2009; Mendoza, 2010).

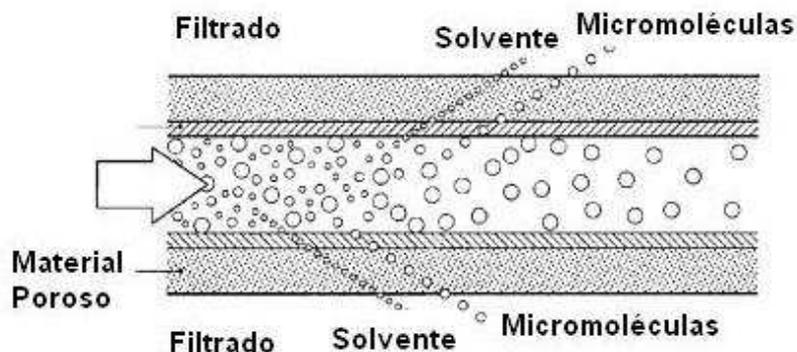


Figura 1.3 Esquema general de un proceso de microfiltración
(Auxiaqua, 2011)

La fracción rechazada que continúa en la dirección del flujo de alimentación se denomina retenido o concentrado, y la solución que pasa a través de la membrana, es el permeado. Algunas propiedades de los solutos como el tamaño molecular, fuerza iónica, solubilidad y difusividad influyen en la selectividad y rendimiento de separación (Porter, 1990). De la misma manera estas propiedades intervienen en las interacciones y cambios estructurales que puedan presentar los compuestos con las condiciones del medio (temperatura, pH, concentración de sales), así como con la afinidad que estos presenten con la membrana (Mendoza, 2010).

Uno de los aspectos críticos en el diseño de cualquier módulo es la transferencia de materia. La formación de una capa de polarización es el factor dominante que controla el funcionamiento de una membrana (Grandison y Lewis, 1996).

Para obtener una alta transferencia de materia, es necesario tener una alta velocidad tangencial y/o turbulencia en los alrededores de la membrana.

Según Cheryan, (1998) la forma más sencilla de conseguir este propósito es mediante el bombeo de un flujo de alimentación paralelo a la membrana y perpendicular al flujo de filtrado como se puede ver en la Figura 1.4.

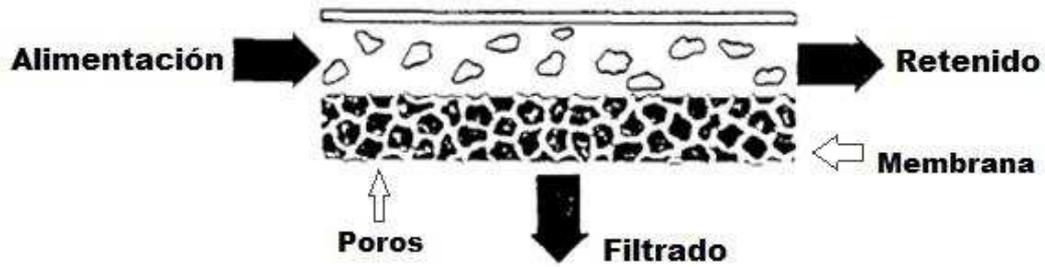


Figura 1.4 Microfiltración tangencial
(Baker *et al.*, 1991)

1.4.5.1 Fenómenos durante el proceso de microfiltración por membranas

Flujo (J)

La capacidad de un proceso de MF esta expresada por el flujo J_p , el cual es el volumen de permeado que atraviesa la membrana, por área de membrana en un intervalo de tiempo, viene dado por la ecuación 1.1 (Huisman, 1998).

[1.1]

Donde:

V_p = volumen de permeado que atraviesa la membrana (L)

t = tiempo que tarda el volumen de permeado en pasar por la membrana (h)

A_m = área filtrante de la membrana (m^2)

Presión transmembranaria (PTM)

El diferencial de presión utilizado como la fuerza motriz para obtener el flujo J_p se denomina presión transmembranaria (Cheryan, 1998).

Permeabilidad (L)

La permeabilidad está definida como la cantidad de solvente que atraviesa una membrana en función de la presión aplicada. El coeficiente de permeabilidad está dado por la razón entre el flujo del solvente permeado y la diferencia de presiones aplicada como se indica en la ecuación 1.2 (Huisman, 1998).

$$\text{—————} \quad [1.2]$$

Donde:

L_p = permeabilidad

ΔP = diferencia de presión aplicada (bar)

$\Delta \pi$ = diferencia entre la presión osmótica de la solución y del solvente (bar)

J_p = flujo de permeado que atraviesa la membrana (L/hm²)

Coefficiente de retención (R)

La eficiencia de una separación por membrana es a menudo descrita mediante la retención. La retención de una membrana para una sustancia, es la cantidad relativa de esa sustancia que no pasa a través de la membrana. Se expresa con la ecuación 1.3 (Girard y Fukumoto, 2000).

$$\text{—} \quad [1.3]$$

Donde:

C_p = concentración del soluto en el permeado

C_a = concentración del soluto en la alimentación

Factor de retención volumétrica (FRV)

Es la relación entre el volumen de alimentación y el volumen de retenido que no pasa a través de la membrana. Se calcula con la ecuación 1.4 (Chacón, 2006).

$$\text{FRV} = \frac{V_A - V_P}{V_A} \quad [1.4]$$

Donde:

V_A = volumen de alimentación

V_P = volumen de permeado

V_R = volumen de retenido

1.4.5.2 Ventajas de la MFT

La MFT es una tecnología de membranas usada a nivel industrial como una alternativa frente a los métodos convencionales de separación, tales como la destilación, centrifugación, extracción y la filtración convencional, entre sus ventajas tenemos (Baker *et al.*, 1991, Vaillant *et al.*, 2001; Mendoza, 2010):

- Alta selectividad
- Separación sin el uso de aditivos
- Condiciones de operación extremas (alta presión)
- Usualmente no hay cambios de fase
- Posibilidad de operación continua y automatizada
- Costos de procesamiento relativamente bajos

1.4.5.3 Aplicaciones de la MFT

La mayor parte de las membranas de MFT usualmente están fabricadas con materiales poliméricos y en algunos casos con materiales inorgánicos. Se utilizan principalmente para la retención de sólidos suspendidos y pueden usarse en procesos de clarificación, pasteurización y concentración (Baker *et al.*, 1991). Entre algunas de sus aplicaciones más importantes se tiene: la esterilización en frío de bebidas y productos farmacéuticos, clarificación de zumos de frutas (Rodríguez, 2002) vino y cerveza (Baker *et al.*, 1991; Mendoza, 2010), recuperación de metales como óxidos o hidróxidos coloidales, tratamiento de aguas residuales y separación de emulsiones aceite-agua (Baker *et al.*, 1991).

1.4.6 ÓSMOSIS INVERSA

1.4.6.1 Introducción

La OI es un proceso impulsado por la presión, por lo que, el uso intensivo de energía, de cambios de fase, o solventes/adsorbentes potencialmente costosos no son necesarios para separaciones de OI. Es un proceso simple de diseñar y operar comparado con muchos procesos tradicionales de separación. La fuerza motriz para el desarrollo y el uso de membranas de OI son las ventajas que estas tienen sobre los procesos tradicionales de separación tales como destilación, extracción, intercambio de iones y adsorción. La separación y concentración simultánea de compuestos inorgánicos y orgánicos es posible con los procesos de OI (Williams, 2003).

La membrana ideal de ósmosis inversa debería ser resistente al ataque químico y microbiológico, y las características de separación y mecánicas no deberían cambiar después de un largo funcionamiento. Las membranas comerciales de OI son asimétricas (un polímero) o estructuras compuestas de películas delgadas (Williams, 2003).

1.4.6.2 Definición de ósmosis inversa

La ósmosis es un fenómeno físico químico en el cual el agua pasa a través de una membrana semipermeable desde la fase menos concentrada a la más concentrada como se muestra en la Figura 1.5, de esta manera se reduce la diferencia de concentración entre ambas fases, cabe recalcar que en el proceso no hay flujo de soluto (Moliner, 2009).

En el equilibrio, la diferencia de presión entre los dos lados de la membrana es igual a la diferencia de presión osmótica. Para invertir el flujo del agua, una diferencia de presión mayor que la diferencia de presión osmótica es aplicada como se muestra en la Figura 1.5 (Moliner, 2009); como resultado, la separación del agua de las soluciones se hace posible. Este fenómeno se denomina ósmosis inversa, también se la conoce como hiperfiltración (Williams, 2003).

La ósmosis inversa permite retener moléculas de bajo peso molecular, tales como las sales (Winston Ho y Sirkar, 1992), ya que su mecanismo de transporte a través de la membrana se basa en el principio solución-difusión, esto quiere decir que solamente pasa el agua en una fase y en la otra quedan retenidos los solutos de interés según el tamaño de poro de la membrana (Moliner, 2009).

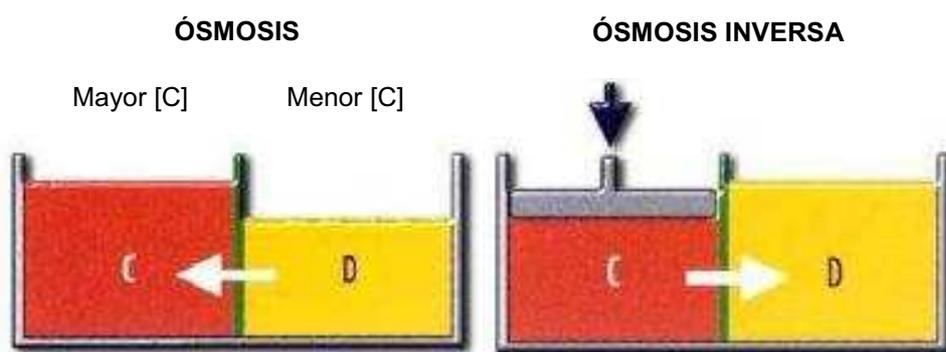


Figura 1.5 Esquema del fenómeno de ósmosis y ósmosis inversa (Moliner, 2009)

Las membranas utilizadas son las de menor tamaño de poro con diámetros que van de los 0,5 a 1,5 nm. Se utilizan membranas densas tanto asimétricas como compuestas, siendo los materiales más usados el triacetato de celulosa,

poliamidas aromáticas y polibenzimidazoles. Requieren una presión elevada que se encuentra en el rango de 10 a 70 bar. El tamaño tan pequeño de los poros permite que solo los solventes orgánicos de muy bajo peso molecular y los solutos sin carga pasen junto con el agua como se muestra en la Figura 1.6. Más de un 95 – 99 % de las sales inorgánicas y los compuestos orgánicos son rechazados debido a la repulsión electrostática con la superficie de la membrana (Moliner, 2009).

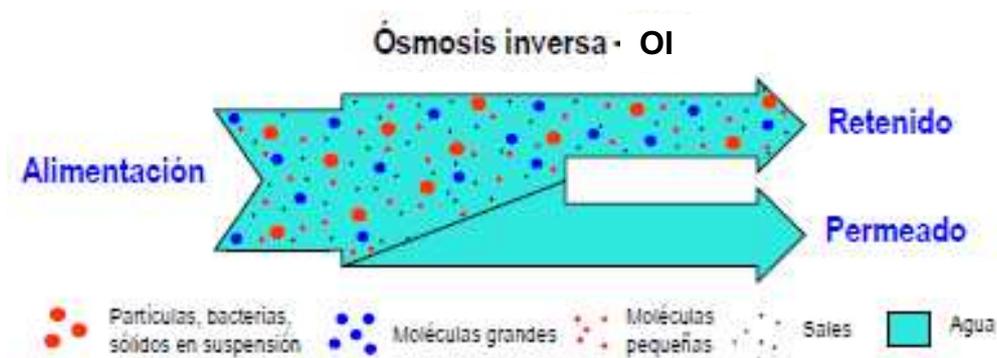


Figura 1.6 Esquema general de un proceso de ósmosis inversa (Martínez, 2004)

1.4.6.3 Descripción del proceso y terminología

El proceso de OI es relativamente simple en diseño. Este consiste de una fuente de alimentación de agua, pre-tratamiento de la alimentación, bomba de alta presión, módulos de membranas de OI y, en algunos casos, pasos de post-tratamiento (Williams, 2003).

En la Figura 1.6 se observan las tres corrientes (y sus variables asociadas) del proceso de OI: la alimentación; la corriente el producto que se denomina permeado y la corriente de alimentación concentrada, llamada concentrado o retenido (Williams, 2003; Martínez 2004). Las variables de operación importantes para OI son el caudal del flujo de alimentación y la concentración de solutos disueltos, los tipos de solutos, la presión transmembranaria (Δp) y la temperatura (T) (Winston Ho y Sirkar, 1992).

1.4.6.4 Aplicaciones de la OI

El principal campo de aplicación de la OI es la desalinización de agua de mar. No obstante tiene otras aplicaciones muy importantes entre las cuales tenemos:

- Tratamiento de aguas (García, 2002; Guerrero *et al.*, 2006)
- Concentración de zumo de frutas, azúcares y leche (Jiao *et al.*, 2004)
- Estabilización del vino y eliminación de sus tartratos (De la Casa, 2006)
- Obtención de aromas y sabores de zumos de frutas (Marcillo, 2010)
- Reducción del contenido de alcohol en bebidas (cerveza)

2 PARTE EXPERIMENTAL

2.1 MATERIALES



Figura 2.1 Mortiño fresco (*Vaccinium floribundum* Kunth)

La fruta fresca fue adquirida en la ciudad de Machachi, cosechada en estado de madurez organoléptica, por los campesinos de la comunidad “El Pedregal”. La ubicación geográfica de esta zona se encuentra descrita en el Anexo I.

La fruta fue transportada hasta el Departamento de Ciencia de Alimentos y Biotecnología (DECAB) de la Escuela Politécnica Nacional (EPN) en un tiempo de 2 horas aproximadamente.

Se realizaron 5 compras de materia prima según las cantidades que se necesitaban procesar para cada fase de la experimentación. La fruta fresca fue receptada en cajones de madera de alrededor de 20 kg cada semana (lote) durante 2 meses acumulando aproximadamente 160 kg de mortiño. Cada lote recibido fue sometido a una desinfección por inmersión en un tanque de acero inoxidable con agua clorada a 100 ppm.

Posteriormente la fruta pasó a una lavadora de frutas horizontal marca The Sinclair Scott Co. que trabaja con un sistema de lavado rotatorio, el equipo está

provisto de un motor de 245,3 W y 1725 rpm, en este lavado se retiraron las impurezas.

La fruta lavada pasó a un escurrido en mallas de 0,60 m x 1,20 m con un tamaño de poro de 3 mm x 1 mm. La fruta escurrida se dividió en porciones de 10 kg envasadas en bolsas de polietileno. Una vez selladas y etiquetadas todas las porciones fueron almacenadas en una cámara de congelación a -17 °C.

El procesamiento y almacenamiento detallados en la investigación fueron realizados en la Planta Piloto del Departamento de Ciencia de Alimentos y Biotecnología (DECAB) en la EPN.

La fruta fresca de madurez organoléptica fue sometida a varios tratamientos: hidrólisis enzimática, extracción de pulpa, microfiltración tangencial (MFT) y concentración mediante ósmosis inversa (OI).

2.2 CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA Y PRODUCTOS OBTENIDOS

2.2.1 CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA

De la materia prima recibida, desinfectada y lavada se tomaron 500 g de muestra para los análisis de caracterización. Se realizaron análisis físico-químicos de: peso, color, sólidos solubles totales (°Brix), pH, acidez titulable.

Para determinar la composición química de las frutas frescas se realizaron los siguientes análisis: humedad, proteínas, cenizas, extracto etéreo, contenido de ácidos galacturónicos, minerales (K, Ca, Mg, Cu, Zn, Fe), fibra dietética total, azúcares, vitamina C, carotenoides, ácidos orgánicos, compuestos fenólicos solubles totales, antocianinas y capacidad antioxidante.

2.2.1.1 Análisis físico-químicos

Peso

Para evaluar el peso individual de la fruta, se tomó una muestra al azar de 100 frutas frescas y se midió su peso individual en una balanza analítica METTLER TOLEDO AG204 de precisión $\pm 0,001$ g.

Color

Para la determinación del color se usó el Atlas de colores de Küppers (2002). En este libro existen varios esquemas de tonos formados por la combinación de los colores negro (N), magenta (M), cyan (C) y amarillo (Y) a partir de cantidades de 0 a 99% de cada color. El procedimiento consistió en tomar 10 bayas de mortiño y compararla cada baya con cada combinación hasta encontrar la más cercana al color de la fruta.

Sólidos solubles totales (°Brix)

El contenido de sólidos solubles totales (°Brix) se realizó según el método AOAC (2007) 932.12, (37.1.15), se determinó con un refractómetro portátil BOECO. Cada muestra de aproximadamente 100 g de fruta fue licuada en una licuadora OSTER *Osterizer* BLENDER, se filtró en un colador y el jugo obtenido fue termostatizado a 20 °C en un baño marca PRECISION Reciprocal Shaking Bath Model 25, una gota de este jugo se puso en el refractómetro y se determinó la cantidad de °Brix. Se analizaron dos muestras diferentes con una réplica para cada una.

pH

El pH fue determinado según el método descrito en AOAC (2007) 981.12, (42.1.04), con un pH-metro digital WTW pH 330i. La muestra de fruta fresca fue licuada y filtrada en un colador, se obtuvieron aproximadamente 25 mL de jugo en

el cual se sumergió el electrodo para tomar la lectura de pH. Se hicieron dos réplicas.

Acidez titulable

Para valorar la acidez se usó el método AOAC (2007) 942.15, (B) (37.1.37). Se tomaron 5 mL de muestra y se diluyeron hasta 50 mL con agua destilada. Se hicieron dos réplicas.

Luego se determinó la acidez titulable mediante la titulación o valoración ácido-base de un volumen conocido de jugo con hidróxido de sodio (NaOH) 0,1 N hasta llegar a un pH final de 8,2. Para medir la variación del pH hasta llegar a la medida deseada se utilizó el pHmetro ORION modelo 21 OA previamente calibrado.

Se procedió a titular la muestra con NaOH 0,1 N hasta llegar a un pH de 8,2. El resultado se reporta como porcentaje en gramos de ácido cítrico mediante la fórmula expresada en la ecuación 2.1:

[2.1]

Donde:

% Ácido cítrico = acidez del producto en porcentaje de masa

fa= factor del ácido respectivo

V = volumen de NaOH usado en mL

N = normalidad de la solución de NaOH

f = factor de corrección de NaOH

Vo= volumen de muestra en mL

2.2.1.2 Composición química

Humedad

El contenido de humedad se realizó aplicando el método descrito en AOAC (2007) 920.151, (37.1.12). Se evaporó la muestra hasta sequedad en una estufa al vacío marca Heraeus USA a 70 °C y 100 mm Hg. Se realizó una réplica.

Proteína

Se cuantificó el contenido de la proteína mediante el método descrito en AOAC (2007) 920.152, (37.1.35). Se realizó una digestión a 420 °C, luego una neutralización, destilación y al final una titulación. Para el cálculo respectivo se usó como factor 6,25. Se analizó una muestra con una réplica.

Extracto etéreo

Se cuantificó aplicando el método AOAC (2007) 920.85, (32.1.13) y 920.39 (4.5.01). Se realizó la extracción de grasa con éter etílico en el equipo Goldfish. Se analizó una muestra con una réplica.

Cenizas

Para el contenido de cenizas se usó el método AOAC (2007) 940.26. Se realizó una evaporación en baño maría y luego una calcinación en mufla a 550 °C durante 4 horas. Se analizó una muestra con una réplica.

Análisis de minerales

El análisis de minerales se realizó usando el método validado en el DECAB que consiste en una digestión en microondas y lectura directa de Ca, K, Mg, Cu, Zn y Fe por espectrofotometría de absorción atómica en el equipo PERKIN ELMER Atomic Absorption Spectrometer 3300. Se analizó una muestra con una réplica.

Ácidos Galacturónicos

El contenido de ácidos galacturónicos se cuantificó mediante el método descrito por Theander *et al.*, (1991) (Anexo II). Se analizó una muestra con dos réplicas.

Fibra dietética total

La fibra dietética total se determinó con el método enzimático gravimétrico descrito por Asp *et al.*, (1983). El método consiste en una digestión del almidón y la proteína a través de la aplicación de un tratamiento enzimático que permite descomponerlos. La fibra dietética insoluble se separa mediante filtración. El etanol es añadido al filtrado para precipitar la fibra soluble y el precipitado es recuperado mediante una segunda filtración. Se usaron las enzimas Pepsin 2000 FIP[®] / MERCK, Pancreatin N^o 76190[®] / FLUKA AG y Termamyl 120 L[®] / NOVOZYMES.

Contenido de azúcares

El contenido de azúcares se cuantificó mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). Se usó el método DECAB (2004b), modificado de las indicaciones del Manual de la columna ASTEC NH₂ series (Advanced Separation Technologies Inc. USA.).

Se pesaron 2,5 g de muestra en un matraz de 25 mL. Luego se añadió 15 mL de la fase móvil y se mantuvo con agitación magnética durante 15 minutos. Se aforó la solución con la fase móvil hasta 25 mL y se transfirió a un tubo, se centrifugó a 4000 rpm y 5 °C por 8 min. Finalmente se filtró la solución en una membrana de 0,45 µm y se inyectó al equipo de HPLC.

Se utilizó la columna Alltec de 5 µm, 250 mm x 4,6 mm, con un flujo de 1 mL/min y una presión de 100 ± 10 bar a temperatura ambiente (20 °C).

La fase móvil fue una solución de acetato de nitrilo grado HPLC con agua

desionizada en una proporción 70:30. El detector que se utilizó fue el de índice de refracción. Se usaron los estándares marca SIGMA correspondientes a cada azúcar. Se cuantificó el contenido de: fructosa, glucosa y sacarosa. Se utilizó un inyector automático HP 1050. El volumen de inyección fue de 20 µL. Se analizó una muestra con una réplica.

Vitamina C

La vitamina C fue cuantificada mediante HPLC. Se usó el método modificado y validado del artículo de Macrae (1988) por el DECAB.

Primeramente se pesó la muestra de mortiño liofilizado y la muestra de control de calidad (QC) que contenía 500 µg de vitamina C en un matraz de 50 mL. Luego se añadió a cada muestra 30 mL ácido metafosfórico al 3 % y 5 mL de homocisteína al 0,2 %. Posteriormente los matraces fueron agitados en un baño de ultrasonido por 15 min, y fueron aforados a 50 mL con agua destilada. Después pasaron a una centrifugación a 6000 rpm y 4 °C. Para finalizar se filtró la solución obtenida por una membrana de 0,45 µm. El filtrado se inyectó en el equipo de HPLC.

Se utilizó una columna LiChrospher 100 RP18 de 5 µm, 250 mm x 4,0 mm, con un flujo de 1 mL/min y una presión de 230 ± 10 bar a temperatura ambiente (20 °C).

La fase móvil fue una solución de fosfato monopotásico y bromuro trimetil cetílico de amonio. Se usó el estándar de ácido ascórbico certificado marca Dr. Ehrenstorfer GmbH. Se empleó un detector Ultravioleta a 244 nm. El volumen de inyección fue de 20 µL. Se analizó una muestra con una réplica.

Contenido de carotenoides

Para cuantificar los carotenoides se utilizó la técnica de HPLC según el método descrito por Petterson y Johnsson, (1990). Se pesaron 10 g de muestra de mortiño liofilizado. Luego se añadió 20 mL de acetona y 20 mL de etanol, para

homogenizar la solución se agitó por 5 min. La solución se filtró en un embudo de papel filtro y se repitió el procedimiento hasta que el filtrado sea incoloro. Posteriormente se realizó una dilución 50:50 con la fase móvil. La solución se filtró en una membrana de 0,45 μm y se inyectó en el equipo de HPLC.

