

ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

**DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y
BIOTECNOLOGÍA**

**“APLICACIÓN DE TECNOLOGÍA DE MEMBRANAS PARA LA
PURIFICACIÓN DE POLIFENOLES DEL TOMATE DE ÁRBOL
(*Solanum betaceum cav*)”.**

**TESIS DE POSTGRADO PREVIA A LA OBTENCIÓN DE LA MAESTRÍA
(MASTER OF SCIENCE – M.Sc.) EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS**

BELTRÁN SINCHIGUANO ELENA ROSARIO

Ingeniera Química

elenarbs@yahoo.es

DIRECTORA: RUALES NÁJERA JENNY CUMANDA Ph.D.

jenny.ruales@epn.edu.ec

QUITO – ECUADOR

2013

© Escuela Politécnica Nacional 2013
Reservados todos los derechos de reproducción

DECLARACIÓN

Yo, Elena Rosario Beltrán Sinchiguano, declaro bajo juramento 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.

A través de la presente declaración cedo mis derechos de propiedad intelectual correspondiente a este trabajo, a la Escuela Politécnica Nacional, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la Normatividad Institucional vigente.

Elena Rosario Beltrán Sinchiguano

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Elena Rosario Beltrán Sinchiguano, bajo mi supervisión

Jenny Ruales Ph.D.

DIRECTORA DE TESIS

El presente trabajo fue realizado en el Departamento de Ciencia de Alimentos y Biotecnología de la Escuela Politécnica Nacional en Quito – Ecuador y fue financiado por el Proyecto de la Comunidad Europea FP6-2003-INCO-DEV-2 CONTRATO (015279) “Producing adding value from under-utiliced tropical fruit crops with high commercial potenci” (PAVUC).

AGRADECIMIENTO

A Dios y a la Virgen Dolorosa por ser la fortaleza de mí ser y acompañarme en el camino de la vida.

A la Dra. Jenny Ruales, quien como directora de este proyecto de investigación supo guiarme en todo momento con sus conocimientos, pero principalmente por su ejemplo de perseverancia y optimismo frente a la adversidad.

Al Dr. Edwin Vera e Ing. Pablo Pólit por su incondicional colaboración, valiosos comentarios y sugerencias, en especial por la amistad brindada durante la realización de este trabajo.

A Dominique Pallet y Pierre Bratt, quienes guiaron mi trabajo en el Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD) en Montpellier Francia, mil gracias por su ayuda y colaboración.

A todas las personas que trabajaban y realizaban sus proyectos de investigación en el CIRAD en el Département PERSYST: Christian Mertz, Pascaline Alter, Valerie, Tatiane, Alessandra, Gerard, By, Oscar, Jean Batiste, Amelie y Emma gracias por su amistad; un especial agradecimiento para Diego y Aurelie por ser buenos amigos y darme su ayuda.

A todo el personal del Departamento de Ciencia de Alimentos y Biotecnología de la Escuela Politécnica Nacional por el apoyo técnico, amistad y cariño. En especial Don Héctor Ortiz por estar siempre dispuesto a colaborar y brindar asistencia para la realización del trabajo en la planta piloto.

A mis amigas y compañeras de trabajo Mayra A., Verónica M., Silvia O. y especialmente a Elena C. y Gabriela B. por compartir conmigo los buenos y malos momentos. Gracias Juan por su ayuda en la culminación de este trabajo.

A mis padres, Rafael y Beatriz, por su ejemplo de superación y entrega a los demás.

A mis hermanos, por su confianza y ayuda constante, especialmente a David.

A Greta, Noemi y sus familias, por abrirme las puertas de sus casas y darme ese cariño de la familia ecuatoriana en esas tierras lejanas.

A Myriam por saber cuidar a mis hijos y compartir su tiempo con ellos durante mi estadía en Montpellier

El agradecimiento más profundo y sentido es para mi esposo Freddy y mis hijos, Gabriel, Rubén y Freddy por su cariño, comprensión y apoyo incondicional, que han sido una pieza clave para la culminación de este trabajo.

A todas las personas que me brindaron su apoyo para realizar este proyecto de la mejor manera posible.