Se utilizó una columna YMC carotenoid column de 250 mm x 4,8 mm, con un flujo de 1 mL/min.

La fase móvil fue una solución desgasificada de metanol, tert-butil metil éter y agua en una proporción 56:40:4. Se usaron los estándares estereo isómeros 9-cis- β -caroteno, 13-cis- β -caroteno, 15-cis- β -caroteno marca Dr. Ehrenstorfer GmbH. Se empleó un inyector automático HP 1050. El volumen de inyección fue de 20 μL . Se analizó una muestra con una réplica.

Contenido de ácidos orgánicos

Los ácidos orgánicos fueron cuantificados mediante HPLC, se siguió el método descrito por Pérez *et al.*, (1997).

Se pesó una cantidad de 2,5 g en un matraz de 50 mL. Luego se añadió 30 mL de H_2SO_4 0,02 N, ácido metafosfórico 0,05 % y homocisteína 0,02 %. La solución se homogenizó mediante agitación magnética durante 15 min. Posteriormente se aforó con H_2SO_4 0,02 N, ácido metafosfórico 0,05 % y homocisteína 0,02 % hasta 50 mL. Se transfirió a un tubo y se centrifugó por 8 min a 4000 rpm y 5 °C. La solución se filtró en una membrana de 0,45 μm y se inyectó en el equipo de HPLC.

Se utilizó una columna Aminex HPX-87H, con un flujo de 0,5 mL/min, presión de 114 bar y una temperatura de 30 °C. Se usó un detector UV a 210 nm.

La fase móvil que se empleó fue de H_2SO_4 0,02 N y los estándares SIGMA respectivos para ácido cítrico, ácido málico y ácido tartárico. Se analizó una muestra con una réplica.

Contenido de compuestos fenólicos solubles totales

El contenido de compuestos fenólicos solubles totales se determinó bajo el método Folin-ciocalteu's de Slinkard y Singleton (1977). El análisis se realizó en las muestras de mortiño liofilizado y luego se realizó una conversión de resultados por peso de fruta fresca usando las humedades del mortiño fresco y liofilizado.

El método consistió en una reacción REDOX entre los compuestos fenólicos presentes en una muestra y el reactivo FOLIN-CIOCALTEU. Se utilizaron patrones de ácido gálico entre 10 y 100 mg/L correspondientes a valores de absorbancia entre 0,2 y 0,9 medidos a 760 nm de longitud de onda para realizar una curva de calibración, posteriormente se realizaron diluciones con extractos de la muestra mortiño liofilizado y se midió la absorbancia a la misma longitud de onda. Para finalizar se calculó con los datos obtenidos la cantidad de compuestos fenólicos en función del ácido gálico mediante una fórmula establecida. Se hicieron (Ver Anexo III). Se realizaron 3 réplicas.

Contenido de antocianinas

El contenido de antocianinas fue analizado siguiendo el método de Giusti y Wrolstad (2001). Se usaron 1,5 g de muestra de mortiño fresco desintegrado. El método se describe en el Anexo IV.

La fruta homogenizada es tratada a pH 1,0 y pH 4,5, en estas condiciones, las antocianinas sufren transformaciones estructurales y se manifiestan por la diferencia en los espectros de absorbancia.

La forma coloreada predomina a pH 1,0 y la forma incolora a pH 4,5. De esta forma, el método permite la determinación rápida y precisa de las antocianinas totales presentes, por medio de espectrofotometría UV-Visible, aún en presencia de pigmentos poliméricos degradados y otros interferentes. Se realizaron dos réplicas por muestra.

Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante fue determinada mediante el método TEAC descrito por Re *et al.*, (1999) (Ver Anexo V). Se realizaron dos réplicas por muestra.

2.2.2 CARACTERIZACIÓN DE PRODUCTOS OBTENIDOS

2.2.2.1 Caracterización de jugos clarificados

Se tomaron muestras del jugo clarificado al finalizar el proceso de microfiltración tangencial (MFT) y se les realizó los siguientes análisis físico-químicos: sólidos solubles totales (°Brix), contenido de azúcares, vitamina C, carotenoides, compuestos fenólicos solubles totales, antocianinas, capacidad antioxidante, caracterización reológica, densidad relativa y análisis sensorial.

Análisis físico-químicos

Sólidos solubles totales (°Brix)

Para medir los sólidos solubles (°Brix) se siguió el método AOAC (2007) 932.12, (37.1.15) con el uso de un refractómetro portátil, las muestras de jugo clarificado fueron temperadas a 20 °C en un baño termostático, luego se tomó de cada muestra una gota del jugo y se puso en el refractómetro para determinar la lectura de °Brix. Se analizó una muestra con dos réplicas.

Densidad relativa

La densidad relativa a 20 °C de muestras de jugo clarificado obtenido a partir de pulpa hidrolizada “antes de” y “después de” el despulpado se determinó mediante el método AOAC (2007) 985.19, (41.1.06).

Contenido de azúcares, vitamina C, carotenoides y ácidos orgánicos

El contenido de azúcares, vitamina C, carotenoides y ácidos orgánicos fueron cuantificados mediante HPLC, se usaron los métodos citados anteriormente para la caracterización de estos analitos en la materia prima. Se analizó una muestra con dos réplicas.

Contenido de compuestos fenólicos solubles totales

Para cuantificar el contenido de compuestos fenólicos solubles totales se usó el método Folin-ciocalteu, para el análisis se tomaron 200 μ L de cada muestra de jugo clarificado de mortiño (Ver Anexo III). Se analizó una muestra con dos réplicas.

Contenido de antocianinas

El contenido de antocianinas se determinó a través del método descrito por Giusti y Wrolstad (2001), la cantidad tomada de cada muestra de jugo clarificado dependió del pre-tratamiento al que fue sometida la pulpa y de los parámetros de operación con los que se realizó cada ensayo (Ver Anexo IV). Se analizaron dos muestras con dos réplicas por muestra.

Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se cuantificó usando el método TEAC, se tomó 50 μ L de jugo clarificado y se siguió el método descrito en el Anexo V. Se analizó una muestra con dos réplicas.

Caracterización reológica

Para caracterización reológica se utilizó un Reómetro AR 2000 ADVANCED RHEOMETER provisto de un accesorio cono-plato con cono de 2° de 60 mm de diámetro.

Se usó una separación de 500 μm entre el cono y el plato. El análisis fue realizado a 25 °C de temperatura. Se analizó una muestra con una réplica.

Análisis sensorial

El análisis sensorial se realizó tomando como referencia la muestra de jugo clarificado obtenido bajo los parámetros de: presión transmembranaria: 4 bar, concentración de coctel enzimático: 1 mL/kg de pulpa y tratamiento enzimático aplicado antes del despulpado, almacenada a -17 °C en frasco plástico.

Se ajustó el valor de °Brix hasta 14, la composición de la muestra usada para la evaluación por parte de los panelistas se indicó en la Tabla 2.1. Se capacitó a 20 panelistas antes del análisis, el entrenamiento consistió en dar una muestra de jugo clarificado y se indicó la forma en la que debían valorar en la escala cada atributo, se puso énfasis en explicar que la escala va de mayor a menor de izquierda a derecha respectivamente.

El formato del documento de reporte de la evaluación sensorial que recibió cada panelista se muestra en el Anexo VI.

Adicionalmente se entregó una muestra de mortuño fresco a los panelistas para que se familiaricen con el aroma y sabor de la fruta de manera que puedan evaluar la muestra de una forma más objetiva.

Cada panelista recibió una muestra de 20 mL, los atributos a evaluar fueron la intensidad de: sabor, aroma y acidez. Se utilizó luz natural para el análisis sensorial. El objetivo de este análisis fue determinar la cantidad de conservación de cada atributo en el jugo clarificado con relación a la fruta fresca y estimar un nivel de aceptabilidad.

Los resultados obtenidos fueron evaluados mediante un análisis de varianza y un

estudio de rango múltiple con un 95 % de confianza usando el programa STATGRAPHICS Plus 5.1.

Tabla 2.1 Composición de la muestra de 600 g de jugo clarificado de 14 °Brix usada para el análisis sensorial

Ingredientes	Peso (g)	Composición (% peso/peso de muestra)
Jugo clarificado	500	83,3
Agua	71	11,83
Azúcar	29	4,87

2.2.2.2 Caracterización de jugos clarificados concentrados

Finalizado el proceso de ósmosis inversa (OI) se tomaron muestras del jugo clarificado concentrado y se les realizó un análisis físico-químico de: contenido de azúcares, vitamina C, carotenoides, compuestos fenólicos solubles totales antocianinas, capacidad antioxidante, caracterización reológica, densidad relativa y análisis sensorial con los métodos anteriormente citados.

Para el análisis de minerales se realizó una dilución de la muestra en HCl concentrado de acuerdo con el método descrito por Perkin-Elmer Corporation (1994) Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrometry y luego se tomó la lectura de Ca, K, Mg, Cu, Zn, Fe y Na por Espectrofotometría de Absorción Atómica. Se analizó una muestra con una réplica.

Análisis sensorial

La evaluación sensorial se realizó tomando como referencia la muestra de jugo clarificado concentrado obtenida a 60 bar de PTM y 30 °C de temperatura, almacenada a -17 °C en frasco plástico. Se efectuó una dilución del jugo

clarificado concentrado para disminuir los sólidos solubles y de esta manera no saturar la percepción gustativa de los panelistas.

La muestra inicial presentó 23,4 °Brix y se bajó a 10 °Brix para acercarla al valor de °Brix del mortíño fresco, luego se añadió azúcar a la dilución obtenida para lograr un incremento a 14 °Brix y otorgar un sabor más agradable, la composición de la muestra usada para la evaluación se indicó en la Tabla 2.2, los valores de cada ingrediente se obtuvieron mediante un balance de masa.

Se contó con la participación de 24 panelistas semientrenados. El formato del documento de reporte de la evaluación sensorial que recibió cada panelista se muestra en el Anexo VII.

Para la evaluación definitiva cada panelista recibió una muestra de 20 mL, los atributos a evaluar fueron la intensidad de: sabor, aroma y acidez. Se utilizó luz natural para el análisis sensorial.

El objetivo de este análisis fue determinar la cantidad de concentración de cada atributo en el jugo clarificado concentrado con relación a la fruta fresca y estimar un nivel de aceptabilidad.

Los resultados obtenidos fueron evaluados mediante un análisis de varianza y un estudio de rango múltiple con un 95 % de confianza usando el programa STATGRAPHICS Plus 5.1.

Tabla 2.2 Composición de 700 g de muestra de jugo clarificado concentrado de 14 °Brix usada para el análisis sensorial

Ingredientes	Peso (g)	Composición (% peso/peso de muestra)
Jugo concentrado	250	35,71
Agua	410,5	58,64
Azúcar	39,5	5,65

2.3 ESTUDIO DEL EFECTO DEL TRATAMIENTO ENZIMÁTICO EN EL PROCESO DE DESPULPADO

2.3.1 DESINTEGRADO

La fruta se dividió en lotes de 10 kg y todos fueron procesados en el desintegrador Ritz, por separado. Se tomó el peso final del mortuño desintegrado obtenido a partir de cada lote y posteriormente a 6 lotes desintegrados se usaron para el estudio del efecto del tratamiento enzimático y 8 lotes desintegrados para los estudios posteriores en microfiltración tangencial (MFT).

2.3.2 TRATAMIENTO ENZIMÁTICO

Para optimizar la extracción de pulpa se realizó una hidrólisis enzimática con el fin de disminuir la presencia de sólidos insolubles en suspensión (SIS) e incrementar el rendimiento.

Se trabajó con tres niveles de cantidad de coctel enzimático: 0 - 0,5 y 1mL/kg de pulpa aplicados antes del despulpado. La materia prima adquirida previamente lavada y desinfectada se dividió en tres lotes de 10 kg, a un lote no se le aplicó el tratamiento enzimático, a otro lote se le aplicó con la cantidad de 0,5 mL/kg de pulpa y a otro con la cantidad de 1 mL/kg de pulpa. Para cada experimento se realizó una réplica.

Para evaluar el efecto del tratamiento enzimático sobre el proceso de despulpado y definir la cantidad de coctel enzimático que permita obtener un mayor rendimiento de pulpa, se realizó un análisis de varianza de una vía y se tomó como variable dependiente la cantidad de pulpa obtenida después de cada experimento.

Cada formulación enzimática que se usa es específica y se escoge en función de la composición de la pared insoluble, la fruta o los resultados que se quieren

obtener. Para el caso de este estudio se utilizó el coctel enzimático Klerzyme 150[®] de DSM Food Specialties, su composición es de pectinasa líquida extraída del *Aspergillus niger* (Centerchem, 2006).

El tratamiento enzimático consistió en una hidrólisis de 1 hora a 30 °C, las condiciones fueron escogidas con base en el estudio realizado por Yacelga (2007) en la obtención de jugo clarificado de mora mediante MFT. En las pruebas experimentales para la hidrólisis enzimática se realizó la aplicación del coctel enzimático en el mortíño desintegrado antes de someterlo al despulpado.

Para utilizar las pulpas obtenidas sin aplicar el tratamiento enzimático en los estudios posteriores de la evaluación de su efecto sobre el proceso de MFT, se procedió a realizar un tratamiento enzimático en las pulpas después del despulpado con cantidades de coctel enzimático 0,5 y 1 mL/kg de pulpa durante 1 hora a 30 °C.

Para el diseño experimental y el análisis estadístico de los datos obtenidos se utilizó el programa STATGRAPHICS Plus 5.1.

2.3.3 DESPULPADO

Para extraer la pulpa se utilizó un despulpador refinador horizontal de acero inoxidable para frutas marca LANGENKAMP M5707, con un motor de 1104 W y 1725 rpm, se usó una malla de 0,084 mm de diámetro de poro. Los lotes de fruta desintegrada hidrolizada pasaron al despulpador y se tomó el peso final de pulpa obtenida para la evaluación del efecto del tratamiento enzimático sobre el despulpado.

Para los estudios posteriores en MFT los lotes de fruta desintegrada restantes pasaron al despulpado, un lote con tratamiento enzimático y otro lote sin tratamiento enzimático de acuerdo al esquema experimental “antes de” y “después de”.

La hidrólisis enzimática se realizó bajo las condiciones de cantidad de coctel enzimático de 0,5 y 1 mL/kg de pulpa y temperatura de 30 °C durante 1 hora con agitación constante. El mortíño desintegrado se mantuvo a temperatura constante durante el tratamiento enzimático en la olla de volteo de 20 L de capacidad marca HAMILTON Kettles, y el despulpado en la olla de volteo de 10 L de capacidad marca LEGION.

La pulpa hidrolizada de mortíño obtenida en cada experimento y para cada sitio de aplicación se pesó en la báscula TOLEDO SCALE COMPANY MODEL 2120 capacidad de 200 kg, se registraron todos los datos del peso obtenido.

Se tomaron muestras de 100 mL en cada etapa de la extracción (desintegrado, desintegrado hidrolizado, despulpado, pulpa hidrolizada “antes de” y pulpa hidrolizada “después de”, para caracterizarlas. Las muestras de pulpa obtenidas en cada experimento fueron envasadas en fundas de polietileno, etiquetadas y almacenadas en cámara de congelación en la Planta Piloto del DECAB a -17 °C.

El esquema experimental y los procesos de operación realizados se muestran en la Figura 2.2. Las imágenes del proceso de extracción de pulpa de mortíño se pueden ver en el Anexo VIII.

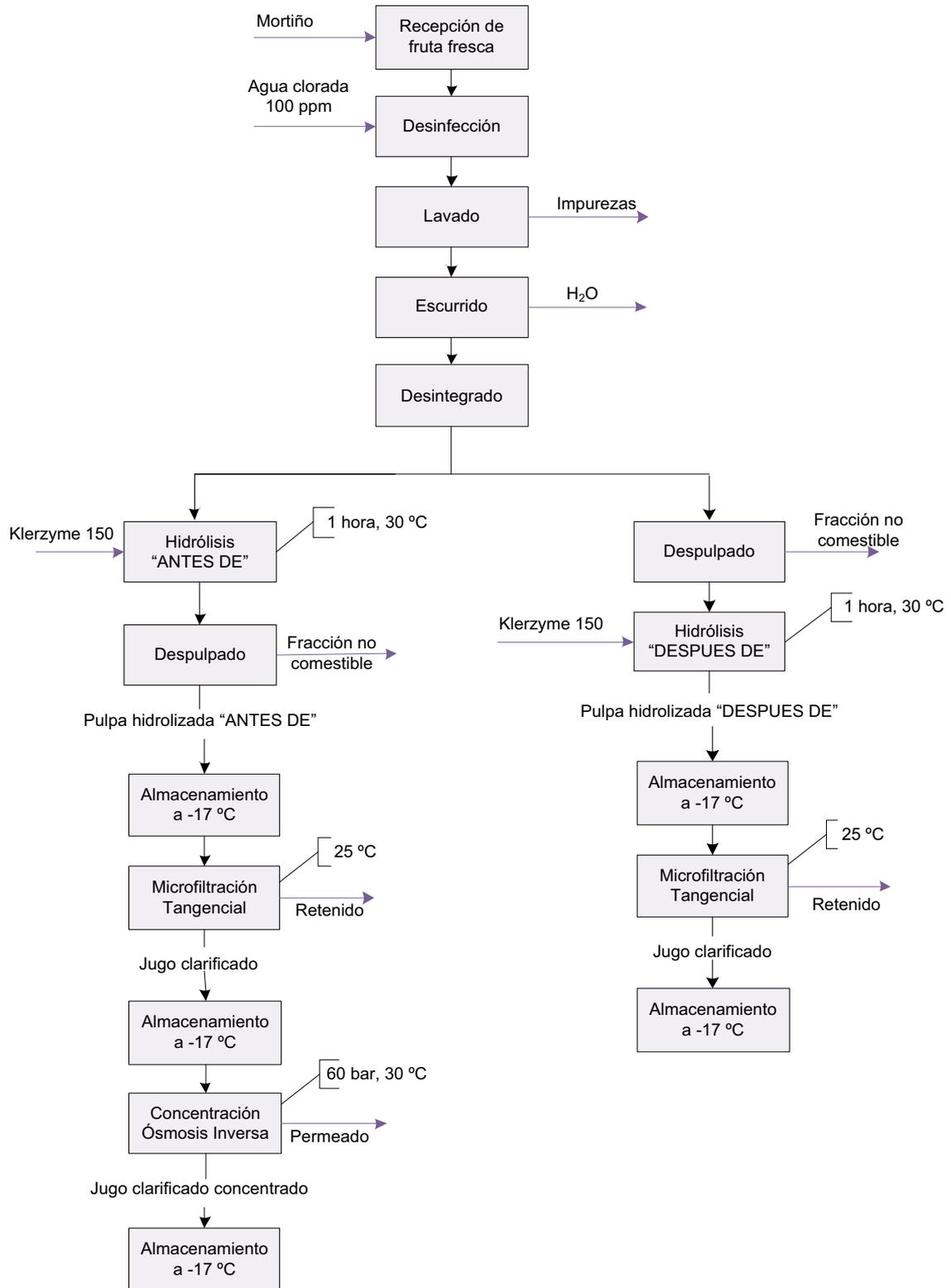


Figura 2.2 Procesos de operación para la obtención de pulpa y jugo clarificado concentrado de mortuño

2.4 ESTUDIO DEL EFECTO DE LA PRESIÓN Y TRATAMIENTO ENZIMÁTICO EN EL PROCESO DE MICROFILTRACIÓN TANGENCIAL

2.4.1 ESTUDIO DEL EFECTO DE LA PRESIÓN EN EL PROCESO DE MICROFILTRACIÓN TANGENCIAL

Para evaluar el efecto de la presión transmembranaria (PTM) sobre el proceso de MFT y definir el valor de PTM para obtener un mayor rendimiento de permeado se realizaron experimentos en los cuales se cargó al equipo de MFT una masa inicial de pulpa (M_o) (entre 1,5 a 1,7 kg) y se midió cada 5 minutos la masa de permeado obtenido (M_p). Con esta información se calculó el factor de retención (FR) correspondiente a cada tiempo, según la siguiente fórmula:

$$\text{FR} = \frac{M_o}{M_p} \quad [2.2]$$

Para determinar la M_p obtenida para un FR de 1,5 y 2 se realizó una interpolación de los datos registrados cada 5 minutos durante todo el proceso de MFT en cada ensayo.

Se realizaron las pruebas de MFT con muestras de pulpa de mortño hidrolizadas “antes de” (A) y “después de” (D) el despulpado con la adición del coctel enzimático Klerzyme 150[®] en cantidad de 1 mL/kg de pulpa. La PTM a evaluar fue de 2 y 4 bar y se aplicó a muestras de pulpa hidrolizada A y D. Se hizo una réplica para cada ensayo.

Con el valor de la M_p correspondiente a cada prueba realizada a PTM de 2 y 4 bar y con muestra de pulpa hidrolizada A y D se efectuó el respectivo análisis de varianza de una vía (ANOVA).

Para el diseño experimental y el análisis estadístico de los datos obtenidos se utilizó el programa STATGRAPHICS Plus 5.1.

2.4.1.1 Microfiltración tangencial de pulpas hidrolizadas de mortiño

Esta operación fue realizada con el objetivo de obtener un jugo clarificado de mortiño a partir de la MFT de muestras de pulpa hidrolizada de mortiño, de forma que mediante el uso de una membrana semipermeable se logre un proceso de separación en el cual, se mantenga la mayor cantidad de sólidos solubles en el permeado y permanezcan los sólidos insolubles en el retenido.

2.4.1.2 Descripción del equipo de microfiltración tangencial

El proceso de microfiltración tangencial se realizó en el módulo a escala de laboratorio que se encuentra en la Planta Piloto del DECAB-EPN. El módulo es de marca SEMATEC y trabaja con un sistema tipo batch que se puede observar en el Anexo IX. En la Figura 2.3 se muestra un esquema del equipo de MFT utilizado que consta de los siguientes componentes:

- Tanque de alimentación de 5 L (E-1)
- Bomba de desplazamiento positivo para circulación (BA)
- Intercambiador de calor tubular (E-2)
- El módulo de filtración contiene en su interior una membrana de cerámica KERASEP con 0,2 μm de diámetro de poro y un área de membrana de 0,0064 m^2 marca NOVASEP (E-3)
- Válvula para vaciar el tanque de alimentación (V-1)
- Válvula para regular la presión transmembranaria (V-2)
- Válvulas para la salida del permeado (V-3, V-9)
- Válvula para eliminar el contenido del módulo (V-5)
- Válvula para regular la entrada de agua fría al intercambiador (V-6)
- Válvula para alimentación al módulo (V-8)
- Manómetro para medir la presión en la entrada del módulo (M)
- Termómetro para medir la temperatura (TH)
- Medidor de flujo de permeado (F)

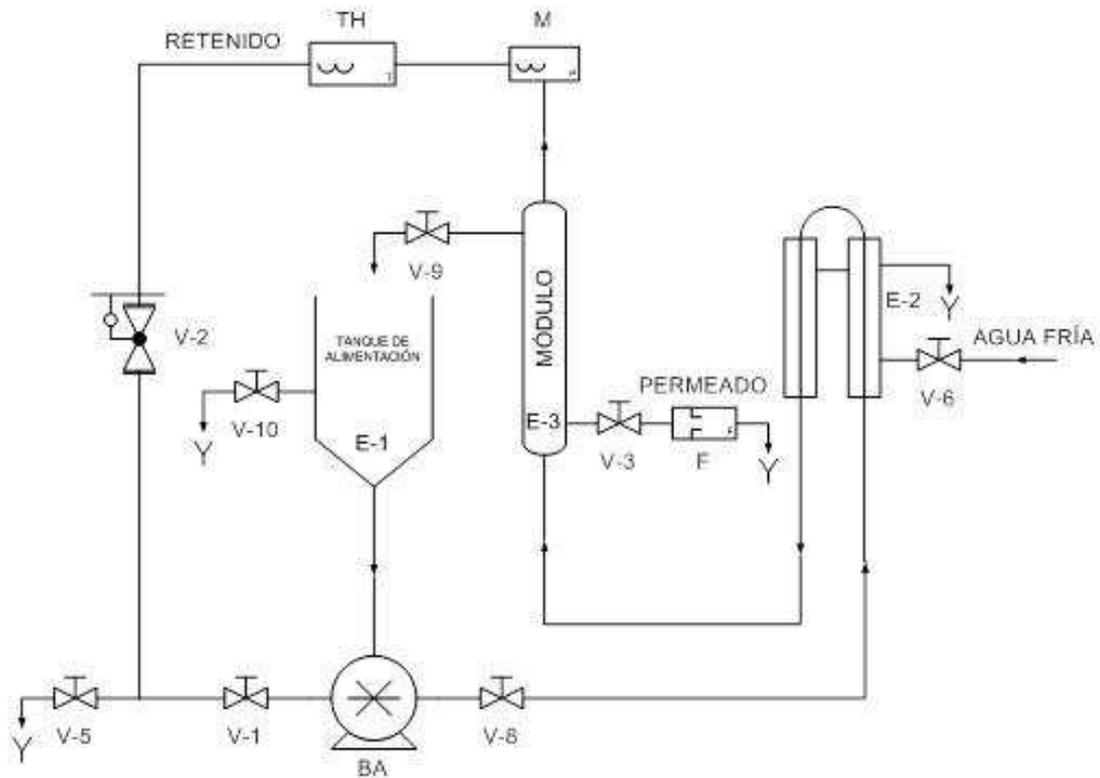


Figura 2.3 Esquema del equipo de microfiltración tangencial utilizado

2.4.1.3 Proceso

Se usó una membrana cerámica monocanal tipo tubular, la cual fue instalada en el módulo de MFT. En la Tabla 2.3 se muestran las especificaciones técnicas de la membrana.

Previamente se realizaron algunas pruebas experimentales para obtener información que permitió definir los parámetros de operación.

Se usó una bomba de desplazamiento positivo WAUKESHA SANITARY PUMP para la alimentación, en la cual antes de iniciar cada experimento se reguló el flujo de alimentación del equipo a un caudal de 6,5 L/min, para lograr una velocidad interna de flujo de circulación de 5 m/s.

Tabla 2.3 Especificaciones técnicas de membrana cerámica KERASEP

Características	Dimensión
Diámetro de poro	0,2 μm
Diámetro interno	0,6 cm
Diámetro externo	0,10 cm
Longitud	40 cm
Área efectiva	0,0064 m ²

La temperatura de trabajo fue de 25 °C durante el proceso. Para controlar esta temperatura se utilizó un intercambiador de calor acoplado a una regulación de agua fría. Se tomaron los datos de temperatura en el tanque de alimentación con un termómetro digital marca EXTECH INSTRUMENTS EasyView 15 Thermometer Datalogger cada 5 minutos.

Se utilizaron muestras de pulpa hidrolizadas de mortíño obtenidas en el proceso de extracción bajo el tratamiento enzimático realizado con una cantidad de coctel enzimático de 1 mL/kg de pulpa aplicado “antes de” y “después de” el despulpado.

Para efectuar la experimentación y poder evaluar la presión transmembranaria (PTM) de trabajo, se realizaron dos pruebas con las muestras de pulpa hidrolizada “antes de”, una a PTM de 2 bar y otra a PTM de 4 bar; de la misma manera se procedió con las muestras de pulpa hidrolizada “después de”. Para cada prueba se cargó aproximadamente de 1,5 a 1,7 kg de pulpa hidrolizada al tanque de alimentación del módulo de MFT. En cada ensayo se realizó una réplica.

Una vez que la muestra se depositó en el tanque de alimentación antes de encender la bomba de alimentación todas las válvulas de salida fueron cerradas, únicamente se dejó abierta la válvula de salida del permeado.

En cada prueba el volumen de permeado fue recolectado en un recipiente plástico que se mantuvo sobre una balanza digital OHAUS Navigator NOH110 para

monitorear el peso, también se midió el flujo de permeado a través de un medidor de flujo marca Cole-Parmer acoplado a la manguera de salida. Los datos fueron tomados cada 5 min.

Al inicio del proceso se puso a trabajar el equipo durante 5 minutos y se tomó una muestra de alimentación (pulpa) y una vez terminado el proceso se tomó una muestra del retenido final y una muestra del permeado, todas las muestras fueron recogidas en frascos plásticos de 100 mL.

El permeado obtenido (jugo clarificado) se envasó en un recipiente plástico de 1 L y junto con las muestras para análisis fueron etiquetadas y almacenadas en una cámara de congelación a temperatura de -17 °C.

Finalizado el proceso se lavó el equipo de MFT para evitar que la permeabilidad de la membrana disminuya debido al colmataje producido. Una vez terminado el lavado se realizó un procedimiento para determinar la permeabilidad hidráulica y verificar si volvió a su permeabilidad original. Los reactivos que se usaron y los procedimientos que se siguieron están detallados en los manuales de operación y limpieza desarrollados por el DECAB y anexados junto al equipo.

2.4.2 ESTUDIO DEL EFECTO DEL TRATAMIENTO ENZIMÁTICO EN EL PROCESO DE MICROFILTRACIÓN TANGENCIAL

Se utilizó un diseño experimental 2^2 para evaluar el efecto del tratamiento enzimático en el proceso de MFT, las variables a evaluar fueron la cantidad de coctel enzimático Klerzyme 150[®] a dos niveles que fueron 0,5 y 1 mL/kg de pulpa; y el sitio de aplicación del tratamiento enzimático “antes de” y “después de” el despulpado. Se usaron dos variables de respuesta para el análisis estadístico, estas fueron: el contenido de antocianinas en la alimentación (Ro) y en el permeado (P).

Las pruebas experimentales de MFT se realizaron con muestras de pulpa de

mortiño hidrolizadas “antes de” y “después de” el despulpado con la cantidad de coctel enzimático Klerzyme 150[®] de 0,5 y 1 mL/kg de pulpa. Se trabajó con la PTM de 2 bar para pulpas hidrolizadas “después de” y de 4 bar para pulpas hidrolizadas “antes de”.

Se tomaron muestras de Ro y P durante cada prueba experimental a las cuales se les realizó el análisis de contenido de antocianinas mediante el método Giusti y Wrolstad (2001) descrito en el Anexo IV. En el caso de Ro se usaron 1,5 g de muestra y para P de 0,1 – 0,3 mL de muestra.

Para el diseño experimental y el análisis estadístico de los datos obtenidos se utilizó el programa STATGRAPHICS Plus 5.1.

2.5 OBTENCIÓN DE JUGO CLARIFICADO CONCENTRADO DE MORTIÑO POR ÓSMOSIS INVERSA

2.5.1 ÓSMOSIS INVERSA

Esta operación se realizó con el fin de concentrar el jugo clarificado de mortiño obtenido en el proceso de microfiltración tangencial. El objetivo fue incrementar la concentración de sólidos solubles (°Brix) preservando la cantidad y actividad de los componentes bioactivos.

2.5.1.1 Descripción del equipo de ósmosis inversa

Para realizar el proceso de ósmosis inversa se usó un módulo a escala de laboratorio MICRO 240 en el DECAB-EPN. El módulo es un sistema tipo que se presenta en el Anexo X. En la Figura 2.4 se muestra un esquema del equipo de ósmosis inversa utilizado que consta de los siguientes componentes:

- Tanque de alimentación de 5 L (E-1)
- El módulo de filtración contiene en su interior una membrana AFC99 de poliamida con $0,2 \mu\text{m}$ de diámetro de poro y un área de membrana de $0,024 \text{ m}^2$ marca Aquious – PCI Membranes (E-3)
- Bomba de pistones para alimentación y circulación (BA)
- Intercambiador de calor tubular (E-2)
- Válvula para regular la presión (V-1)
- Válvula para regular el flujo de alimentación (V-3)
- Válvula para vaciar el tanque de alimentación (V-4)
- Válvula para eliminar el contenido del módulo (V-6)
- Válvula para regular el flujo de recirculación
- Manómetro para medir la presión en la entrada del módulo (M)

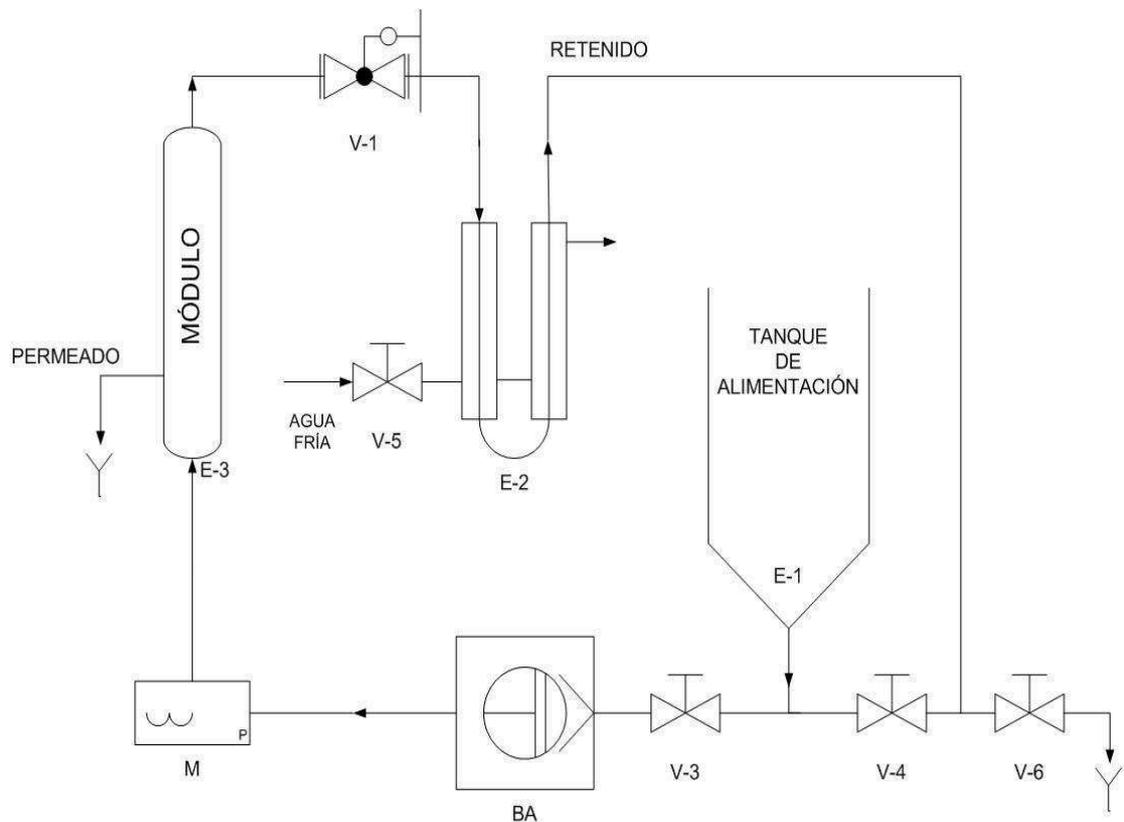


Figura 2.4 Esquema del equipo de ósmosis inversa MICRO 240

2.5.1.2 Proceso

Se utilizó una membrana de poliamida AFC99 que tiene una exclusión de NaCl del 99 %, la membrana se instaló en el módulo de ósmosis inversa MICRO 240. En la Tabla 2.4 se muestran las especificaciones técnicas de la membrana.

Para definir la mejor velocidad de circulación se realizaron pruebas experimentales haciendo circular agua a velocidades de: 1, 1,5, 2, y 2,5 m/s. Primero se calculó el caudal necesario para cada velocidad, luego se ajustó en el motor de la bomba a través del control automático de velocidad LEESON SPEEDMASTER la frecuencia respectiva para obtener el caudal respectivo a cada velocidad.

Tabla 2.4 Especificaciones técnicas de la membrana de poliamida Aquious PCI Membranes

Características	Dimensión
Diámetro de poro	0,2 μm
Diámetro interno	1,2 cm
Diámetro externo	1,35 cm
Longitud	32,5 cm
Área efectiva	0,024 m ²
Presión máxima	64 bar
Rango de pH	3 – 11
Rango de temperatura	0 – 70 °C

Posteriormente se realizó una prueba experimental con una muestra de 1,5 L de jugo clarificado de mortiño, se midió el flujo de permeado a cada velocidad a los 5 minutos de iniciado el proceso a 870 psi de PTM; y antes de que se vacíe el tanque de alimentación a 500 psi de PTM se volvió a medir el flujo de permeado. Se mantuvo una temperatura constante de 30 °C.

Se realizó una prueba preliminar para obtener datos del peso de muestra inicial y de la concentración de sólidos solubles inicial y final, con la información obtenida

se realizó un balance de masa para calcular el peso de muestra que se debía usar al inicio de la prueba para lograr un valor en el producto final de °Brix que sea lo más cercano al promedio máximo de concentración (25 °Brix) obtenido en otros estudios de obtención de jugos concentrados de frutas realizados por Marcillo (2010). La masa de alimentación es igual a la masa del permeado más la masa del retenido.

Se usó una bomba de pistones marca CAT PUMPS Model 1051 para la alimentación, en la cual antes de iniciar cada experimento se reguló la velocidad de circulación a 2 m/s a través del control automático de velocidad. La PTM de trabajo se mantuvo estable mediante la válvula de regulación (V-1).

La PTM y la temperatura de trabajo escogidos para la operación fueron de 60 bares (870 psi) y 30 °C, éstos se mantuvieron constantes durante todo el proceso. Los valores de estas variables se escogieron con base en los estudios de obtención de jugos clarificados concentrados de mora, tomate de árbol y naranjilla mediante el uso de tecnología de membranas realizado por Marcillo (2010).

La temperatura establecida durante el proceso en las pruebas preliminares y experimentales se controló a través de un termómetro digital marca EXTECH INSTRUMENTS EasyView 15 Thermometer Datalogger sumergido en el tanque de alimentación durante todo el proceso y se registraron las medidas cada 5 min. La temperatura se mantuvo estable a través la regulación de la válvula de entrada de agua fría (V-5) al intercambiador tubular de calor acoplado al equipo de OI.

Se usaron muestras de jugo clarificado de mortiño obtenido en el proceso de microfiltración tangencial realizado en el equipo de MFT a escala piloto TIA (Techniques Industrielles Appliquees) F84500 BOLLENE en la Planta Piloto del DECAB-EPN.

Las condiciones del proceso de MFT fueron: PTM de 4 bar y temperatura de 30 °C a partir de una muestra de pulpa hidrolizada de mortiño obtenida con el

proceso de extracción con tratamiento enzimático aplicado antes del despulpado con la cantidad de coctel enzimático de 1 mL/kg de pulpa.

Los ensayos de concentración se realizaron con aproximadamente 4 kg de muestra del jugo clarificado de mortiño obtenido en la MFT realizada en el equipo de MFT a escala piloto TIA y una vez finalizado el proceso se obtuvieron masas finales de permeado y de retenido (jugo clarificado concentrado de mortiño). Se asume que una cantidad de retenido se quedó en las paredes y tuberías dentro del equipo, este volumen se denomina volumen muerto.

La muestra se depositó en el tanque de alimentación y antes de encender la bomba de alimentación la válvula de salida (V-6) fue cerrada, únicamente se dejó abierta la salida del permeado.

El volumen de permeado fue recolectado en un frasco plástico ubicado sobre una balanza digital OHAUS Scout Pro SP2001 en la cual se registró el peso en intervalos de tiempo, la medida del flujo de salida de permeado se la realizó recolectando en una probeta el volumen de permeado en un intervalo de tiempo medido a través de un cronómetro digital y se apuntó la medida en mL. Se tomó una muestra de retenido para medir los grados °Brix. Todas las mediciones se realizaron a tiempo 0 y luego cada 5 min, 10 min, 15 min hasta que se consuma aproximadamente la mitad de la muestra depositada en el tanque de alimentación y en intervalos de 30 min hasta finalizar el proceso.

A los 5 minutos de iniciado el proceso se tomó una muestra de la alimentación que se definió como retenido inicial y una vez terminado el proceso se tomaron una muestra del retenido final y una muestra del permeado, las muestras fueron tomadas en frascos plásticos de 100 mL.

El jugo clarificado concentrado de mortiño obtenido (retenido final) se envasó en un frasco plástico de 1 L y se acopió junto a las muestras tomadas para caracterización las cuales fueron etiquetadas y almacenadas en la cámara de congelación de la Planta Piloto del DECAB a -17 °C.

Al finalizar el proceso se abrió la válvula de salida (V-6) del tanque de alimentación y se encendió la bomba de alimentación por unos segundos, de esta manera se recolectó la mayor cantidad de retenido (jugo clarificado concentrado) alojado dentro del equipo.

Luego se procedió a realizar un lavado del equipo de OI para conservar la calidad y la permeabilidad original de la membrana. Una vez terminado el lavado se realizó un procedimiento para determinar la permeabilidad hidráulica y verificar si volvió a su permeabilidad original. Los reactivos que se usaron y los procedimientos que se siguieron están detallados en los manuales de operación y limpieza desarrollados por el DECAB y anexados junto al equipo.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 CARACTERIZACIÓN DE MATERIA PRIMA

3.1.1 ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS

En la Tabla 3.1 se presentan los resultados de los análisis físico-químicos para el mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla 3.1 Análisis físico-químicos del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

PARÁMETRO	RESULTADO
PESO ¹ (g)	0,33 ± 0,06
COLOR	N ₉₉ M ₃₀ C ₇₀
SÓLIDOS SOLUBLES ² (°Brix)	11 ± 0,91
pH ³	2,61 ± 0,06
ACIDEZ TITULABLE ³ (g Ácido cítrico/100 g PF)	7,72 ± 0,08

¹ Media ± DE (n = 100); ² Media ± DE (n = 4); ³ Media ± DE (n = 3)
N = negro, M = magenta, C = cyan; PF = peso fruta fresca

La fruta fresca presenta un color negro azulado muy oscuro en su estado de madurez organoléptica de acuerdo a la combinación de negro, magenta y cyan determinada en el Atlas de colores de Küppers (2002).

La medida de °Brix es un buen estimador del contenido de azúcar, mientras más alto es el valor del °Brix existe una mayor cantidad, se puede observar en la Tabla 3.1 que el mortiño presenta una baja cantidad de azúcares.

El grado de acidez en frutas está relacionado directamente con el contenido de ácidos orgánicos, a mayor contenido de ácidos la acidez de la fruta es más alta. El ácido predominante de la fruta es el que se utiliza para calcular el porcentaje de acidez y el resultado se reporta en función de este ácido. En el mortiño el ácido cítrico es el que se encuentra en mayor cantidad como se muestra en la Tabla 3.2.

De acuerdo al bajo valor de pH y valor de la acidez se puede confirmar que el mortiño es una fruta que se encuentra dentro del grupo de las frutas consideradas como ácidas.

3.1.2 COMPOSICIÓN QUÍMICA

En la Tabla 3.2 se muestra la composición química del mortiño. Los análisis fueron realizados con muestras de mortiño fresco, y en algunos casos en los que fue necesario se hicieron los análisis a partir de una muestra de mortiño liofilizado para lo cual se realizó posteriormente la conversión de resultados utilizando la humedad de la fruta fresca y liofilizada.

Si se comparan los resultados obtenidos en el análisis de algunos minerales como el calcio, hierro, magnesio, cobre y zinc; la fibra dietética total; y el contenido de fructosa y glucosa con los valores reportados en la caracterización realizada por Vasco *et al.*, (2009) se puede ver que los valores en ambos estudios se encuentran en el mismo rango. En parámetros como la humedad, contenido de proteínas, cenizas y grasa se puede observar que se obtuvieron los mismos promedios. Se puede decir que la fruta tiene un alto contenido de potasio, magnesio y calcio y un bajo contenido de azúcares.

El contenido de ácidos galacturónicos de la fruta es 0,52 %, lo que indica que la fruta presenta una baja cantidad de pectina.

Los valores del contenido de ácidos orgánicos como el ácido cítrico y ácido málico son menores a los reportados por Vasco *et al.*, (2009), se mantienen en un nivel bajo, es decir la fruta no presenta una cantidad considerable de estos compuestos.

En cuanto al contenido de compuestos fenólicos solubles totales, Vasco *et al.*, (2009) reporta un promedio de 882 mg AG/100 g, si este valor se compara con el valor de 729,48 mg AG/100 g obtenido en esta investigación se observa que en

ambos estudios se obtuvieron valores mayores a los presentes en otras frutas ecuatorianas como el caso de Mosquera (2008) que reporta 204,12 mg AG/100 g para naranjilla y Badillo (2008) que reporta 56 mg AG/100 g para uvilla.

Tabla 3.2 Composición química del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

PARÁMETRO	RESULTADO
HUMEDAD ¹ (g/100 g PF)	80,09 ± 0,16
PROTEÍNAS ^{1*} (g/100 g PF)	0,76
CENIZAS ^{1*} (g/100 g PF)	0,34 ± 0,01
EXTRACTO ETÉREO ^{1*} (g/100 g PF)	0,96
ÁCIDOS GALACTURÓNICOS ³ (g/100 g PF)	0,52 ± 0,04
ANÁLISIS DE MINERALES ¹	
Ca (mg/100 g PF)	15,54 ± 1,14
K (mg/100 g PF)	142,04± 1,88
Mg (mg/100 g PF)	21,22± 1,90
Cu (mg/100 g PF)	0,11 ± 0,00
Zn (mg/100 g PF)	0,21± 0,00
Fe (mg/100 g PF)	0,77± 0,00
FIBRA DIETÉTICA TOTAL * (g/100 g PF)	5,87
CONTENIDO DE AZÚCARES ^{1**}	
Fructosa (g/100 g PF)	4,55 ± 0,06
Glucosa (g/100 g PF)	2,96 ± 0,04
Sacarosa (g/100 g PF)	ND
VITAMINA C ^{1**} (mg/100 g PF)	1,27 ± 0,02
CONTENIDO DE ÁCIDOS ORGÁNICOS ^{1**}	
Ácido cítrico (mg/100 g PF)	1 185,99 ± 74,53
Ácido málico (mg/100 g PF)	451,52 ± 14,96
Ácido tartárico (mg/100 g PF)	ND
CONTENIDO DE CAROTENOIDES ^{1**} (mg/100 g PF)	0,13 ± 0,00
COMPUESTOS FENÓLICOS SOLUBLES TOTALES * (mg AG/100 g PF)	729,48 ± 112,85
ANTOCIANINAS ¹ (mg/100 g PF)	356,73 ± 35,17
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE ³ (mg Trolox/100 g PF)	1 192,86 ± 19,62

Todos los resultados están expresados por peso de fruta fresca, para la conversión se usó el contenido de humedad en mortiño fresco (80,09 g/100gPF) y *liofilizado (5,845 g/100gPF), ** (1,72g/100gPF)

¹ Media ± DE (n = 2); ² Media ± DE (n = 4); ³ Media ± DE (n = 3)

PF = Peso de fruta fresca; AG = Ácido gálico; ND = Bajo el límite de detección

En el estudio realizado por Vasco *et al.*, (2008) reportan contenidos de compuestos fenólicos solubles totales de algunas frutas ecuatorianas como el taxo (1010 mg AG/100 g), guayaba (462 mg AG/100 g) y ciruela (440 mg AG/100 g). Si se compara estos valores con el contenido de compuestos fenólicos obtenido en este estudio para el mortiño (729,48 mg AG/100 g) se puede afirmar que la fruta tiene un alto contenido de estos compuestos.