DEDICATORIA

*A Freddy, por su apoyo incondicional
A nuestros hijos
Gabriel, Rubén y Freddy por su cariño y comprensión*

ÍNDICE

RESUMEN.....	i
ABSTRACT.....	i i
INTRODUCCIÓN.....	v
INTRODUCCIÓN.....	v
1. OBJETIVOS.....	vii
1.1. OBJETIVO GENERAL.....	vii
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	vii
2. LITERATURA	8
2.1. GENERALIDADES DEL TOMATE DE ÁRBOL.....	8
2.1.1. ORIGEN	8
2.1.2. DESCRIPCIÓN	8
2.1.3. USOS Y VALOR NUTRITIVO DEL TOMATE DE ÁRBOL	10
2.2. COMPUESTOS FENÓLICOS	12
2.2.1. ESTRUCTURA Y CLASIFICACIÓN.....	13
2.2.1.1. Ácidos fenólicos	14
2.2.1.2. Flavonoides	16
2.2.2. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.....	17
2.3. TECNOLOGÍAS DE ALIMENTOS Y POLIFENOLES.....	19
2.3.1. UTILIZACIÓN DE ENZIMAS.....	19
2.3.2. UTILIZACIÓN DE SOLVENTES ORGÁNICOS.....	20
2.3.3. TECNOLOGÍA DE MEMBRANAS	21
2.3.4. RESINAS	23
2.3.5. DESHIDRATACIÓN.....	24
3. RESUMEN DEL TRABAJO	25
4. BIBLIOGRAFÍA.....	30
ARTÍCULO I	30
ARTÍCULO II	33
ARTÍCULO III	45
ARTÍCULO IV	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tomate de árbol (<i>Solanum betaceum Cav</i>)	2
Figura 2. Ácidos hidrogenoicis	8
Figura 3. Estructura de los ácidos hidroxiciánicos y sus derivados	9
Figura 4. Estructura de las principales subclases de los flavonoides	11

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química del tomate de árbol por cada 100 g de porción comestible	4
Tabla 2. Diferentes grupos de compuestos fenólicos y estructuras representativas	7

ABREVIATURAS

HPLC High Performance Liquid Chromatography

BV Bed Volume

AOAC Association of Official Analytical Chemists

ORAC Oxygen Radical Absorbance Capacity

AAPH 2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

FRV Factor de retención volumétrica

UNIDADES

°C	Grados Celsius
h	Hora
min	Minutos
%	Porcentaje
mg	Miligramo
mL	Mililitro
rpm	Revoluciones por minuto
g	Gramo
m ²	Metro cuadrado
µm	Micrómetro
cm ²	Centímetro cuadrado
kDa	Kilo Dalton
bar	Bares
L	Litro
V	Volumen
M	Molaridad

LISTA DE ARTÍCULOS

Este trabajo de tesis está basado en los siguientes artículos, descritos por los siguientes números romanos:

I. **Extracción de polifenoles del tomate de árbol (*Solanum Betaceum Cav.*) utilizando enzimas.**

Beltrán Elena, Vera Edwin y Ruales Jenny

Publicado en la revista: Alimentos Ciencia e Ingeniería. Vol. 16 (3). 2007.

II. **Extracción de polifenoles de la cáscara de tomate de árbol (*Solanum Betaceum Cav.*) utilizando solventes orgánicos.**

Elena Beltrán, Edwin Vera, Jenny Ruales

Manuscrito

III. **Uso de tecnología de membranas y resinas para la separación y concentración de polifenoles del tomate de árbol morado (*Solanum Betaceum Cav.*).**

Elena Beltrán, Mayra Anaguano, Dominique Pallet, Pierre Brat, Christian

Mertz, Fabrice Vaillant, Edwin Vera y Jenny Ruales

Manuscrito

IV. **Efecto de secado por aspersión en el contenido de polifenoles y anatócianinas del concentrado de jugo clarificado de la placenta de tomate de árbol morado (*Solanum betaceum Cav.*).**

Beltrán Elena, Pólit Pablo y Ruales Jenny

Manuscrito

RESUMEN

La presente investigación estudió la aplicación de la tecnología de membranas y secado por aspersion para obtener un concentrado en polvo de polifenoles del tomate de árbol (*Solanum betaceum cav*).