En el presente estudio se obtuvo un valor de capacidad antioxidante de 1192,86 mg Trolox/100 g, éste es un valor cercano a 1203 mg Trolox/100 g reportado por Vasco *et al.*, (2009) para mortiño. Ambos valores se encuentran en el mismo rango de capacidad antioxidante de otras frutas ecuatorianas reportadas por Vasco *et al.*, (2008) como mora (1302 mg Trolox/100 g) y guayaba (1051 mg Trolox/100 g).

Por lo tanto, el mortiño se ubica entre las frutas del Ecuador con mayor capacidad antioxidante, lo cual se justifica por la presencia de un alto contenido de algunos componentes con actividad antioxidante en la fruta, como son los compuestos fenólicos.

El contenido de carotenoides es muy bajo, es por esto que es imperceptible este pigmento a simple vista en la fruta fresca.

3.2 RESULTADOS DEL ESTUDIO DEL EFECTO DEL TRATAMIENTO ENZIMÁTICO EN EL RENDIMIENTO DEL PROCESO DE DESPULPADO DE MORTIÑO

En la Tabla 3.3 se muestran los resultados obtenidos para cada experimento en la extracción de pulpa de mortiño durante la experimentación de acuerdo al diseño experimental escogido.

Tabla 3.3 Peso de pulpa de mortiño obtenido en la extracción

EXPERIMENTO	Cantidad de coctel enzimático Klerzyme 150 [®] (mL/kg de pulpa)	Peso de fruta (kg)	Peso de pulpa (kg)
1	0,0	10	3,50
1	0,0	10	4,00
2	0,5	10	5,50
2	0,5	10	5,00
3	1,0	10	6,50
3	1,0	10	6,25

Con los datos de la Tabla 3.3 se realizó un análisis de varianza de una vía en el programa STATGRAPHICS Plus 5.1 con el fin de definir las variables que tienen un efecto significativo, así como los niveles de cada variable a los cuales se obtiene el mayor rendimiento en la extracción de pulpa.

En la Tabla 3.3 se observa que en los experimentos en los cuales se aplicó un tratamiento enzimático con 0,5 y 1 mL de Klerzyme 150[®] por kg de pulpa se obtienen mayores rendimientos de pulpa que cuando se aplican 0 mL/kg de pulpa.

En las Tablas 3.4 y 3.5 se muestran los resultados del análisis de varianza para el peso obtenido de pulpa en cada ensayo de extracción. La tabla de análisis de varianza (ANOVA) descompone la varianza del peso de pulpa en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de los grupos.

Tabla 3.4 Análisis de varianza para el peso obtenido de pulpa

Fuente	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F-Ratio	P-Valor
Entre grupos	6,9375	3,46875	0,37	0,0077
Intra grupos	0,2812	0,09375		

Entre grupos: Varianza entre experimentos 1, 2, 3

Intra grupos: Varianza entre experimento 1 y réplica 1; experimento 2 y réplica 2; experimento 3 y réplica 3

Se puede observar en la Tabla 3.4 que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las medias del peso de pulpa obtenido de un experimento a otro para un

nivel de confianza del 95 %. Para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de otras en la Tabla 3.5 se muestra el contraste de rangos múltiples reportado por el programa estadístico.

Esto quiere decir que el diferente peso de pulpa obtenido es estadísticamente significativo si se aplica o no se aplica un tratamiento enzimático antes del despulpado.

Tabla 3.5 Contraste múltiple de rango para peso de pulpa según el experimento

EXPERIMENTO	Ensayos	Media	Grupos homogéneos		
1	2	3,750	X		
2	2	5,250		X	
3	2	6,375			X
Contraste		Diferencias	+/- Límites		
1 – 2		* -1,500	0,974422		
1 – 3		* -2,625	0,974422		
2 – 3		* -1,125	0,974422		

*Indica una diferencia significativa

En la Tabla 3.5 se identifica que no existe un grupo homogéneo según la alineación del signo “X” en la columna, se aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de otras.

De acuerdo a los resultados del análisis estadístico se observa que la aplicación de un tratamiento enzimático antes del despulpado si influye significativamente en el rendimiento de la extracción de pulpa de mortiño.

También se puede ver que existen diferencias significativas si se aplica una cantidad mayor de coctel enzimático. A mayor cantidad de coctel enzimático aplicado, mayor es el peso de pulpa obtenido. Por lo tanto, la cantidad de coctel enzimático Klerzyme 150[®] de 1 mL/kg de pulpa aplicado antes del despulpado fue el tratamiento elegido para obtener los mayores rendimientos en la extracción.

En otros estudios de obtención de jugos clarificados de varias frutas como mora, babaco y naranjilla efectuados por Yacelga (2007), Salgado (2001) y Mosquera (2008) respectivamente; también se puede ver que las mayores cantidades del coctel enzimático Klerzyme 150[®] aplicadas en el tratamiento enzimático a la fruta en el proceso del despulpado como un paso previo a la MFT son las que permiten obtener mayores rendimientos de pulpa.

El coctel enzimático Klerzyme 150[®] ayudó a extraer mayor cantidad de sólidos solubles incorporándoles a la fracción líquida que atraviesa la malla del despulpador de acuerdo con las recomendaciones del fabricante para ser usado en la maceración de frutos o bayas rojas, dado que contiene pectinasas específicas que son requeridas para un procesamiento activo y estable de la pulpa o jugo ácido de frutos rojos con un alto contenido de compuestos fenólicos (Centerchem, 2006).

La extracción del jugo de los frutos rojos es un proceso delicado para poder lograr la preservación del color y el aroma natural de la fruta. Es importante que el coctel enzimático permita obtener los niveles de despectinización y estabilidad de color requerido al mismo tiempo que se alcancen altos rendimientos de pulpa (Centerchem, 2006).

Adicionalmente en cada bloque de extracción se tomaron muestras en cada etapa: pulpa (EP), desintegrado (ED), desintegrado hidrolizado (EDE), pulpa hidrolizada antes del despulpado (EPEA) (obtenida a partir de un desintegrado hidrolizado) y pulpa hidrolizada después del despulpado (EPED). A estas muestras se les realizó un análisis del contenido de antocianinas y los valores obtenidos se presentan en la Tabla 3.6.

En la Tabla 3.6 se puede observar que el mayor contenido de antocianinas está presente en el mortuño desintegrado sin tratamiento enzimático (ED) para fruta fresca; y para pulpas en la pulpa hidrolizada de mortuño (EPEA) cuando el tratamiento enzimático se aplica antes del despulpado con cantidad de coctel enzimático de 1 mL/kg de pulpa. La disminución del contenido de antocianinas

entre ED y EPEA se debe al material insoluble (cáscara y semillas) que no atraviesan la malla del despulpador.

Tabla 3.6 Contenido de antocianinas en cada etapa de extracción de pulpa de mortiño

Cantidad de Klerzyme 150 (mL/kg de pulpa)	Antocianinas (mg/100g)				
	EP	ED	EDE	EPEA	EPED
1,0	59,77 ± 5,58	374,49 ± 14,73	335,30 ± 12,18	214,37 ± 4,93	57,27 ± 2,61
1,0	63,35 ± 4,37	394,58 ± 17,53	385,96 ± 16,35	281,82 ± 8,95	44,39 ± 2,87
0,5	46,31 ± 2,71	314,48 ± 15,87	235,20 ± 6,11	168,99 ± 3,05	45,30 ± 0,99
0,5	72,41 ± 6,18	343,37 ± 14,28	238,45 ± 4,79	180,54 ± 7,37	75,79 ± 0,82

EP = Pulpa; ED = Desintegrado; EDE = Desintegrado hidrolizado;

EPEA = Pulpa hidrolizada antes del despulpado;

EPED = Pulpa hidrolizada después del despulpado; Media ± DE (n = 3)

La mayor cantidad de antocianinas se encuentran en la cáscara de la fruta, por lo tanto, la hidrólisis enzimática aplicada directamente en el desintegrado de mortiño actúa sobre estas paredes celulares y permite una mayor extracción de antocianinas.

Cuando se usa tanto para maceración como para despectinización, el coctel enzimático Klerzyme 150[®] permite la liberación de la pectina de color rojo de forma estable en el producto final porque no tiene actividad antocianasa, es decir, no provoca daño en las antocianinas (Centerchem, 2006).

3.3 RESULTADOS DEL ESTUDIO DEL EFECTO DE LA PRESIÓN Y EL TRATAMIENTO ENZIMÁTICO EN EL PROCESO DE MICROFILTRACIÓN TANGENCIAL DE LA PULPA DE MORTIÑO

En este estudio se evaluó en primer lugar el efecto de la presión en el proceso de MFT con el objetivo de determinar la presión transmembranaria (PTM) que permita incrementar el rendimiento de la masa de permeado obtenido.

Las enzimas añadidas a la pulpa de mortiño durante el proceso de extracción no se inactivan en ningún momento, por lo tanto, continúan trabajando y van tener un efecto en el siguiente proceso al que sean sometidas.

Consecuentemente, se evaluó el efecto del tratamiento enzimático sobre el proceso de MFT de pulpas obtenidas en el proceso de extracción de pulpa con las variables: cantidad de coctel enzimático de 0,5 y 1,0 mL/kg de pulpa y sitio de aplicación antes o después del despulpado.

3.3.1 EFECTO DE LA PRESIÓN EN EL PROCESO DE MICROFILTRACIÓN TANGENCIAL

En las Figuras 3.1, 3.2, 3.3 y 3.4 se muestra la variación del flujo de permeado en función del FR para cada ensayo realizado con muestras de pulpa hidrolizada “antes de” y “después de” respectivamente.

En las Figuras 3.1 y 3.2 se puede observar que el flujo de permeado se mantiene estable durante el proceso de MFT realizado con pulpa hidrolizada “antes de” a PTM de 2 y 4 bar respectivamente hasta alcanzar el FR 2.

Al inicio del proceso se alcanza un flujo de permeado hasta que se forma la primera capa de torta de sólidos insolubles en la superficie de la membrana, luego

hay una abrupta disminución debido a la barrera que produce esta colmatación en la MFT.

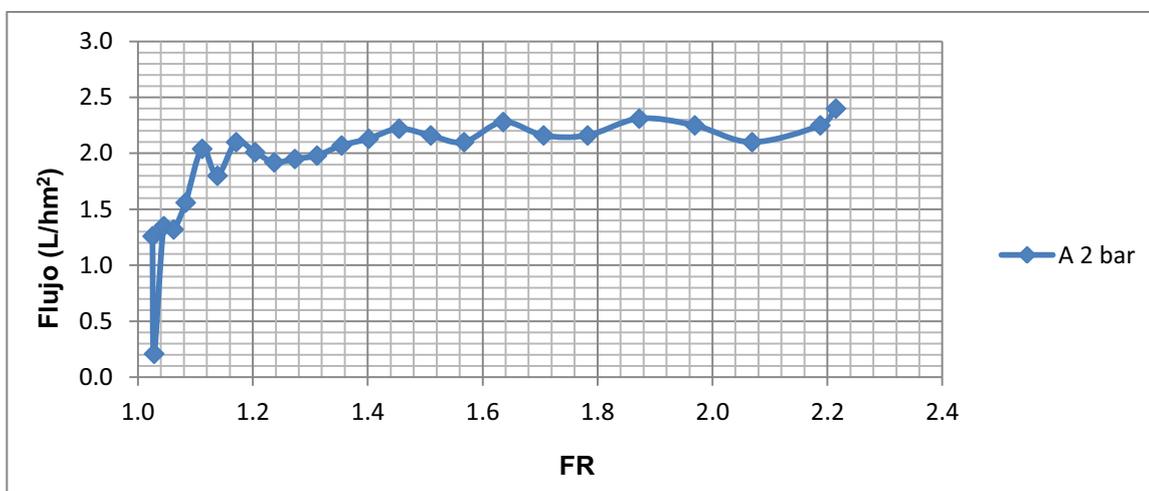


Figura 3.1 Variación del flujo de permeado en función del FR en la MFT de pulpas hidrolizadas “antes de” a 2 bar de PTM

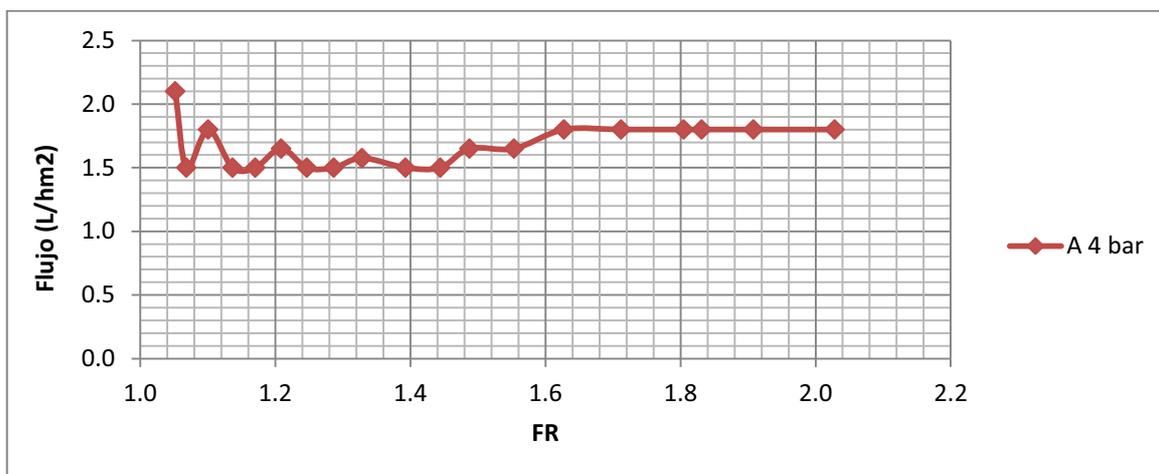


Figura 3.2 Variación del flujo de permeado en función del FR en la MFT de pulpas hidrolizadas “antes de” a 4 bar de PTM

La pulpa de fruta sigue circulando y actúa como un limpiador natural de la membrana impulsado por la PTM, entonces el flujo de permeado vuelve a subir y se estabiliza, para pulpas hidrolizadas “antes de” a 2 bar a partir de 2,0 L/hm² y a 4 bar a partir de 1,5 L/hm².

En las Figuras 3.1 y 3.2 también se puede ver que en los ensayos realizados a 2

bar de PTM se obtienen mayores flujos de permeado ($2,4 \text{ L/hm}^2$) que en los ensayos efectuados a 4 bar de PTM ($1,8 \text{ L/hm}^2$) al momento que el proceso alcanza un FR de 2.

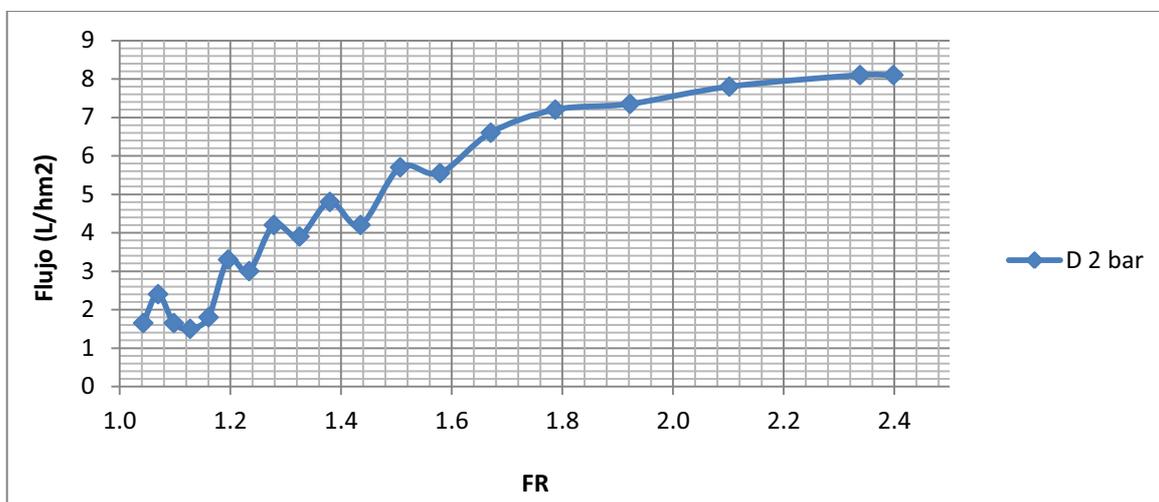


Figura 3.3 Variación del flujo de permeado en función del FR en la MFT de pulpas hidrolizadas “después de” a 2 bar de PTM

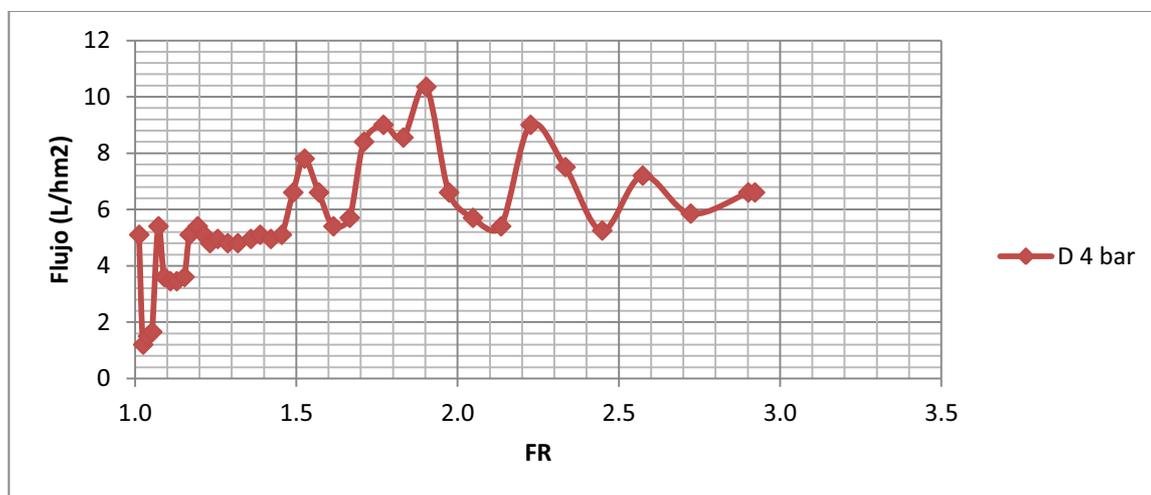


Figura 3.4 Variación del flujo de permeado en función del FR en la MFT de pulpas hidrolizadas “después de” a 4 bar de PTM

En la Figura 3.3 se puede observar que el flujo de permeado va incrementando hasta alcanzar el FR de 2 y luego se estabiliza durante el proceso de MFT realizado con pulpa hidrolizada “después de” a PTM de 2 bar a partir de 8 L/hm^2 . Al inicio del proceso se alcanza un flujo de permeado hasta que se forma la

primera capa de torta de sólidos insolubles en la superficie de la membrana, luego hay una disminución debido a la barrera que produce esta colmatación en la MFT.

La pulpa de fruta sigue circulando y actúa como un limpiador de la membrana impulsado por la PTM, entonces el flujo de permeado vuelve a subir y se estabiliza.

En la Figura 3.4 se puede observar que el flujo de permeado también va incrementando hasta alcanzar el FR de 2 pero tiene un comportamiento muy inestable durante el proceso de MFT realizado con pulpa hidrolizada “después de” a PTM de 4 bar. Esto se debió a la gran cantidad de semillas presentes en la pulpa y la falta de agitación constante en el tanque de alimentación.

En las Figuras 3.3 y 3.4 se puede ver que se obtienen flujos de permeado más altos ($7 - 9 \text{ L/hm}^2$) en ensayos realizados a 2 y 4 bar de PTM con pulpas hidrolizadas “después de” que con pulpas hidrolizadas “antes de” el despulpado al instante que se alcanza un FR de 2.

La disminución del flujo del permeado al inicio que se muestra en las Figuras 3.1, 3.2, 3.3 y 3.4 también se debe al residuo de agua del lavado alojado en el interior del equipo al inicio del proceso.

En cada ensayo el flujo de permeado se mostró inestable porque no se mantuvo una agitación constante en el tanque de alimentación durante el tiempo que duró cada ensayo debido a que el equipo no cuenta con un sistema de agitación automática integrado, la agitación solo se la realizaba manualmente en intervalos de 10 minutos. Además las enzimas continúan trabajando en la capa de sólidos que taponan la membrana y hace que esta se descomponga paulatinamente, entonces el flujo de permeado se incrementa rápidamente pero se vuelve a estabilizar cuando la capa de sólidos se vuelve a formar.

El flujo de permeado es diferente en cada ensayo porque no se usó siempre la misma Mo. La Mp no varía al momento de alcanzar cada FR porque es

independiente de la M_o que se usó. Es por esto que se utilizó la M_p como variable de respuesta en el análisis estadístico.

Los valores de M_p calculados en cada prueba para FR de 1,5 y 2 se presentan en la Tabla 3.7. Se realizó un análisis de varianza de una vía de M_p para FR de 1,5 y 2, se usó el programa STATGRAPHICS Plus 5.1. En las Tablas 3.8 y 3.9 se muestran los resultados del análisis estadístico.

Tabla 3.7 Masa de permeado en las pruebas de MFT para alcanzar el FR de 1,5 y 2

EXPERIMENTO	Mp para FRV 1,5 (g)	Mp para FRV 2 (g)
A 2 bar	476,3	714,4
	498,2	747,2
D 2 bar	477,1	715,3
	588,9	882,0
A 4 bar	455,4	683,0
	448,4	672,4
D 4 bar	752,7	1 128,9
	572,5	858,4

En la Tabla 3.7 se puede observar que los mayores M_p para FR 1,5 y 2 se obtuvieron en los ensayos de MFT realizados con muestras de pulpa hidrolizada después del despulpado a 2 y 4 bar de PTM.

Tabla 3.8 Análisis de varianza de M_p para FR de 1,5

Fuente	Sumas de cuadrados	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	50 929,1	16 979,4	2,98	0,1591
Intra grupos	22 749,9	5 687,49		

Entre grupos: Varianza entre experimentos A2bar, A4bar, D2bar y D4bar

Intra grupos: Varianza entre experimento A2bar y su réplica; A4bar y su réplica; D2bar y su réplica; D4bar y su réplica

La tabla ANOVA descompone la varianza de M_p para FR 1,5 en dos componentes: un componente que analiza la varianza entre experimentos (entre grupos) y un componente que analiza la varianza entre cada experimento y su respectiva réplica (intra grupos).

Se puede observar en las Tablas 3.8 y 3.9 que no existen diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las medias del Mp para FR de 1,5 y 2 de un experimento a otro para un nivel de confianza del 95 %.

Tabla 3.9 Análisis de varianza de Mp para FR de 2

Fuente	Sumas de cuadrados	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	114 496,0	38 165,3	2,99	0,1589
Intra grupos	51 073,7	12 768,4		

Entre grupos: Varianza entre experimentos A2bar, A4bar, D2bar y D4bar

Intra grupos: Varianza entre experimento A2bar y su réplica; A4bar y su réplica; D2bar y su réplica; D4bar y su réplica

En consecuencia de los resultados obtenidos estadísticamente se puede observar que no existe diferencias estadísticamente significativas entre las Mp obtenidas en cada experimento de MFT realizado tanto para PTM de 2 bar como para PTM de 4 bar.

Si bien no existen diferencias significativas también se puede observar que se obtiene una mayor Mp tanto para FR 1,5 y 2 a diferentes presiones según el sitio de aplicación del tratamiento enzimático realizado previamente, es decir cuando el experimento de MFT se realiza con muestras de pulpa hidrolizada antes del despulpado el rendimiento de Mp es mayor a PTM de 2 bar y cuando el experimento de MFT se realiza con muestras de pulpa hidrolizada después del despulpado el rendimiento es mayor a 4 bar de PTM.

Para escoger la PTM a utilizar en la MFT de pulpas hidrolizadas de mortiño se puede tomar como referencia el sitio de aplicación del tratamiento enzimático al cual previamente haya sido sometida la pulpa.

En los ensayos realizados con muestras de pulpa hidrolizada “después de” se consiguieron volúmenes de permeado y promedios de flujo de permeado mayores que los obtenidos en ensayos realizados con muestras de pulpa hidrolizada “antes de”, sin embargo, esta última es la que contiene una mayor cantidad de antocianinas y, por lo tanto, una mayor capacidad antioxidante.

3.3.2 EFECTO DEL TRATAMIENTO ENZIMÁTICO EN EL PROCESO DE MICROFILTRACIÓN TANGENCIAL DE LA PULPA DE MORTIÑO

El tratamiento enzimático se emplea como un paso previo al proceso de microfiltración tangencial con el objetivo de disminuir los sólidos insolubles suspendidos y de esta manera, reducir el colmataje de la membrana e incrementar el rendimiento del permeado (jugo clarificado). El coctel enzimático utilizado Klerzyme 150[®] ayuda a extraer sólidos solubles de la fruta sin causar daño sobre las antocianinas.

Obtener el mayor contenido de antocianinas en el jugo clarificado es el objetivo principal del estudio del efecto del tratamiento enzimático sobre la MFT.

En la Tabla 3.10 se muestran los valores del contenido de antocianinas en cada muestra de alimentación (Ro) y jugo clarificado (P) pertenecientes a cada ensayo de MFT realizado con pulpa hidrolizada “antes de” (A) y “después de” (D) el despulpado con las cantidades de Klerzyme 150[®] de 0,5 y 1 mL/kg de pulpa. Para pulpas A se trabajó a 4 bar de PTM y para pulpas D, a 2 bar de PTM.

Tabla 3.10 Contenido de antocianinas en muestras de Ro y P para cada prueba de MFT

Muestra	Cantidad de Klerzyme 150 (mL/kg de pulpa)	Sitio de aplicación	Antocianinas (mg/100g)	
			Ro	P
A 4 bar	0,5	ANTES DE	101,27	41,07
	0,5	ANTES DE	122,52	47,31
	1,0	ANTES DE	124,91	74,87
	1,0	ANTES DE	143,67	120,06
D 2 bar	0,5	DESPUÉS DE	26,30	13,28
	0,5	DESPUÉS DE	31,51	17,39
	1,0	DESPUÉS DE	27,58	21,31
	1,0	DESPUÉS DE	32,20	25,41

Ro = Muestra de retenido inicial (alimentación)

P = Muestra de permeado (jugo clarificado)

El contenido de antocianinas en el P se obtuvo en mg/100 mL y se convirtió a mg/100 g con la densidad de jugo clarificado: “antes de”: 1,0486 g/mL y “después de”: 1,0482 g/mL

En la Tabla 3.10 se puede observar que existe una disminución del contenido de antocianinas en el permeado en relación al contenido inicial de antocianinas en la alimentación. Esto se debe a la gran cantidad de antocianinas que se encuentran en los sólidos insolubles (semillas, cáscara) que no atraviesan la membrana. Con los resultados del contenido de antocianinas se realizó el análisis estadístico.

En las Tablas 3.11 y 3.12 se presentan los resultados del análisis de varianza para los valores del contenido de antocianinas en el Ro (alimentación) y en el P (jugo clarificado) según el sitio de aplicación y la cantidad de coctel enzimático.

Tabla 3.11 Análisis de varianza para el contenido de antocianinas en Ro

Fuente	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F-Ratio	P-Valor
A:Cantidad de Klerzyme	273,312	273,312	7,10	0,0760
B:Sitio de aplicación	17 557,500	17 557,500	456,07	0,0002
AB	229,194	229,194	5,95	0,0925

Tabla 3.12 Análisis de varianza para el contenido de antocianinas en el P

Fuente	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F-Ratio	P-Valor
A:Cantidad de Klerzyme	1 708,79	1 708,79	9,20	0,0562
B:Sitio de aplicación	4 818,67	4 818,67	25,95	0,0146
AB	930,96	930,96	5,01	0,1111

La tabla de análisis de varianza divide la variabilidad en el contenido de antocianinas en Ro en distintos segmentos separados para cada uno de los efectos, después prueba la significación estadística de cada efecto.

En las Tablas 3.11 y 3.12 se observa que el efecto de la cantidad de coctel enzimático Klerzyme 150[®] y de la combinación de ambas variables no muestran diferencias significativas ($p > 0,05$) en las medias del contenido de antocianinas en Ro y P, en cambio sí hay diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre las medias del contenido de antocianinas en Ro y P si se usa el sitio de aplicación del tratamiento enzimático “antes de” o “después de” el despulpado al 95 % de intervalo de confianza.

En las Figuras 3.5 y 3.6 se muestra el efecto de las variables sobre la superficie de respuesta estimada para el contenido de antocianinas en Ro y P en función de los niveles de las variables de cantidad de coctel enzimático y sitio de aplicación.

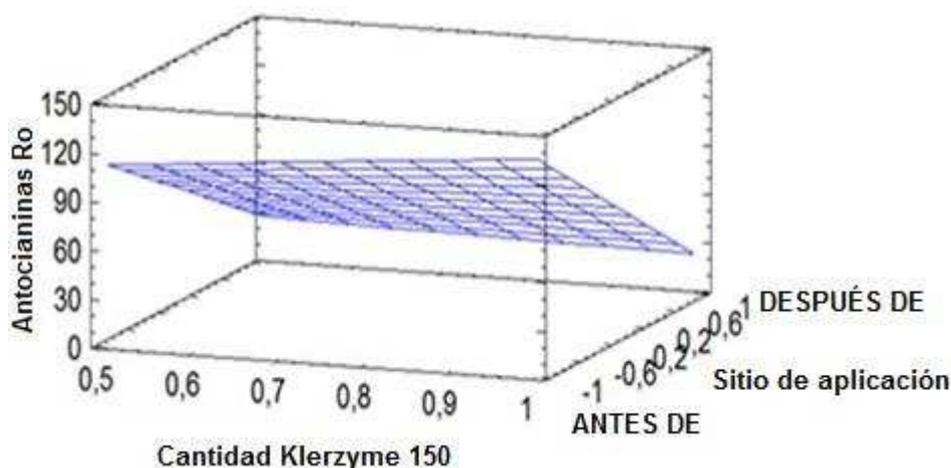


Figura 3.5 Superficie de respuesta estimada para el contenido de antocianinas en el Ro según la cantidad de coctel enzimático y el sitio de aplicación

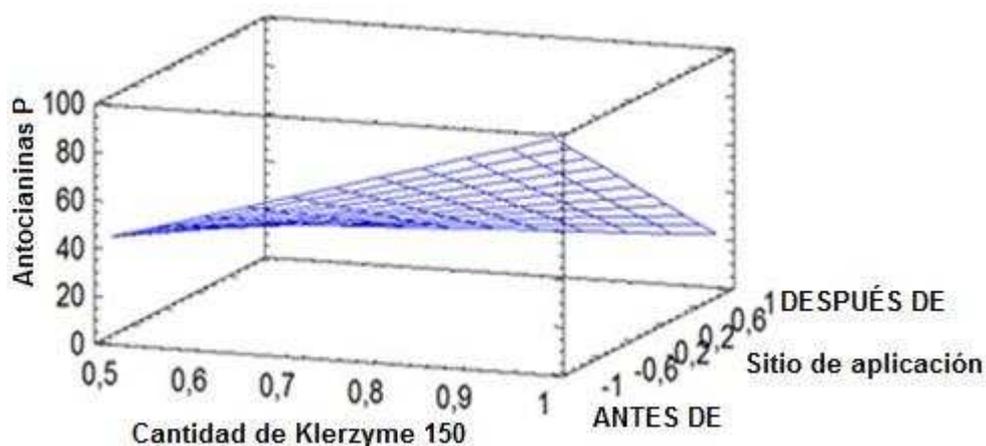


Figura 3.6 Superficie de respuesta estimada para contenido de antocianinas en el P según la cantidad de coctel enzimático y el sitio de aplicación

Se puede ver en las Figuras 3.5 y 3.6 que el contenido de antocianinas en el Ro y en el P aumenta a medida que se incrementa la cantidad de coctel enzimático y se usa el sitio de aplicación antes del despulpado.

En las Figuras 3.7 y 3.8 se muestra el gráfico de los efectos principales sobre el

contenido de antocianinas en el Ro y el P según los niveles de las variables de cantidad de coctel enzimático y sitio de aplicación.

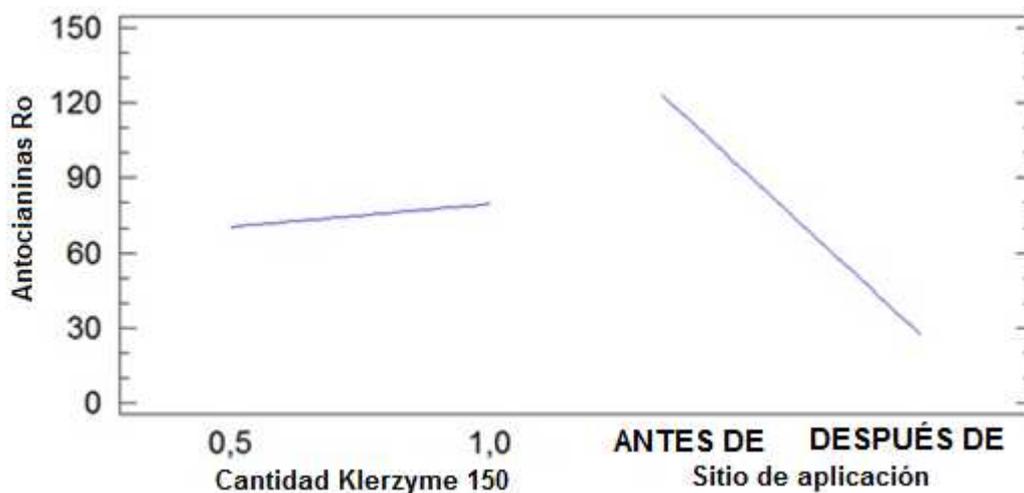


Figura 3.7 Gráfico de efectos principales para contenido de antocianinas en el Ro

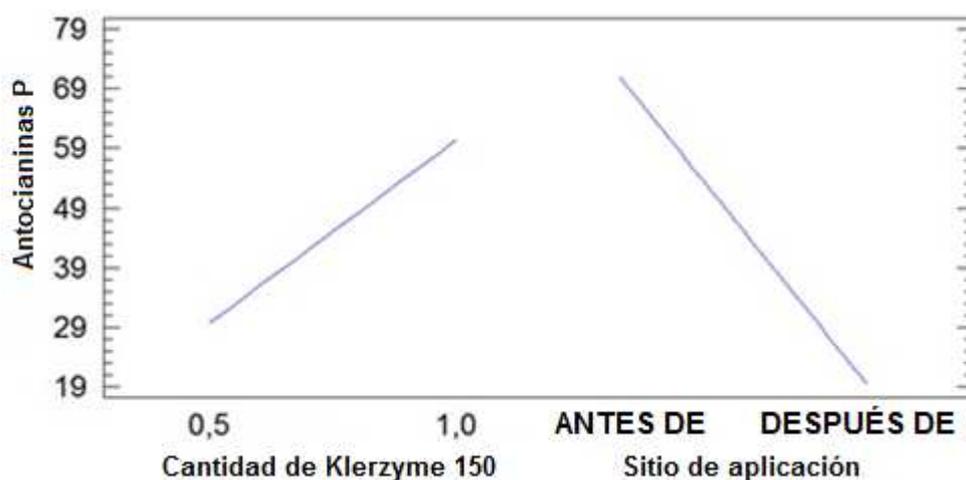


Figura 3.8 Gráfico de efectos principales para contenido de antocianinas en el P

En la Figura 3.7 se observa que el sitio de aplicación influye significativamente en el contenido de antocianinas en Ro. La variación del contenido de antocianinas (eje Y) es alta cuando el sitio de aplicación cambia de "antes de" a "después de" el despulpado (eje X), si se aplica antes del despulpado el contenido de antocianinas en el P es más alto. Mientras mayor sea la pendiente de la línea recta que representa esta variación el efecto de este factor es más significativo.

En la Figura 3.8 se observa que ambas variables influyen significativamente en el contenido de antocianinas en el P.

La variación del contenido de antocianinas (eje Y) es alta cuando la cantidad de coctel enzimático cambia de 0,5 a 1 mL (eje X), a mayor cantidad de coctel enzimático hay mayor contenido de antocianinas en el P.

La variación del contenido de antocianinas (eje Y) también es alta cuando el sitio de aplicación cambia de “antes de” a “después de” el despulpado (eje X), si se aplica antes del despulpado el contenido de antocianinas en el P es más alto, mientras mayor sea la pendiente de la línea recta que representa estas variaciones el efecto de estos factores es más significativo.

Con base en estos resultados se puede ver que la cantidad de coctel enzimático Klerzyme 150[®] aplicada en el proceso de despulpado no influye en el contenido de antocianinas en la alimentación, este contenido depende y tiene una variación significativa según el sitio de aplicación. Si se aplica el tratamiento enzimático antes del despulpado en el mortuño desintegrado, las enzimas pueden trabajar extrayendo los compuestos fenólicos solubles presentes en la cáscara y semillas que se retienen en el despulpado.

En cambio se observa que la cantidad de coctel enzimático Klerzyme 150[®] y el sitio de aplicación del tratamiento enzimático en el proceso de despulpado si influyen en el contenido de antocianinas en el jugo clarificado, este contenido depende y tiene una variación significativa según la cantidad de coctel enzimático y el sitio de aplicación. A mayor cantidad de coctel enzimático aplicado antes del despulpado existe una mayor extracción compuestos fenólicos que se mantienen en el jugo clarificado.

3.4 CARACTERIZACIÓN DE JUGOS CLARIFICADOS DE MORTIÑO

Para la caracterización se usaron muestras de jugo clarificado de mortiño obtenido mediante la aplicación de los niveles de las variables de proceso que mostraron ser las que proporcionan los mejores resultados después del análisis estadístico realizado en los estudios del efecto del tratamiento enzimático y la presión transmembranaria en la MFT. Estas condiciones fueron: tratamiento enzimático aplicado antes del despulpado con cantidad de coctel enzimático Klerzyme 150[®] de 1 mL/kg de pulpa y presión transmembranaria de 4 bar. Las muestras fueron tomadas al final de cada ensayo.

3.4.1 ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS

En la Tabla 3.13 se presentan los resultados obtenidos en los análisis físico-químicos de las muestras de jugo clarificado de mortiño.

Se puede observar que existe una variación del contenido de varios componentes químicos entre la materia prima y el jugo clarificado.

Los azúcares como fructosa y glucosa aumentan en el jugo clarificado, estos azucares no son retenidos por la membrana porque son compuestos solubles.

Los ácidos orgánicos, como el ácido cítrico presenta una disminución en el jugo clarificado de mortiño, el mismo efecto se observa en el jugo clarificado de mora obtenido por Yacelga (2007). Este fenómeno podría deberse a la presencia del ácido cítrico en los sólidos insolubles que se desechan en el despulpado de mora y mortiño.

El ácido málico aumenta en el jugo clarificado de mortiño con relación al valor presente en la fruta fresca, el mismo efecto se presenta en el jugo clarificado de mora obtenido por Yacelga (2007). Este incremento es resultado de la hidrólisis

enzimática realizada como un tratamiento previo a la pulpa de mortiño usada en las pruebas de MFT.

Tabla 3.13 Caracterización de jugos clarificados de mortiño

ANÁLISIS	RESULTADO	
	Fruta fresca	Jugo clarificado
CONTENIDO DE AZÚCARES *	(g/100 g PF)	(g/100 mL)
Fructosa	4,55 ± 0,06	4,63 ± 0,03
Glucosa	2,96 ± 0,04	3,22 ± 0,06
Sacarosa	ND	ND
CONTENIDO DE ÁCIDOS ORGÁNICOS *	(mg/100 g PF)	(mg/100 mL)
Ácido cítrico	1 185,99 ± 74,53	792,2 ± 6,24
Ácido málico	451,52 ± 14,96	700,6 ± 22,37
Ácido tartárico	ND	ND
SÓLIDOS SOLUBLES (°Brix)	11 ± 0,91	8,5 ± 0,50
VITAMINA C *	(mg/100 g PF)	(mg/100 mL)
	1,27 ± 0,02	0,0064 ± 0,02
CONTENIDO DE CAROTENOIDES	ND	ND
COMPUESTOS FENÓLICOS SOLUBLES TOTALES	(mg AG/100 g PF)	(mg AG/100 mL)
	729,48 ± 112,85	276,75 ± 2,58
ANTOCIANINAS ¹	(mg/100 g PF)	(mg/100 mL)
	356,73 ± 35,17	97,47 ± 31,95
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	(mg Trolox/100 g PF)	(mg Trolox/100 mL)
	1 192,86 ± 19,62	235,97 ± 9,74
DENSIDAD RELATIVA (d ₂₀)	-	1,0484

* Para la conversión se usó el contenido de humedad en mortiño fresco (80,09 g/100gPF) y liofilizado (1,72g/100gPF)

Media ± DE (n = 3)

¹ Media ± DE (n = 6)

ND = bajo el límite de detección; AG = ácido gálico; PF = peso de fruta fresca

Existe una disminución en el contenido de compuestos fenólicos y antocianinas, esto puede deberse a que una gran cantidad de compuestos fenólicos se encuentran presentes en los sólidos insolubles que no atraviesan la membrana y se quedan en el retenido. Estos sólidos insolubles (cáscara, semillas) se retienen

por su tamaño de partícula que es mayor al permitido por la membrana (0,2 μm de diámetro de poro).

La capacidad antioxidante en relación a la que presenta el mortiño fresco (1192,86 mg Trolox/100 g) disminuye notablemente en el jugo clarificado (235,97 mg Trolox/100 g), este resultado se debe principalmente a la reducción del contenido de compuestos fenólicos solubles totales y el contenido de antocianinas; pero también es una consecuencia del contenido mínimo o no detectable de otros compuestos que otorgan capacidad antioxidante como la vitamina C y los carotenoides.

3.4.2 CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA

En la Figura 3.9 se indica la representación gráfica de la variación de viscosidad del jugo clarificado de mortiño en función de la fuerza de cizalladura.

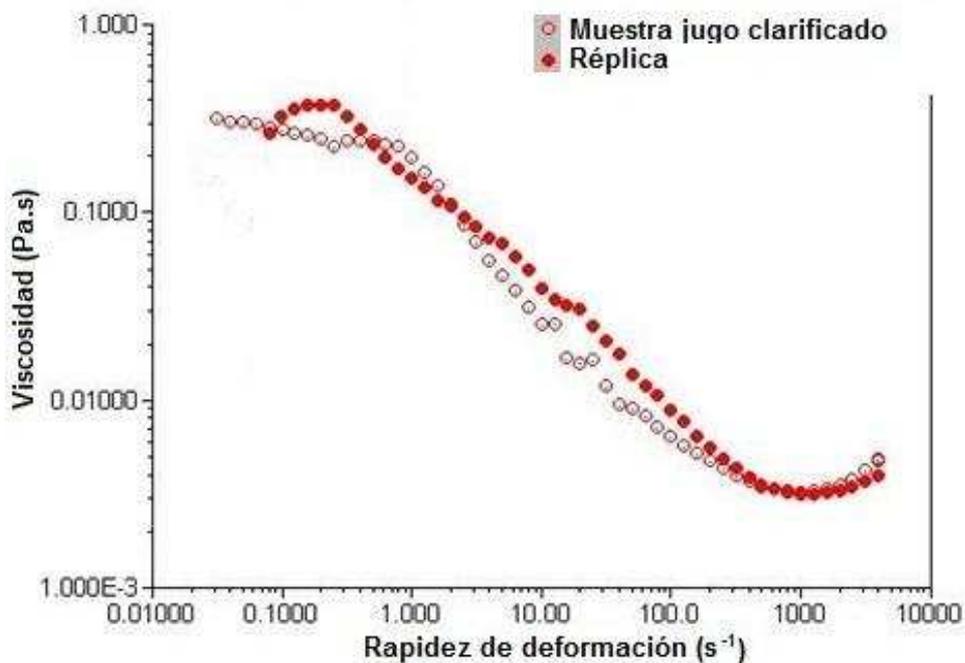


Figura 3.9 Perfil de viscosidad para el jugo clarificado de mortiño

En la Figura 3.9 se observa que el jugo clarificado se comporta como un fluido no newtoniano. En la gráfica se puede ver la meseta de su comportamiento newtoniano a partir de la cual empieza una tendencia de no newtoniano cuando la rapidez de deformación es 0,3 rps. La curva del comportamiento no newtoniano se vuelve asintótica aproximadamente a 1000 rps y se determina que su viscosidad en ese punto es de 3 mPa.s a 25 °C de temperatura.

El punto de la rapidez de deformación hasta el cual el jugo clarificado se comporta como un fluido newtoniano indica el límite de las condiciones técnicas que se deben considerar en los equipos a utilizarse en el procesamiento del producto a escala industrial. Depende de las propiedades y características que se quieran mantener en el producto final para decidir si es importante o no conservar la viscosidad del jugo clarificado de mortiño.

3.5.3 ANÁLISIS SENSORIAL

Los atributos a evaluar en el jugo clarificado fueron de sabor, aroma y acidez. Los 20 panelistas que participaron recibieron 20 mL de muestra preparada en proporciones de 83,3 % de jugo clarificado, 11,8 % de agua y 4,9 % de azúcar.

En la Tabla 3.14 se muestra el promedio de las valoraciones reportadas para cada atributo en una escala de débil (1) a intenso (10).

Tabla 3.14 Promedios para cada atributo sensorial del jugo clarificado de mortiño

ATRIBUTO	Sabor	Aroma	Acidez
VALOR	7,0 ± 1,53	5,9 ± 2,12	5,3 ± 2,57

Media ± DE (n = 20)

Al analizar los resultados de la Tabla 3.14 se puede observar lo siguiente para cada atributo:

Sabor: El jugo clarificado presenta un consistente sabor a la fruta fresca.

Aroma: En el jugo clarificado se pierde el aroma durante el proceso.

Acidez: Para los panelistas el jugo clarificado presenta una acidez moderada.

De acuerdo a las observaciones reportadas por los panelistas en la parte final del formato de evaluación sensorial que recibieron, el jugo clarificado de mortiño fue aceptado sensorialmente ya que presenta un sabor agradable.

El aroma se pierde en el proceso pero además también influye el hecho de que algunos panelistas no estaban familiarizados con el aroma de la fruta fresca. La acidez del producto es tolerable para los panelistas de acuerdo a su percepción organoléptica.

3.5 OBTENCIÓN DE JUGO CLARIFICADO CONCENTRADO DE MORTIÑO

El jugo clarificado de mortiño se concentró usando ósmosis inversa. Dentro de la industria de producción de jugos de frutas se podría tomar como una nueva alternativa agroindustrial el jugo clarificado concentrado.

El objetivo de esta investigación se enfocó en obtener el jugo clarificado concentrado de mortiño y analizar su composición química.

3.5.1 PROCESO DE OBTENCIÓN

Previamente al proceso de concentración se obtuvieron 33 L de jugo clarificado de mortiño mediante la MFT de pulpa hidrolizada de mortiño antes del despulpado con la cantidad de coctel enzimático Klerzyme 150[®] de 1 mL/kg de pulpa (condición que mostró los mejores resultados en estudios anteriores) en el equipo de MFT TIA a escala piloto. Con este jugo clarificado se realizaron varias pruebas de concentración mediante ósmosis inversa (OI).