El trabajo se dividió en cuatro partes. En la primera parte de la investigación se estudió el uso de enzimas para extraer los polifenoles de la cáscara, mesocarpio y placenta del tomate de árbol morado y como pretratamiento para la microfiltración tangencial; los mejores resultados se obtuvieron con el empleo de la enzima Rapidasa vegetable juice[®].

En la segunda parte se realizó la extracción de polifenoles de la cáscara de tomate de árbol morado con mezclas de solventes orgánicos y agua como testigo. En el sobrenadante se determinó el contenido de polifenoles solubles totales y antocianinas; el mayor contenido de polifenoles se obtuvo en la extracción con agua a 30 °C; mientras que, los mayores contenidos de polifenoles, utilizando mezclas de solventes, se obtuvieron con una mezcla cáscara: acetona:etanol en una relación en peso de 1:2:2 a 20 °C.

En la tercera parte del estudio, se aplicó la tecnología de membranas y el uso de la resina XA 5071 FG para la separación y concentración de los polifenoles de los jugos del mesocarpio, placenta y cáscara de tomate de árbol morado. Se realizaron procesos de micro y ultrafiltración tangencial utilizando el tamaño de poro de la membrana como medio de selección; sin embargo, análisis realizados con HPLC demostraron que no se realizó la separación de los compuestos fenólicos. El proceso de ósmosis inversa concentró los polifenoles en 1,5 veces para placenta y 2,4 veces para la cáscara, mientras que la capacidad antioxidante en los dos jugos concentrados aumentó en 2,4 veces y el contenido de antocianinas de la placenta se concentró en 2,6 veces. La utilización de la resina XA 5071 FG permitió concentrar los compuestos fenólicos y aumentar la capacidad antioxidante en un rango entre 4,0 y 5,5

veces para los dos jugos y la concentración de antocianinas se incrementó 1,8 veces en el jugo de placenta.

En la parte final de esta investigación, se determinó el efecto del secado por aspersion en el contenido de polifenoles y antocianinas del concentrado de jugo clarificado de placenta de tomate de árbol. El proceso de secado se realizó con tres concentraciones de maltodextrina; mientras las demás variables permanecieron constantes. El producto deshidratado, que presentó la mayor concentración de polifenoles y de antocianinas, fue el que contenía la menor concentración de maltodextrina con valores de 842,97 mg equivalente de ácido gálico /100 g de muestra y 3,85 mg equivalente de cianidina-3-glucósido/g de muestra, respectivamente. El porcentaje de recuperación de los polifenoles fue superior al 80 % en todos los procesos.

En conclusión, la aplicación de tecnología de membranas y el secado por aspersion permitieron producir un concentrado en polvo de polifenoles de la placenta del tomate de árbol morado con un porcentaje de recuperación de los polifenoles y antocianinas superior al 80 y 66 %, respectivamente, en los diferentes procesos.

ABSTRACT

This research studied the application of membrane technology and spray drying to obtain a powdered concentrate of polyphenols tree tomato (*Solanum betaceum* cav).

The work was divided into four parts. In the first part of the research, It was studied the use of enzymes to extract the polyphenols from the peel, mesocarp and seed-jelly of purple red tamarillo. The best results were obtained using the enzyme Rapidasa vegetable juice.

In the second part, the extraction of polyphenols from the peel of purple tree tomato was performed with mixtures of organic solvents and water as control. In the supernatant was determined polyphenolic compounds and anthocyanins, was obtained the highest content of polyphenols in the extraction with water at 30 °C, while the highest contents of polyphenols using solvent mixtures were obtained with a mixture peel:acetone:ethanol in a weight ratio of 1:2:2 at 20 °C.

In the third part of the study, it was applied membrane technology and the use of 5071 XA FG resin for the separation and concentration of polyphenols from the peel, mesocarp and seed-jelly juices of purple red tamarillo. Micro and ultrafiltration processes were used to separate the molecules of polyphenols by the size of membrane pore; analysis by HPLC showed that there was not fractionation of phenolic compounds. Polyphenols are concentrated 1.5 times and 2.4 times for seed-jelly and peel, respectively, by the reverse osmosis process. The antioxidant capacity for the juices were increased 2.4 times. Anthocyanins of the seed-jelly increased 2.6 times. Using the resin FG 5071 XA, the phenolic compounds and the antioxidant capacity were increased in a range between 4 and 5.5 times for the juices and the concentration of anthocyanins was increase 1.8 times in seed-jelly juice.