En la Tabla 3.15 se muestran los caudales calculados para cada velocidad de circulación y la frecuencia respectiva a la cual se calibró el motor de la bomba para obtener la velocidad respectiva.

Tabla 3.15 Caudales y frecuencias requeridos para ajustar la velocidad de circulación de la bomba del equipo de OI MICRO 240

VELOCIDAD (m/s)	1	1,5	2	2,5
CAUDAL (L/min)	7,96	11,94	15,92	19,90
FRECUENCIA (Hz)	18	28	37,8	47

Diámetro interno de la membrana = 1,2 cm
 Área de flujo = 1,1304 cm²

En la Tabla 3.16 se muestra el flujo de permeado obtenido para cada velocidad experimental de circulación en el ensayo de OI a partir de una muestra de 1,5 L de jugo clarificado de mortiño.

Tabla 3.16 Flujo de permeado inicial y final en la prueba de OI a distintas velocidades de circulación

VELOCIDAD (m/s)	FRECUENCIA (Hz)	Inicial 8 °Brix PTM 870 psi		Final 11 °Brix PTM 500 psi	
		Volumen de permeado (mL)	Tiempo (s)	Volumen de permeado (mL)	Tiempo (s)
2,5	47,0	19,00	57,70	12,25	80
2,0	37,8	19,00	56,15	12,00	80
1,5	28,0	20,00	61,84	11,50	80
1,0	18,0	20,00	66,90	11,50	80

PTM = Presión transmembranaria
 Temperatura constante = 30 °C

Con base en los resultados de la Tabla 3.16 se determinó que la velocidad de 2 m/s fue la que permitió obtener el mayor flujo de permeado y se la definió como el parámetro a utilizar en las siguientes pruebas. Para obtener esta velocidad se debió fijar 37,8 Hz en el tablero de control automático de la bomba.

El permeado (P) mostró un valor de 3 °Brix y el jugo clarificado de alimentación (A) el valor de 8 °Brix, entonces con un valor estimado de 25 °Brix para el retenido (R) se realizó un balance de masa y se determinó que se debe usar una muestra de 3,6 L de jugo clarificado para lograr la concentración deseada.

La información recopilada durante el tiempo que demoró el proceso de OI (3 horas aproximadamente) se muestra en el Anexo XI. El volumen de flujo de permeado fue disminuyendo durante este tiempo.

La prueba experimental se realizó con 3 942,5 g de jugo clarificado de mortiño y una vez finalizado el proceso se obtuvieron 3 021,8 g de permeado y 791,9 g de jugo clarificado concentrado de mortiño (retenido). Los 128,8 g faltantes en el análisis de balance de masa, se quedaron adheridos a las paredes y tuberías dentro del equipo, por lo tanto, para cada ensayo que se realice siempre se debe usar un volumen inicial de jugo clarificado en el cual se considere el volumen muerto calculado en este ensayo.

En la Figura 3.10 se muestra la variación del flujo de permeado y la concentración evaluada mediante el contenido de sólidos solubles totales (°Brix) durante el tiempo del proceso de obtención de jugo clarificado concentrado.

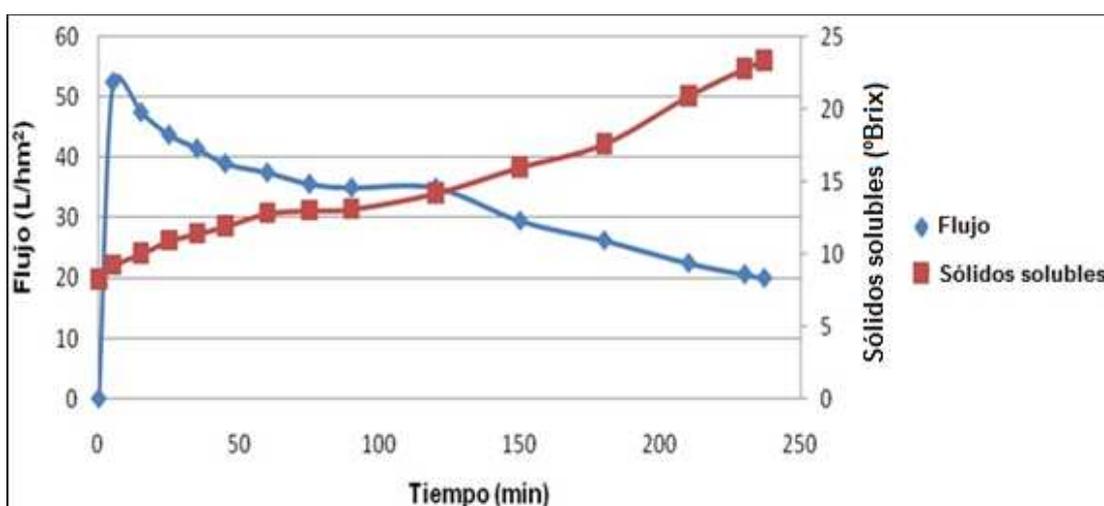


Figura 3.10 Flujo de permeado y concentración del jugo clarificado concentrado de mortiño

La concentración del jugo clarificado se llevó a cabo en un sistema tipo batch. Durante la concentración se fue reduciendo el volumen de jugo clarificado contenido en el tanque de alimentación, por lo tanto fue incrementando la presión osmótica del jugo, esto causó la disminución del flujo de permeado durante el tiempo del experimento.

El contenido de sólidos solubles fue aumentando durante el tiempo del experimento hasta llegar a la concentración de final de 23,4 °Brix como se observa en la Figura 3.16.

3.5.2 FACTORES DE CONCENTRACIÓN

La medida de los grados brix fue el parámetro utilizado para evaluar la concentración del jugo clarificado concentrado. Con los valores de grados brix de las muestras tomadas al inicio (jugo clarificado) y al final del proceso (jugo clarificado concentrado) se calculó el factor de concentración dividiendo el valor final para el valor inicial, y se siguió el mismo procedimiento para el contenido de antocianinas, polifenoles, fructosa y glucosa.

La masa de alimentación es igual a la masa de permeado más la masa del retenido. Al final del proceso la masa del retenido (jugo clarificado concentrado) fue menor (791,9 g) que la masa de alimentación (3 942,5 g) pero contuvo una mayor cantidad de sólidos solubles.

Los valores iniciales, finales y el factor calculado para cada parámetro se muestran en la Tabla 3.17.

Al final del proceso se llegó a obtener un jugo clarificado concentrado a 23,4 °Brix. El factor de concentración del contenido de componentes con capacidad antioxidante como antocianinas y polifenoles se encuentra dentro del rango del factor de concentración de los grados brix (2,85) como se puede observar en la Tabla 3.17.

Tabla 3.17 Factores de concentración para el jugo clarificado concentrado de mortiño

Parámetro	Inicial	Final	Factor de concentración
Sólidos solubles totales (°Brix)	8,2	23,4	2,85
Antocianinas (mg/100 mL)	36,09	90,59	2,51
Polifenoles (mg/100 mL)	179,67	508,50	2,83
Fructosa (mg/100 mL)	4,63	9,42	2,03
Glucosa(mg/100 mL)	3,22	6,23	1,93

En los jugos clarificados concentrados de frutas obtenidos por Marcillo (2010) se obtuvieron factores de concentración similares en función de los grados brix para mora (2,96), naranjilla (2,87) y tomate de árbol morado (2,73). Esto quiere decir que la concentración de jugos de frutas mediante el uso de tecnología de membranas permite incrementar los compuestos de interés en aproximadamente 3 veces el valor inicial presente en el jugo clarificado.

Cabe recalcar que como resultado de la concentración de los compuestos fenólicos en el jugo clarificado concentrado se incrementó además su capacidad antioxidante.

3.6 CARACTERIZACIÓN DE JUGOS CLARIFICADOS CONCENTRADOS DE MORTIÑO

3.6.1 ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS

En la Tabla 3.18 se presentan los resultados obtenidos en los análisis físico-químicos de las muestras de jugo clarificado concentrado de mortiño.

Se puede observar en la Tabla 3.18 que en el jugo clarificado concentrado de mortiño existe un incremento del contenido de la mayoría de los componentes en relación al contenido de los mismos en la fruta fresca. Sólo los compuestos fenólicos solubles totales y las antocianinas presentan una disminución debido a

la gran cantidad de estos compuestos que están presentes en la cáscara y semillas que no atraviesan la membrana en el proceso previo de MFT.

Tabla 3.18 Caracterización del jugo clarificado concentrado de mortiño

ANÁLISIS	RESULTADO	
	Fruta fresca	Jugo concentrado
ANÁLISIS DE MINERALES ¹	(mg/100 g PF)	(mg/100 mL)
Ca	15,54 ± 1,14	68,21 ± 67,05
Cu	0,11 ± 0,00	2,78 ± 0,35
Fe	0,77 ± 0,00	1,38 ± 0,18
Mg	21,22 ± 1,90	29,08 ± 1,48
K	142,04 ± 1,88	179,24 ± 10,61
Na	-	3,67 ± 0,07
Zn	0,21 ± 0,00	2,08 ± 0,60
CONTENIDO DE AZÚCARES ¹	(g/100 g PF)	(g/100 mL)
Fructosa	4,55 ± 0,06	9,42 ± 0,04
Glucosa	2,96 ± 0,04	6,23 ± 0,05
Sacarosa	ND	ND
CONTENIDO DE ÁCIDOS ORGÁNICOS ¹	(mg/100 g PF)	(mg/100 mL)
Ácido cítrico	1 185,99 ± 74,53	4 016,9 ± 18,04
Ácido málico	451,52 ± 14,96	1 820,7 ± 42,52
Ácido tartárico	ND	ND
SÓLIDOS SOLUBLES (°Brix) ²	11 ± 0,91	23,4 ± 0,00
VITAMINA C ¹	(mg/100 g PF)	(mg/100 mL)
	1,27 ± 0,02	1,70 ± 0,00
CONTENIDO DE CAROTENOIDES ¹	ND	ND
COMPUESTOS FENÓLICOS SOLUBLES TOTALES ²	(mg AG/100 g PF)	(mg AG/100 mL)
	729,48 ± 112,85	508,5 ± 17,50
ANTOCIANINAS ²	(mg/100 g PF)	(mg/100 mL)
	356,73 ± 35,17	90,59 ± 3,01
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE ²	(mg Trolox/100 g PF)	(mg Trolox/100 mL)
	1 192,86 ± 19,62	738,62 ± 39,52
DENSIDAD RELATIVA (d ₂₀)	-	1,0924

¹Media ± DE (n = 3); ²Media ± DE (n = 3); ND = bajo el límite de detección

Los azúcares fructosa y glucosa, presentes en el jugo clarificado concentrado muestran un incremento mayor al doble del contenido presente en la fruta fresca. La OI concentra todos los sólidos solubles, los azúcares pertenecen a esta clasificación.

Algunos minerales como el Ca, Cu, Fe, K y Zn se incrementan en mayor proporción que otros en relación a los que presenta la fruta fresca. En otros estudios de obtención de jugos clarificados concentrados de mora, naranjilla y tomate de árbol realizados por Marcillo (2010) se puede observar que algunos minerales como el Mg, Ca, Na y Fe también fueron fuertemente retenidos por la membrana durante el proceso de OI. Esto muestra que el uso de tecnología de membranas es una herramienta efectiva para obtener jugos concentrados de frutas con un buen contenido de minerales.

El contenido de compuestos fenólicos solubles totales alcanza un valor más cercano al que presenta la fruta fresca. Las antocianinas muestran una pérdida notable desde la MFT previa a la OI con relación al contenido en la materia prima, sin embargo, gracias a la concentración de otros compuestos fenólicos la capacidad antioxidante del jugo clarificado concentrado (738,62 mg Trolox/100 g) se conserva aproximadamente en un 62 % con relación a la que se determinó en el mortiño fresco (1 192,86 mg Trolox/100 g).

El incremento de minerales esenciales, así como el mantenimiento de un alto porcentaje de capacidad antioxidante con relación a la fruta muestran que el jugo clarificado concentrado es un producto con un buen valor nutricional y características funcionales beneficiosas para la salud del ser humano.

3.6.2 CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA

En la Figura 3.11 se muestra la variación de la viscosidad del jugo clarificado concentrado de mortiño en función de la fuerza de cizalladura en cada ensayo.

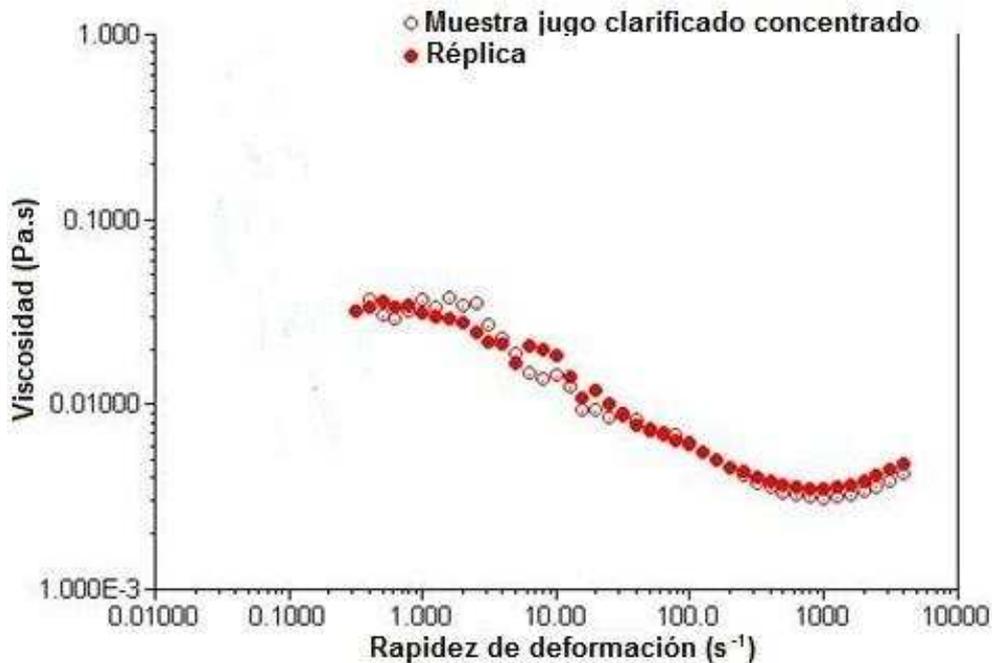


Figura 3.11 Perfil de viscosidad para el jugo clarificado concentrado de mortiño

En la Figura 3.11 se observa que el jugo clarificado concentrado sigue la tendencia de un fluido no newtoniano. Se puede ver la meseta hasta la cual tiene un comportamiento newtoniano a rapidez de deformación de 0,3 rps antes de cambiar a no newtoniano. La curva de tendencia de no newtoniano se vuelve asintótica aproximadamente a 1000 rps y se determina que en este punto su viscosidad es de 3,2 mPa.s a 25 °C de temperatura.

La viscosidad del jugo clarificado concentrado aumenta levemente con relación a la viscosidad del jugo clarificado (3 mPa.s) debido a la mayor presencia de sólidos solubles.

El valor de la rapidez de deformación hasta el cual el jugo concentrado se comporta como un fluido newtoniano permite establecer las condiciones mínimas de trabajo y los equipos a utilizar (transporte) en un procesamiento del jugo clarificado concentrado de mortiño a escala industrial, según las características que se deseen en el producto final.

3.6.3 ANÁLISIS SENSORIAL

En el jugo clarificado concentrado se evaluaron los mismos atributos del jugo clarificado, estos fueron sabor, aroma y acidez. El promedio de la evaluación de los 24 panelistas para cada atributo se presenta en la Tabla 3.19. La composición de la muestra utilizada para el análisis fue de 35,7 % de jugo clarificado concentrado, 58,6 % de agua y 5,7 % de azúcar.

Tabla 3.19 Promedios para cada atributo sensorial del jugo clarificado concentrado

ATRIBUTO	Sabor	Aroma	Acidez
VALOR	7,5 ± 1,88	5,0 ± 2,51	6,6 ± 2,21

Media ± DE (n = 24)

Luego de analizar los resultados de la Tabla 3.19 se puede observar lo siguiente para cada atributo:

Sabor: Los panelistas reportan que el jugo clarificado concentrado presenta un sabor intenso a fruta fresca.

Aroma: En el jugo clarificado concentrado existe una pérdida del aroma como consecuencia del proceso.

Acidez: Para los panelistas el jugo concentrado presenta una acidez mayor que el jugo clarificado.

Con base en los resultados y en los comentarios realizados como observaciones reportados por los panelistas al final del formato de evaluación del análisis sensorial, el jugo clarificado concentrado de mortiño fue aceptado por los panelistas.

El jugo muestra un sabor agradable a fruta fresca y se presenta como una buena alternativa para ser comercializada el mercado de jugos de frutas. El aroma se pierde en el proceso, pero además los panelistas no estaban familiarizados con el aroma de la fruta fresca. El jugo alcanza una acidez mayor que en el jugo clarificado en la cual fue tolerable para los panelistas.

4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

1. La aplicación del tratamiento enzimático tuvo un efecto estadísticamente significativo sobre el rendimiento en el despulpado de mortiño. Si se aplica el coctel enzimático en el proceso de despulpado se obtiene un mayor peso de pulpa.
2. La aplicación del tratamiento enzimático y la cantidad de coctel enzimático tienen un efecto estadísticamente significativo en el contenido de antocianinas de la pulpa hidrolizada de mortiño. A mayor cantidad de coctel enzimático aplicado antes del despulpado se obtiene un mayor contenido de antocianinas en la pulpa.
3. La presión transmembranaria (PTM) no presenta un efecto significativo sobre el proceso de microfiltración tangencial. No existen diferencias estadísticamente significativas en el flujo de permeado obtenido a 2 bar o 4 bar de PTM.
4. En el proceso de microfiltración tangencial el sitio de aplicación del tratamiento enzimático tiene un efecto estadísticamente significativo sobre el contenido de antocianinas en el jugo clarificado de mortiño. A mayor cantidad de coctel enzimático aplicado antes del despulpado aumenta el contenido de antocianinas en el jugo clarificado.
5. El jugo clarificado de mortiño obtenido mediante microfiltración tangencial presenta una disminución de azúcares, ácido cítrico, vitamina C, carotenoides, compuestos fenólicos solubles y capacidad antioxidante en relación al contenido de estos compuestos en la fruta fresca. Estos componentes químicos se retienen en la membrana y en los sólidos insolubles.

6. El jugo clarificado de mortiño muestra una buena calidad sensorial, mantiene un nivel alto de sabor a fruta fresca y un aroma y acidez moderada.
7. El jugo clarificado concentrado de mortiño obtenido mediante ósmosis inversa logra aumentar el contenido de antocianinas y compuestos fenólicos en el mismo factor de concentración de los sólidos solubles, por lo tanto, se incrementa la capacidad antioxidante a un 62 % del valor que presenta la fruta fresca.
8. El jugo clarificado concentrado de mortiño muestra una excelente calidad sensorial, mantiene un nivel alto de sabor a fruta fresca, un aroma aceptable y una acidez moderada.

4.2 RECOMENDACIONES

1. Desarrollar un análisis técnico-financiero para determinar la viabilidad económica del uso de altas cantidades de coctel enzimático en el proceso de despulpado de mortiño ya que, a mayor cantidad de coctel enzimático aumenta el rendimiento de pulpa.
2. Realizar un estudio de la caracterización química de los sólidos insolubles del mortiño para determinar la cantidad de compuestos químicos de interés (vitaminas, azúcares, ácidos orgánicos, compuestos fenólicos) presentes.
3. Evaluar el contenido de antocianinas y compuestos fenólicos en el jugo clarificado de mortiño en intervalos de tiempo durante el proceso de microfiltración tangencial.
4. Efectuar un estudio del efecto de la temperatura y la presión transmembranaria en la obtención de jugo clarificado concentrado de mortiño mediante ósmosis inversa.
5. Desarrollar un sistema para mantener una agitación constante en el tanque de alimentación del equipo de MFT durante el proceso de microfiltración tangencial.

BIBLIOGRAFÍA

1. AOAC, 2007, "Official Methods of Analysis of AOAC International", 18 edition, Maryland, USA.
2. Aehle, W., 2004, "Enzymes in Industry", second edition, Wiley – VCH Verlag GmbH & Co., KGaA, en Cano, M. y Barta, J., 2008, "Handbook of Fruits and Fruit Processing", Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey, USA, pp. 209, 380, 383, 384.
3. Aguilera, M., Reza, M., Chew, R. y Meza, J., 2011, "Propiedades funcionales de las antocianinas", Revista Biotecnia - Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad de Sonora, XIII (2), 16.
4. Asp, N., Johansson, C., Hallmer, H. y Siljestroem, M., 1983, "Rapid Enzymatic Assay of Insoluble and Soluble Dietary Fiber", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 31 (3), 476.
5. Auxiaqua, 2011, "Sistemas de filtración", <http://www.auxiaqua.es/sistemas-filtracion/>, (Julio, 2012).
6. Avello, M. y Suwalsky, M., 2006, "Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección", Atenea, (494), Concepción, Chile, p. 162.
7. Baker, R., 2004, "Overview of Membrane Science and Technology", Wiley-Blackwell, Hoboken, NJ, USA, pp. 4 - 6.
8. Baker, R., Cussler, E., Eykamp, W., Koros, W., Riley, R. y Strathmann, H., 1991, "Membrane Separation Systems", Noyes Data Corporation, New Jersey, USA, pp. 329 - 341, 349 - 350.

9. Bratati D. y Archana B., 2010, "Antioxidant Activity of the Phytochemicals" en Gupta, V. y Verma, A., "Comprehensive Bioactive Natural Products, Volume 4: Antioxidants and Nutraceuticals", Global Media, Texas, USA, pp. 37 - 57.
10. Cano, M. y Barta, J., 2008, "Handbook of Fruits and Fruit Processing", Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey, USA, pp. 209, 380, 383, 384.
11. Carrera, J., 2003, "Producción y aplicación de enzimas industriales", Revista de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad del Cauca, 1 (1), 10.
12. Cassano, A., Jiao, B. y Drioli, E., 2004, "Production of concentrated kiwifruit juice by integrated membrane process", Food Research International, (37), 139.
13. Centerchem, Inc., 2011, "Application Data Sheet Klerzyme 150[®]", <http://www.centerchem.com/PDFs/Klerzyme150%20Applications.pdf>, (Diciembre, 2006).
14. Cortés, A., 2004, "Aplicación de enzimas en la producción industrial", Tecnología, Mundo alimentario, (Sept – Oct 2004), 20.
15. Chacón, A., 2006, "Tecnología de membranas en la industria láctea", Agronomía Mesoamericana, 17 (2), 243.
16. Cheryan, M., 1998, "Ultrafiltration and Microfiltration Handbook", Technomic Publishing Company, Inc., Lancaster, USA, p. 527.
17. Dietrich, H., 1998, "Enzymes in fruit juice processing", Fruit Processing, 8(3), en Cano, M. y Barta, J., 2008, "Handbook of Fruits and Fruit Processing", Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey, USA, pp. 209, 380, 383, 384.

18. De la Casa, E., 2006, "Estudio de las interacciones proteína-membrana en los procesos de filtración tangencial", Universidad de Granada, Granada, España, pp. 7 - 22.
19. Espín, J., García, M. y Tomás, A., 2007, "Nutraceuticals: Facts and fiction", *Phytochemistry*, (63), 2994.
20. Espín, J. y Tomás, M., 2010, "Constituyentes bioactivos no-nutricionales con actividad antioxidante", en Juárez, M. y Perote, A., "Alimentos saludables y de diseño específico - Alimentos funcionales", International Marketing & Communication S.A., Madrid, España, p. 75
21. Galina, M., Cuchillo, M., Delgadillo, C. y Mondragón, F., 2006, "Alimentos Funcionales", [http://focalla.com/drupal/sites/default/files/GalinaAlimentos funcionales.pdf](http://focalla.com/drupal/sites/default/files/GalinaAlimentos%20funcionales.pdf), (Mayo, 2012).
22. García, C., 2002, "Aplicación de la ósmosis inversa y la nanofiltración en el acondicionamiento de agua para calderas", Universidad de Oviedo, Oviedo, España, p. 309.
23. Girard, B. y Fukumoto, L., 2000, "Membrane Processing of Fruit Juices and Beverages", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(2), 91.
24. Giusti, M. y Wrolstad, R., 2001, "Characterization and measurement with UV-visible spectroscopy", *Current protocols in food analytical chemistry*, John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, USA, pp. 1 - 13.
25. Google, 2011, "Machachi, Parque Nacional Cotopaxi, El Pedregal", http://maps.google.com.ec/maps?hl=es&sugexp=kjrmc&cp=9&gs_id=y&xhr=t&q=ubicacion+geografica+del+ecuador&gs_sm=&gs_upl=&bav=on.2,or.r_gc.r_pw.,cf.osb&biw=1366&bih=648&wrapid=tljp1319994746643010&um=1&ie=UTF-8&sa=N&tab=wl, (Octubre, 2010).

26. Grandison, A. y Lewis, M., 1996, "Separations Processes in the Food and Biotechnology Industries: Principles and Applications", Woodhead Publishing Limited, Oxford, Gran Bretaña, pp. 65 - 96.
27. Guerrero, J., Falcón, J. y Martínez R., 2006, "Estudio preliminar del tratamiento del residual líquido (WL) de la empresa "Comandante Pedro Sotto Alba" MOA NICKEL S.A., Tecnología Química, XXVI (2), 83.
28. Hertog, M., Fesrens, E., Hollman, P., Katan, M. y Kromhout, D., 1993, "Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease", The Lancet, (342), 11.
29. Huisman, I., 1998, "Crossflow microfiltration of particle suspensions", Department of Food Engineering, Lund University, Lund, Suecia, pp. 15 - 17.
30. Jiao, B., Cassano, A. y Drioli, E., 2004, "Recent advances on membrane processes for the concentration of fruit juices: a review", Journal of Food Engineering, 63(3), 303.
31. Konczack, I. y Zhang, W., 2004, "Anthocyanins-more than Nature's Colours", Journal Biomedical and Biotechnology, (5), 239.
32. Küppers, H., 2002, "Atlas de los colores", Editorial Blume, Barcelona España, p. 43.
33. Laverde, J., 2010, "Estudio de las condiciones óptimas para la obtención de jugo clarificado de arazá (*Eugenia stipitata*) mediante procesos enzimático y membranario", Tesis previa a la obtención de título de Ingeniero Agroindustrial, Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador, p. 30.
34. Li, N., Fane, A., Winston HO, W.S., y Matsuura, T., 2008 "Advanced Membrane Technology and Applications", Wiley - Blackwell, Hoboken, New Jersey, USA, pp. 101, 543, 544.

35. Macrae, R., 1988, "HPLC in food analysis", Academic Press, Segunda Edición, Gran Bretaña, pp. 30 - 33.
36. Marcillo, V., 2010, "Obtención de jugos clarificados concentrados de mora (*Rubus glaucus*), tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y naranjilla (*Solanum quitoense*) mediante el uso de tecnología de membranas", Tesis previa a la obtención del título de Maestría en Ciencia de Alimentos, EPN, Quito, Ecuador, pp. 10, 11, 14 - 17, 24, 25, 64.
37. Martínez, A., 2004, "Obtención de oligosacáridos de leche de diferentes especies por tecnología de membranas", Universidad de Granada, Granada, España, pp. 57 - 69.
38. Meenakshi, P., 2007, "Effects of Food Processing on Bioactive Compounds", Global Media, Delhi, India, pp. 1 - 7, 9, 10 - 15.
39. Mendoza, J., 2010, "Uso de la tecnología de membranas en la clarificación de vinos", Revista ReCiTeIA, 10 (2), p. 26.
40. Millán, P., 2003, "Licuefacción enzimática de los polisacáridos de la pared celular de la mora", Primer Congreso Iberoamericano y terceras jornadas Ecuatorianas de Ciencia y Tecnología de alimentos, pp. 17 - 21.
41. Mosquera, M., 2008, "Evaluación Técnica-Financiera de la industrialización del jugo clarificado de naranjilla (*Solanum quitoense* Lam) obtenido mediante microfiltración tangencial", Tesis previa a la obtención de título de Ingeniero Agroindustrial, Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador, pp. 49 - 67.
42. Moliner, R., 2009, "Introducción a la tecnología de membranas", Instituto de Tecnología Cerámica, Castellón, España, [http://www.cma.gva.es/comunes_asp/documentos/agenda/val/62665-INTRODUCCI%C3%93N%20A%20LA%20TECNOLOG%C3%8DA%20DE%20MEMBRANAS%20\(v2\).pdf](http://www.cma.gva.es/comunes_asp/documentos/agenda/val/62665-INTRODUCCI%C3%93N%20A%20LA%20TECNOLOG%C3%8DA%20DE%20MEMBRANAS%20(v2).pdf) (Octubre, 2009).

43. Muñoz, S., Gómez, C. y Gil, A., 2010, "Compuestos bioactivos de los alimentos de origen vegetal y obesidad", *Nutrición Clínica en Medicina*, IV (3), 139.
44. National Research Council Staff, 1989, "Lost Crops of the Incas: Little-Known Plants of the Andes with Promise for Worldwide Cultivation", National Academic Press, Washington DC, USA, pp. 218,219.
45. Pascual, S. y Sanchez, M., 2007, "Anthocyanins: from plant to health", *Phytochemistry review*, (7), 281.
46. Pérez, A., Olías, R., Espada, J., Olías, J. y Sanz, C., 1997, "Rapid Determination of Sugars, Nonvolatile Acids and Ascorbic Acid in Strawberry and other Fruits", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (45), 3545.
47. Pérez, S. y Valdivieso, C., 2007, "Colección y caracterización morfológica. *In situ* del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) en la sierra norte de Ecuador", Tesis previa a la obtención de título de Ingeniero Agropecuario, Escuela Politécnica del Ejército, Sangolquí, Ecuador, pp. 35 - 37.
48. Perkin-Elmer Corporation, 1994, "Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrometry", USA, p. 208.
49. Pettersson, A. y Johnsson, L., 1990, "Separation of Cis-Trans Isomers of alpha- and beta-Carotene by Adsorption HPLC and Identification with Diode Array Detection", *Journal of Micronutrients Analysis*, (8), 23.
50. Pokorny, J., Yanishlieva, N. y Gordon, M., 2001, "Antioxidantes de los alimentos. Aplicaciones prácticas", Editorial Acribia S.A., Zaragoza, España, pp. 1, 2, 43, 44.
51. Porter, M., 1990, "Handbook of industrial membrane technology", Noyes Publications, New Jersey, USA, pp. 1, 2, 106 - 113.

52. Ramassamy, C., 2006, "Emerging role of polyphenolic compounds in the treatment of neurodegenerative diseases: a review of their intracellular targets", *European Journal of Pharmacology*, 545, 51.
53. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. y Rice-Evans, C., 1999, "Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay", *Free Radical Biology & Medicine*, (26), 1231.
54. Reddy, R., 2010, "Agricultural Process Engineering", Global Media, Delhi, India, pp. 107, 108.
55. Rivas, J., 2003, "Analysis of Anthocyanins", en Santos, C. y Williamson G., "Methods in polyphenol analysis", The Royal Society of Chemistry, Cambridge, p. 228.
56. Rodrigues, R., 2002, "Aplicação dos Processos de Separação por Membranas para Produção de Suco Clarificado e Concentrado de Camu Camu (*Myrciaria dubia*)", Universidad Estadual de Campinas, Campinas, Brasil, p. 146.
57. Ruales, J., 2011, Entrevista personal en comunidades ecuatorianas, Salinas de Bolívar - Ivan Chamorro, Machachi - Jorge Changaluisa, Diana Centeno y Andrés Veloz, Cotacachi - Ing. V. Acosta, Reporte OPCW, pp. 15 - 17.
58. Sanjinés, A., Øllgaard, B. y Balslev, H., 2006, "Frutos Comestibles", en Moraes, M., Øllgaard, B., Kvist, L.P., Borchsenius, F. y Balslev, H., "Botánica Económica de los Andes Centrales", Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia, p. 335.
59. Salgado, F., 2001, "Desarrollo de jugos clarificados de babaco (*Carica pentagona Heilbornii*) mediante microfiltración tangencial", Tesis previa a la obtención de título de Ingeniero Químico, Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador, pp. 10, 52, 53.

60. Schmitt, R., 1990, "Use of enzymes for the production of stable pulps, purees and cloudy juices", *Flüssiges Obst*, 57 (8), en Cano, M. y Barta, J., 2008, "Handbook of Fruits and Fruit Processing", Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey, USA, pp. 209, 380, 383, 384.
61. Slinkard, K. y Singleton, V., 1977, "Total phenol analysis: Automation and Comparison with Manual Methods", *Am. Journal Enol. Vitic*, 28 (1) 38.
62. Szajdek, A. y Borowska, E., 2008, "Bioactive Compounds and Health-Promoting Properties of Berry Fruits: A review", *Plant Foods Human Nutrition*, (63), 150.
63. Theander, A., Aman, P., Westerlund, E., Andersson, R. y Graham, H., 1991, "Rapid analysis and characterization of total dietary fiber", *The AOAC study on the Uppsala method for analysis of total dietary fiber*, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Suecia, pp. 1 - 4.
64. TDV, 2010, "Tierra del volcán", [http:// www.tierradelvolcan.com/wp-content/uploads/2010/04/TDV_mapas1.pdf](http://www.tierradelvolcan.com/wp-content/uploads/2010/04/TDV_mapas1.pdf), (Noviembre, 2010).
65. Vaillant, F., Millan P. y Reynes M., 1998, "Fruits: Caraterisation préliminaire des polysaccharides pariétaux de la pulpe de corossol et étude de leur dégradation enzymatique", París, Francia, pp. 257-270.
66. Vaillant, F., Millan A., Dornier M. y Reynes M., 2001, "Strategy for economical optimisation of the clarification of pulpy fruit juices using croosflow microfiltration", *Journal of Food Engineering*, 48(1), 83.
67. Vasco, C., Ruales, J. y Afaf Kamal-Eldin, 2008, "Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador", *Food Chemistry*, 111(2008), 820.

68. Vasco, C., Kaisu Riihinen, Ruales, J. y Afaf Kamal-Eldin, 2009, "Chemical Composition and Phenolic Compound Profile of Mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (18) 8274.
69. Vidal, L., 1999, "Las técnicas de la filtración y el medio ambiente", <http://www.asiain-asesores.com/rev3/pag31.htm>, (Julio, 2012).
70. Williams, M., 2003, "A brief review of Reverse Osmosis Membrane Technology", EET Corporation and Williams Engineering Services Company, Inc., USA, pp. 1, 3.
71. Winston Ho, W. y Sirkar, K., 1992, "Membrane Handbook", Kluwer Academic Publishers, London, United Kingdom, pp. 3, 265 - 267.
72. Wiseman, A., 1991, "Manual de biotecnología de las enzimas", Editorial Acribia S.A., Zaragoza, España, pp. 269, 270, 274 - 278, 280, 354.
73. Wong, D., 1995, "Química de los alimentos: Mecanismos y teoría", Editorial Acribia S.A., Zaragoza, España, p. 476.
74. Yacelga, N., 2007, "Obtención de jugo clarificado de mora (*Rubus glaucus*) mediante microfiltración tangencial", Tesis previa a la obtención de título de Ingeniera Agroindustrial, Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador, pp. 24, 28, 31 - 33, 54, 59 - 61, 71 - 79.

ANEXOS

Anexo I

Ubicación geográfica “El Pedregal”

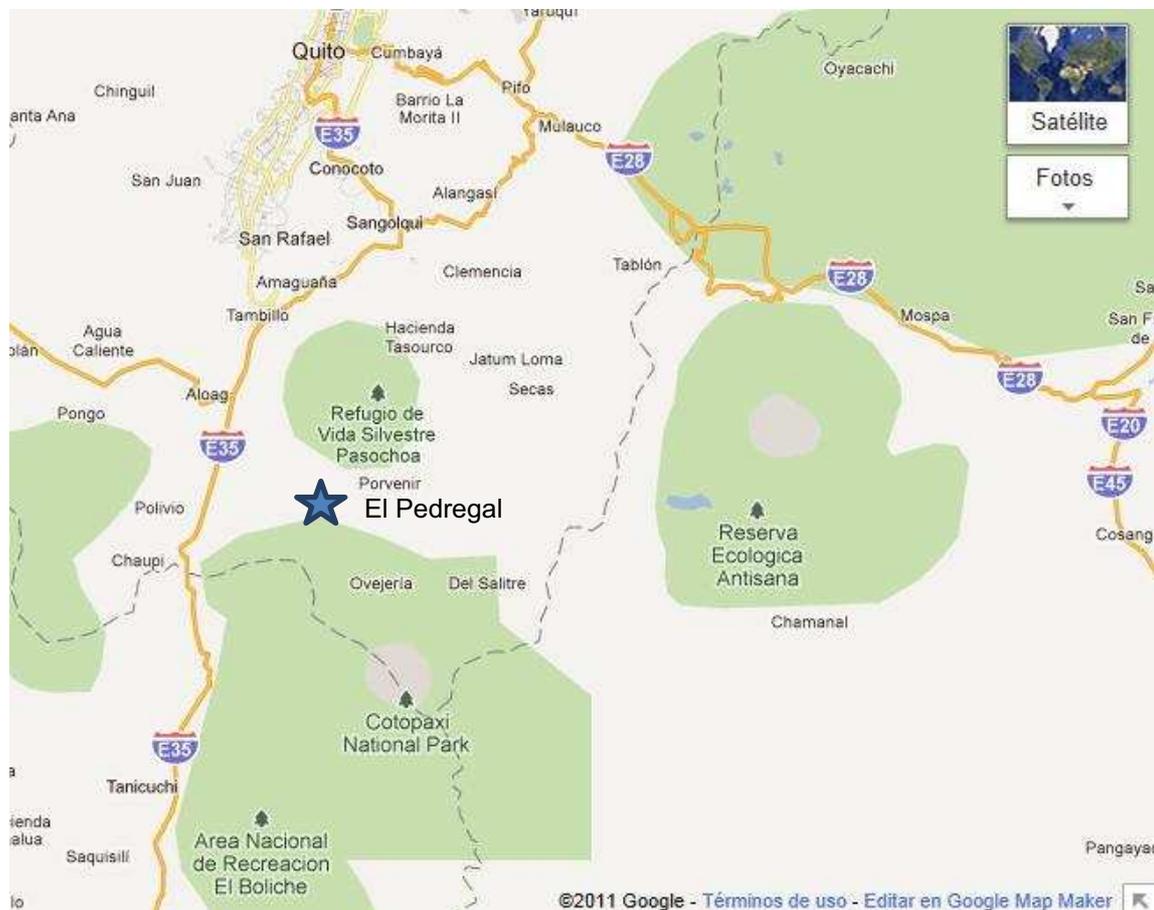


Figura A.1 Ubicación geográfica de “El Pedregal”
(Google, 2011)

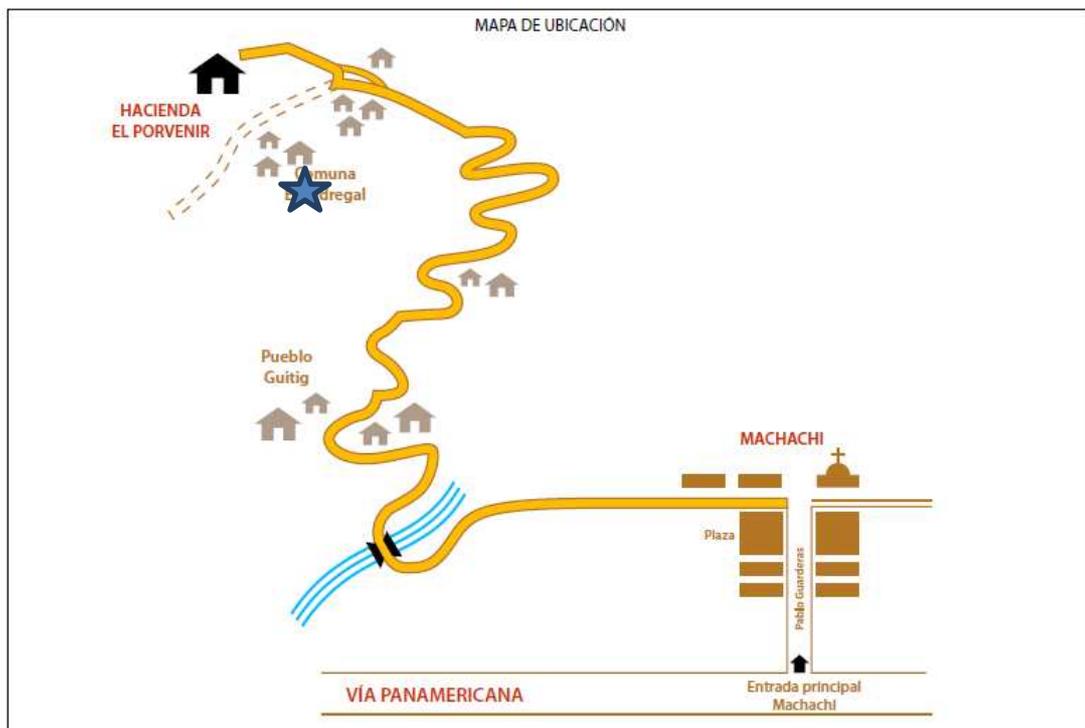


Figura A.2 Croquis Vía Panamericana Sur - Comuna “El Pedregal”
(TDV, 2010)

Anexo II

Método para la determinación de ácidos galacturónicos (AGU)

Se usó el método descrito por Theander *et al.*, (1991):

Reactivos

- Solución de NaCl y H₃BO₃: 2 g de NaCl y 3 g de H₃BO₃ en 100 mL de agua destilada
- Ácido sulfúrico al 98%
- Solución de 2-6 dimetilfenol: 0,1 g de dimetilfenol y 100 mL de ácido acético glacial
- Solución estándar de ácido galacturónico en agua destilada: 24 mg de ácido galacturónico y aforar a 100 mL (240 µg/mL) preparada diariamente

Materiales y Equipos

- Matraz aforado de 100 mL
- Tubos de ensayo
- Agitador tipo vórtex
- Baño termostatzado PRECISION Reciprocal Shaking Bath Model 25
- Espectrofotómetro UV-VISIBLE RECORDING SPECTROPHOTOMETER UV - 160A, SHIMADZU

Procedimiento

1. Aforar a 100 mL el filtrado obtenido del análisis de lignina.
2. Homogenizar la muestra y tomar una alícuota de 250 µL en un tubo de ensayo.
3. Añadir 250 µL de la solución de NaCl – H₃BO₃ y agitar con un agitador tipo vórtex.
4. Adicionar lentamente 4 mL de ácido sulfúrico concentrado y agitar nuevamente en el vórtex. Llevar los tubos de ensayo tapados con papel aluminio a un baño termostatzado a 70 °C por 40 min.

5. Enfriar los tubos a temperatura ambiente y luego adicionar 200 μL de la solución de dimetilfenol.
6. Agitar inmediatamente en un vórtex durante 2 minutos.
7. Preparar una curva de calibración con soluciones de ácido galacturónico en concentraciones de 20, 40, 80, 120, 160 y 240 $\mu\text{g/mL}$ (dar el mismo tratamiento de las muestras a las soluciones de ácido galacturónico y al blanco).
8. Medir la absorbancia en el rango de 400 a 450 nm en un espectrofotómetro UV-Vis contra un blanco de agua destilada. Esta determinación es importante realizarla en un intervalo de 10 a 15 minutos después de la adición del dimetilfenol.
9. Calcular el porcentaje de residuos de ácidos urónicos (U.R.)

Cálculos

El porcentaje de ácidos galacturónicos se calcula como ácido urónico anhidro presente en la muestra original y se utiliza la siguiente ecuación:

$$\text{-----} \quad [A2.1]$$

Donde:

W_u = mg de ácido galacturónico por 100 mL de muestra obtenido en la curva de calibración

F_u = factor de recálculo del ácido galacturónico a residuos polisacáridos (0,91)

S = peso (mg de materia seca) de la muestra original

Anexo III

Determinación de polifenoles solubles totales eliminando vitamina C

Se usó el método descrito por Slinkard y Singleton (1977):

Equipos

- Espectrofotómetro UV-VISIBLE RECORDING SPECTROPHOTOMETER UV - 160A, SHIMADZU
- Cronómetro
- Baño con temperatura controlada PRECISION Reciprocal Shaking Bath Model 25
- Agitador vórtex VORTEX MIXER VM - 300, GEMM INDUSTRIAL CORP.
- Agitadores magnéticos
- Ultra - turax ULTRA – TURRAX T50, JANKE & KUNKEL IKA Labotechnik
- Cartuchos OASIS HLB

Reactivos

- Acetona (CH_3COCH_3): 70% v/v (con agua destilada) (Solución extractora)
- Carbonato de sodio (Na_2CO_3): 75 g/L (con agua destilada)
- Ácido gálico ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$): 500 ppm (25 mg/50 mL) (con agua destilada)
- Folin-Ciocalteu's phenol (dilución 1/10 con agua destilada), se prepara al momento del análisis y se protege con papel aluminio.
- Metanol grado HPLC

Preparación del estándar (Ácido gálico) y curva de calibración

1. Para preparar la solución madre (500 ppm) se pesa 25 mg de ácido gálico, se disuelve con tres gotas de metanol y se afora a 50 mL con agua destilada. La curva de calibración se obtiene diluyendo esta solución madre entre 10 – 100 ppm. De cada dilución se toma 500 μL , se utiliza 500 μL de agua destilada como blanco y se procede a seguir el protocolo del Folin-Ciocalteu's descrito posteriormente.

2. Se encera el espectrofotómetro con el blanco y se realiza la lectura de la absorbancia a 760 nm.
3. Se pesa (0,2 g de muestra liofilizada, 3 g de pulpa o jugo pulposo, en el caso de jugo clarificado no se requiere extracción) en un erlenmeyer de 25 mL forrado con papel aluminio.
4. Se añade (10 mL de solución extractora: acetona 70% v/v en el caso de muestra liofilizada, o 7 mL de solución extractora: acetona pura en el caso de pulpa o jugo pulposo). Se tapa o se cubre con parafilm.
5. Se lleva a agitación durante 10 minutos con un agitador magnético a 500 rpm.
6. Se homogeniza la muestra utilizando un ultra-turax.
7. Se agita durante 10 minutos con una pastilla magnética.
8. Se filtra la solución con papel filtro (Whatman 41).
9. Se lava los residuos del erlenmeyer con 2 mL de la solución extractora.
10. Se agita 2 minutos con pastilla magnética.
11. Se filtra en el mismo papel filtro Whatman 41, se recoge en el mismo recipiente y se anota el volumen. Se pasa el filtrado a botellas ámbar que ayuden a evitar el paso de la luz natural o a recipientes con tapa y con papel aluminio.
12. Esta solución filtrada (extracto cetónico) es tratada de dos formas diferentes: A y B.

PARTE A: Dilución del extracto cetónico

- Muestra liofilizada: Se toma una alícuota total de 500 μL : 25 μL del extracto con 475 μL de agua destilada en un tubo de ensayo. Esta proporción puede variar dependiendo de la muestra pero siempre debe tener un volumen final de 500 μL .
- Pulpa y jugo pulposo: Se toma una alícuota total de 10 mL: 100 μL de extracto con 9,9 mL de agua destilada. Esta proporción puede variar dependiendo de la muestra pero siempre debe tener un volumen final de 10 mL.
- Jugo clarificado: Se toma una alícuota de 100 μL del jugo clarificado directamente (sin hacer extracción) con 9,9 mL de agua destilada. Esta

proporción puede variar dependiendo de la muestra pero siempre debe tener un volumen final de 10 mL.

13. De esta dilución obtenida en el punto 12, se toma una alícuota de 500 μL en un tubo de ensayo. Se utiliza como blanco acetona 70% v/v diluida en la misma proporción que el extracto (Ejemplo: 25 μL de acetona 70% v/v con 475 μL de agua destilada para muestras liofilizadas) y se procede a seguir el protocolo del Folin-Ciocalteu's descrito posteriormente.
14. Se encera el espectrofotómetro con el blanco y se realiza la lectura de la absorbancia (Abs A) a 760 nm.

PARTE B: Eliminación de Vitamina C y Azúcares reductores mediante cartuchos de separación OASIS HLB

Mediante los cartuchos se separan los polifenoles de la vitamina C y azúcares reductores con el propósito de eliminar la interferencia de estos en la cuantificación de polifenoles.

Separación de polifenoles y vitamina C

15. Se diluye el extracto cetónico obtenido en el punto 12, tomando una alícuota de 500 μL de extracto con 3500 μL de agua destilada: Esta proporción puede variar dependiendo de la muestra pero siempre debe tener un volumen final de 4 mL.
16. Se deposita 2 mL de esta dilución en el cartucho OASIS (previamente acondicionado) y se recoge en una probeta el volumen que pasa por gravedad.
17. Se lava con 2 mL de agua destilada para recuperar la vitamina C y azúcares (material soluble en agua). Se recoge el filtrado en la misma probeta y se anota el volumen total recolectado. Dependiendo del contenido de vitamina C en la muestra se deberá hacer más de un lavado. En el cartucho solo se quedan retenidos los polifenoles.
18. De este filtrado se toma una alícuota de 500 μL , se utiliza 500 μL de agua destilada como blanco y se procede a seguir el protocolo del Folin-Ciocalteu's descrito posteriormente.

19. Se encera el espectrofotómetro con el blanco y se realiza la lectura de la absorbancia (Abs B) a 760 nm.

Proceso REDOX: protocolo del Folin-Ciocalteu`s

Se debe considerar que a partir de este punto el blanco, los estándares (diluciones del ácido gálico), los extractos cetónicos y los filtrados deben recibir el mismo tratamiento.

20. Se toma una alícuota de 500 μ L y se coloca en un tubo de ensayo.
21. Se agrega 2,5 mL de solución Folín, se agita en el vórtex y se deja en reposo por 2 minutos a temperatura ambiente.
22. Se añade 2 mL de solución de carbonato de sodio, se agita en el vórtex y se coloca en un baño de agua a 50 °C por 15 min.
23. Se enfría rápidamente el tubo en un baño de hielo. Desde aquí se tiene hasta 30 minutos para realizar la lectura.
24. En el espectrofotómetro, se lee la absorbancia de cada tubo a 760 nm, encerrando el equipo con el blanco respectivo.

Acondicionamiento del cartucho OASIS, antes de usar

Se debe realizar 3 lavados por gravedad: 1 lavado con 3 mL de metanol puro, seguido de 2 lavados con 3 mL de agua destilada.

Reacondicionamiento del cartucho OASIS, después de usar

Se debe realizar 6 lavados por gravedad: 4 lavados con 3 mL de metanol, seguido de 2 lavados con 2 mL de agua destilada. El cartucho sólo puede ser reusado 5 veces.

Nota: Se realiza triplicados por cada muestra y duplicados por cada blanco. Si la muestra está muy concentrada y se obtienen valores de absorbancia fuera del rango del estándar, se varían los pasos iniciales o las diluciones según convenga.

CÁLCULO

La curva de calibración se obtiene graficando la concentración vs absorbancia de los estándares. Con la regresión lineal se interpolan los valores de absorbancia de las muestras y se obtiene la concentración.

De la regresión lineal $y = mx + b$ [A3.1]

Donde:

y = absorbancia de los estándares

x = concentración (mg/L de ácido gálico)

b = intercepto en el eje Y

Por lo tanto:

$C_n A = (y - b)/m \cdot fd \cdot V/P$ [A3.2]

$C_n B = (y - b)/m \cdot fd \cdot V/P$ [A3.3]

Para muestras líquidas (sin extracción):

$C_n A = (y - b)/m \cdot fd$ [A3.4]

$C_n B = (y - b)/m \cdot fd$ [A3.5]

Entonces:

$C_n = C_n A - C_n B$ [A3.6]

Donde:

C_n = concentración de polifenoles totales como equivalente de ácido gálico (mg AG/g de muestra)

fd = factor de dilución

V = volumen extractante (L)

P = peso de la muestra (g)

Anexo IV

Determinación de antocianinas

Se usó el método descrito por Giusti y Wrolstad (2001):

Equipos

- Espectrofotómetro UV-VISIBLE RECORDING SPECTROPHOTOMETER UV - 160A, SHIMADZU
- Luz amarilla (habitación protegida de la luz natural o luz artificial blanca)
- Licuadora OSTER *Osterizer*
- Balanza analítica METTLER TOLEDO AG204
- Centrífuga marca Thermo SCIENTIFIC IEC CL31R Multispeed
- pH metro WTW pH 330i

Reactivos

- Cloruro de Potasio, calidad ACS
- Acetato de Sodio, calidad ACS, 99,5%
- Ácido clorhídrico 0,2 N calidad ACS, 100%
- Agua destilada

PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

Buffer pH = 1,0

1. Disuelva 14,9 g de cloruro de potasio en 1 L de agua destilada (A).
2. HCl (0,2 N): diluya 16,58 mL de ácido clorhídrico concentrado en 1 L de agua destilada (B).
3. Agregue la solución B a la solución A lentamente, mida el pH en cada momento y ajuste a pH = 1,0 con la solución B.
4. Guarde la solución final en una botella con tapa.

Buffer pH = 4,5

1. Disuelva 136 g de acetato de sodio en 1 L de agua destilada (C).
2. HCl (1 N): diluya 82,9 mL de ácido clorhídrico concentrado en 1 L de agua destilada (D).
3. Agregue la solución D a la solución C lentamente, mida el pH en cada momento y ajuste a pH = 1,0 con la solución D.
4. Guarde la solución final en una botella con tapa.

Preparación de muestra

1. Homogenice la muestra fresca en un procesador de alimentos.
2. Muestras liofilizadas, empáquelas en bolsas metálicas o laminadas y séllelas herméticamente.

Extracción (Muestras sólidas)

1. Pese en cuatro vasos de precipitación de 50 mL, una masa de 1,5 g de muestra liofilizada o 3 g de muestra fresca aproximadamente. Dos masas para m_1 y dos para m_2 .
2. Trasvase la muestra con una alícuota 50 mL de buffer (dos muestras con buffer de pH = 1,0 y las otras dos con buffer de pH = 4,5) a cuatro vasos pequeños de licuadora.
3. Mezcle en la licuadora a máxima velocidad durante 5 minutos.
4. Centrifugue y filtre para obtener una solución clara sin sedimento (si la solución está libre de sedimento la absorbancia a 700 nm debe ser cercana a 0).
5. Ajuste a cero el equipo con el buffer de pH correspondiente.
6. Efectúe la dilución necesaria. (La dilución debe ser tal que la absorbancia de la solución pH = 1,0 esté entre 0,3 – 0,7 UA a 510 nm). La misma dilución que se haga a las muestras con pH = 1,0 se debe hacer para muestras a pH = 4,5.
7. Realice las lecturas en el espectrofotómetro de cada una de las soluciones a dos longitudes de onda sin sacar la celda del equipo, primero a 510 nm y luego a 700 nm.

Extracción (Muestras sólidas)

1. Tome cuatro alícuotas entre 50 – 100 μL de muestra y colóquelas en cuatro tubos de ensayo. Centrifugue antes la muestra si es necesario para eliminar sólidos en suspensión. Dos alícuotas para m_1 y dos para m_2 .
2. Agregue una alícuota de buffer (dos muestras con buffer de $\text{pH} = 1,0$ y las otras dos con buffer de $\text{pH} = 4,5$) de tal forma que el volumen final sea 5 mL.
3. Agite con ayuda del vórtex durante 1 minuto cada tubo.
4. Ajuste el cero del equipo con el buffer de pH correspondiente.
5. Efectúe la dilución necesaria, pero normalmente con muestras líquidas se puede medir directo (La dilución debe ser tal que la absorbancia de la solución de $\text{pH} = 1,0$ esté entre 0,3 – 0,7 UA a 510 nm). La misma dilución que se haga a las muestras con $\text{pH} = 1,0$ se debe hacer para muestras a $\text{pH} = 4,5$.
6. Realice las lecturas en el espectrofotómetro de cada una de las soluciones a dos longitudes de onda sin sacar la celda del equipo, primero a 510 nm y luego a 700 nm.

CÁLCULO

La concentración en mg de antocianinas por g de muestra viene dada por:

$$\frac{(A_1 - A_2) \cdot m_2 - (A_3 - A_4) \cdot m_1}{(A_1 - A_2) \cdot m_2 + (A_3 - A_4) \cdot m_1} \quad [A4.1]$$

Donde:

C_n = concentración de antocianinas mg/g (muestras sólidas) mg/mL (muestras líquidas)

A_1 = Absorbancia media a 510 nm, buffer $\text{pH} = 1,0$ y m_1

A_2 = Absorbancia media a 700 nm, buffer $\text{pH} = 1,0$ y m_1

A_3 = Absorbancia media a 510 nm, buffer $\text{pH} = 4,5$ y m_2

A_4 = Absorbancia media a 700 nm, buffer $\text{pH} = 4,5$ y m_2

m_1 y m_2 = masa de muestra de extracción (g) (muestra sólida)/no hay masa de extracción (muestras líquidas)

V_1 y V_2 = Volumen de la alícuota de cada buffer pH = 1,0 y pH = 4,5 respectivamente (en mL que al dividir para 1000 pasa a L). (Para muestras líquidas no hay extracción, por lo tanto no hay volumen de extracción).

ϵ_1 = Absorbancia molar de la antocianina mayoritaria ($\epsilon_1 = 26900 \text{ L/mol.cm}$)

PM = Peso molecular de la antocianina mayoritaria (cianidin-3-glucósida) en las frutas (PM = 449,2 g/mol)

fd_1 y fd_2 = Factor de dilución para cada muestra de buffer pH = 1,0 y pH = 4,5 respectivamente

REGISTRO DE DATOS

Datos que se deben tomar durante el análisis:

m_1	m_2
V_1	V_2
A_1	A_2
A_3	A_4
fd_1	fd_2

CONTROL DE CALIDAD

Control de réplicas

Nota: Todos los análisis se hacen por duplicados (si es posible triplicar). En cada uno se controla que la diferencia porcentual $[(\text{rango}/\text{media}) \cdot 100]$ sea menor que 10%. Si esto no se cumple, se repite el análisis.

Anexo V

Método TEAC para determinar la capacidad antioxidante

Se usó el método descrito por Re et al., (1999):

Reactivos

- ABTS (7nM) : 96 mg
- Peroxidisulfato de Potasio ($K_2S_2O_8$) : 16,55 mg
- Trolox (2,5 mM) : 15,64 mg
- Etanol grado HPLC

Extracto

La capacidad antioxidante se mide con los mismos extractos obtenidos para la determinación de polifenoles.

Preparación del reactivo ABTS ⁺

- Se coloca en un matraz de 25 mL el ABTS y el peroxidisulfato de potasio y se afora con agua destilada
- Luego se deja reposar el reactivo entre 12 y 16 horas
- Posteriormente se toma 1 mL del reactivo y se coloca en un matraz de 100 mL y se afora con etanol grado HPLC
- Se lleva a un baño maría a 30°C a esta temperatura se mantiene el reactivo durante todo el análisis)
- Se mide la absorbancia en un espectrofotómetro frecuentemente hasta que la solución este entre 680 y 720 nm (agregando una cierta cantidad de reactivo de ser necesario

Preparación del Estándar: Trolox

El Trolox se coloca en un matraz de 25 mL y se afora con etanol grado HPLC, para obtener la solución madre. Luego se realizan las siguientes diluciones:

- 100% 1000 μL de solución estándar
- 75% 750 μL de solución estándar + 250 μL de etanol grado HPLC
- 50% 500 μL de solución estándar + 500 μL de etanol grado HPLC
- 25% 250 μL de solución estándar + 750 μL de etanol grado HPLC
- 12,5% 125 μL de solución estándar + 875 μL de etanol grado HPLC

Una vez que el reactivo está estable, se realiza la lectura de los estándares para obtener la curva de calibración.

Procedimiento

- Se trabaja en el espectrofotómetro en modo cinético a una longitud de onda de 734 nm y se utiliza etanol como blanco
- Se toma 1 mL de reactivo ABTS⁺ y se realiza la lectura a los siguientes tiempos: tiempo inicial (t_1) = 10, tiempo final (t_2) = 10 en un intervalo de tiempo (t_3) = 10 (tiempo en segundos). La absorbancia debe estar entre 0,680 y 0,720.
- Luego se añade 10 μL de muestra en el reactivo y se realiza la lectura a los tiempos: t_1 = 60, t_2 = 360 en intervalos de t_3 = 10 (tiempo en segundos) se realiza previamente diluciones de los extractos de modo que las medidas estén dentro de la curva de calibración.

Cálculo

La curva de calibración se obtiene graficando la concentración vs el porcentaje de inhibición de los estándares.

[A5.1]

Donde:

$\%I$ = Porcentaje de inhibición

A_0 = Absorbancia inicial obtenida al final de $t_1 = 10$, $t_2 = 10$ y $t_3 = 10$

A_f = Absorbancia final obtenida al final de $t_1 = 600$, $t_2 = 300$ y $t_3 = 10$

Con la regresión lineal se interpolan los valores de %Inhibición de las muestras y se obtiene la concentración:

$$y = mx - b \quad [A5.2]$$

$$\%I = mx - b \quad [A5.3]$$

Donde:

$\%I$ = Porcentaje de inhibición

x = Concentración de Trolox

b = Intercepto en el eje Y

Por lo tanto:

$$\frac{\text{---}}{\text{---}} \quad [A5.4]$$

Donde:

C_n = Actividad antioxidante como μmol equivalente de Trolox por gramo de muestra

$\%I$ = Porcentaje de inhibición de la muestra

fd = Factor de dilución

P = Peso de la muestra (g) (para muestras líquidas no existe masa de muestra)

V = volumen de extracción (para muestras líquidas no hay volumen de extracción)

Anexo VI

Formato del reporte de análisis sensorial de jugo clarificado

**DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE
ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA**

**ESCUELA POLITÉCNICA
NACIONAL**



LABORATORIO DE ANÁLISIS

JUGO CLARIFICADO DE MORTIÑO

Fecha:.....

Ud. está recibiendo una muestra de jugo clarificado de mortiño obtenido mediante el uso de tecnología de membranas. Por favor pruébelo y conteste las siguientes preguntas calificando la característica indicada en una escala de mayor a menor según su percepción organoléptica.

Analice la muestra y marque con una (X) en la línea para indicar la valoración que otorga en cada atributo.

SABOR	Intenso sabor a fruta de mortiño	_____ _____	Débil sabor a fruta de mortiño
AROMA	Intenso a fruta	_____ _____	Débil a fruta
ACIDEZ	Fuerte	_____ _____	Débil

Observaciones:.....
.....
.....
.....

Gracias por su colaboración

Anexo VII

Formato del reporte de análisis sensorial de jugo clarificado concentrado

**DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE
ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA**

**ESCUELA POLITÉCNICA
NACIONAL**



LABORATORIO DE ANÁLISIS

JUGO CLARIFICADO CONCENTRADO DE MORTIÑO

Fecha:.....

Ud. está recibiendo una muestra de jugo clarificado concentrado de mortiño obtenido mediante el uso de tecnología de membranas. Por favor pruébelo y conteste las siguientes preguntas calificando la característica indicada en una escala de mayor a menor según su percepción organoléptica.

Analice la muestra y marque con una (X) en la línea para indicar la valoración que otorga en cada atributo.

SABOR	Intenso sabor a fruta de mortiño	_____ _____	Débil sabor a fruta de mortiño
AROMA	Intenso a fruta	_____ _____	Débil a fruta
ACIDEZ	Fuerte	_____ _____	Débil

Observaciones:.....
.....
.....
.....

Gracias por su colaboración

Anexo VIII

Proceso de extracción de pulpa de mortiño

Desintegrado

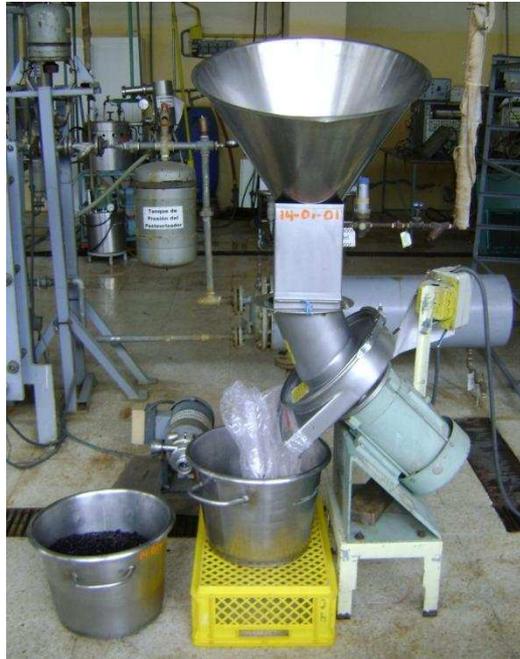


Figura A.3 Desintegrador Ritz

Despulpado



Figura A.4 Despulpador Refinador



Figura A.5 Limpieza de la malla del despulpador

Tratamiento enzimático

Calentamiento previo a la hidrólisis enzimática



Figura A.6 Marmita y olla de volteo

Anexo IX**Equipo de microfiltración tangencial de pulpa de mortiño**

Figura A.7 Equipo de microfiltración tangencial SEMATEC a escala de laboratorio

Anexo X

Equipo de ósmosis inversa de jugo clarificado de mortiño

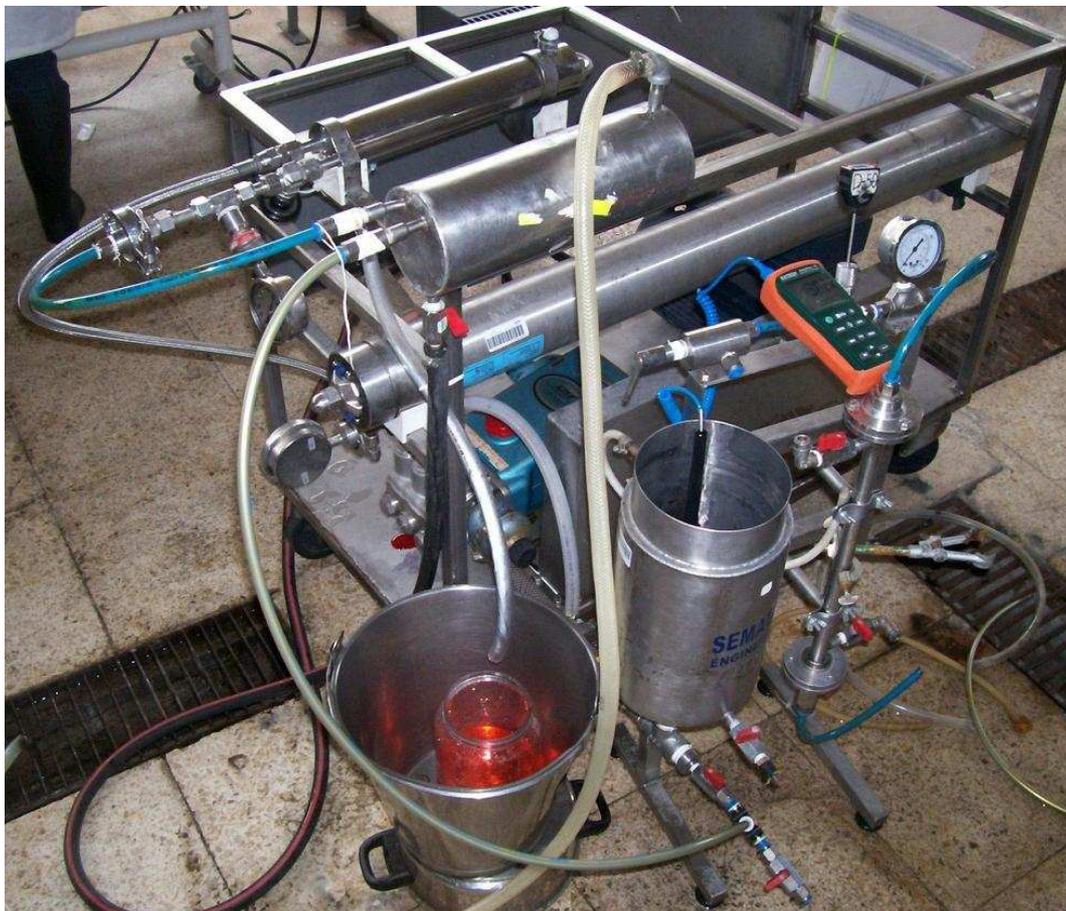


Figura A.8 Equipo de ósmosis inversa MICRO 240 a escala de laboratorio

Anexo XI

Datos recopilados durante el proceso ósmosis inversa para la obtención de jugo clarificado concentrado de mortiño

Tabla A.1 Datos del proceso de OI para obtención de jugo clarificado concentrado de mortiño

OBTENCIÓN DE JUGO CLARIFICADO CONCENTRADO DE MORTIÑO								
FECHA	26/05/2011							
MUESTRA	Clarificado de mortiño de pulpa hidrolizada "antes de" el despulpado (cantidad 1mL de Klerzyme 150/kg de pulpa)							
MASA (g)	3942,5							
MEMBRANA	ACF99							
TEMPERATURA	30 °C							
PRESIÓN	60 bar - 870 psi							
	t (min)	Vp (g)	V (mL/min)	Flujo (L/mh²)	°Brix R	°Brix P	T (°C)	PTM (bar)
	0	0,0	0,0	0,0	8,2	0,0	30,0	60
	5	98,8	21,0	52,5	9,2	2,5	31,3	60
	15	289,4	19,0	47,5	10,0	2,5	30,2	60
	25	461,6	17,5	43,7	10,9	2,8	30,1	60
	35	622,7	16,6	41,5	11,4	3,0	30,6	60
	45	779,7	15,6	39,0	11,9	3,0	29,9	60
	60	1003,7	15,0	37,5	12,8	3,0	30,6	60
	75	1219,7	14,2	35,6	13,0	3,0	30,2	60
	90	1425,7	14,0	35,0	13,1	3,0	30,4	60
	120	1816,5	14,0	35,0	14,2	3,0	30,2	60
	150	2194,8	11,8	29,5	16,0	3,6	30,6	60
	180	2512,6	10,5	26,3	17,6	3,7	30,1	60
	210	2804,8	9,0	22,5	20,9	3,7	29,9	60
	230	2975,6	8,2	20,6	22,8	3,8	30,6	60
	237	3021,8	8,0	20,0	23,4	3,8	30,2	60
MUESTRAS	°Brix	A. Inicial	8,2	Final	VOLUMEN FINAL (g)		A. Inicial	3942,5
		R. Final	23,4	3021,8			R. Final	791,9
		Permeado	3,8				Permeado	3021,8

Vp = volumen de permeado, V = flujo de permeado, T = temperatura, t = tiempo;
PTM = presión transmembranaria, A = alimentación, R = retenido, P = permeado