In the final part of this investigation, in the spray drying It was determined the effect on the content of polyphenols and anthocyanins from clarified concentrated juice from seed-jelly purple red tamarillo. The drying process was performed with three concentrations of maltodextrin, while other variables remained constant. The dehydrated product with the lowest concentration of maltodextrin contained the highest concentration of polyphenols and anthocyanins with values of 842.97 mg gallic acid equivalent / 100 g sample and 3.85 mg equivalent of cyanidin-3-glucoside / g sample respectively.

In conclusion, the application of membrane technology and spray drying allow producing a concentrate powder of polyphenols from seed-jelly purple red tamarillo with a retention of polyphenols and anthocyanins than 80 and 66%, respectively, in the different processes.

INTRODUCCIÓN

El tomate de árbol (*Solanum betaceum Cav.*) es originario de Sudamérica. Los principales países productores son Colombia y Ecuador. La fruta es ovoide alargada de cáscara lisa y brillante. En el Ecuador, las provincias que se destacan en la producción de tomate de árbol son: Imbabura, Pichincha, Tungurahua y Azuay; las variedades reconocidas son cinco: amarillo, criollo redondo, criollo puntón, negro o púrpura y rojo o mora; de éstos los más consumidos son el amarillo y el tomate morado (Feicán, Encalada, & Larriva, 1999).

El tomate de árbol es una buena fuente de provitamina A, vitaminas B₆, C y E, así como de hierro, además contiene compuestos fenólicos. Según el estudio de Vasco (2005), el tomate de árbol morado contiene mayor cantidad de polifenoles que el tomate de árbol amarillo. De las tres fracciones en la que fue dividida la fruta (cáscara, mesocarpio y placenta), la concentración de polifenoles fue mayor en la cáscara; mientras que, el mesocarpio presentó el menor contenido (Calderón, 2007; Vasco, 2005).

Los compuestos fenólicos o polifenoles son metabolitos secundarios sintetizados por las plantas en su desarrollo normal y en respuesta a condiciones de estrés. Constituyen uno de los grupos más numerosos y extensamente distribuidos en el reino vegetal. En el interior de las células, dentro de las vacuolas, se sitúan los compuestos fenólicos solubles; mientras que, los polifenoles insolubles se encuentran en la pared celular (Bravo, 1998; Calderón, 2007; Kroll, Rawel, & Rohn, 2003; Martínez-Valverde, Periago, & Ros, 2000; Nack & Shahidi, 2006; Naczk & Shahidi, 2004; Vasco, 2005). Estudios realizados han demostrado que los polifenoles presentan capacidad antioxidante y que un adecuado consumo de compuestos fenólicos en la dieta puede prevenir enfermedades tales como: alergia y asma, cáncer, diabetes tipo dos, catarata, (Knekt, Kumpulainen, Järvinen, Rissanen, Eliövaara, Reunanen, Hakulinen, & Aromaa, 2002; Leibovitz & Mueller, 1993; Martínez-Flores, González-Gallego, Culebras, & Tuñón, 2002), artritis reumatoidea (Knekt *et al.*,

2002), enfermedades cardiovasculares (Knekt *et al.*, 2002; Leibovitz & Mueller, 1993; Martínez-Flores *et al.*, 2002; Sánchez-Moreno, Jiménez-Escrig, & Saura-Calixto, 2000; Tedesco, Russo, Russo, Iacomino, Russo, Carraturo, Faruolo, Moio, & Palumbo, 2000), además presentan efectos antiinflamatorios y actividad antimicrobiana (Leibovitz & Mueller, 1993).

Por otro lado, el estilo de vida actual de las personas ha generado la necesidad del consumo de alimentos procesados científicos el desarrollo de productos procesados que preserven las características sensoriales, nutricionales y funcionales de los alimentos frescos (Candelas-Cadillo, Alanís-Guzmán, Bautista-Justo, Del Río-Olague, & García-Díaz, 2005; Marcillo, 2010).

Dentro de este contexto, la tecnología de membranas se presenta como una alternativa a los procesos convencionales para el procesamiento de frutas, porque permite obtener jugos clarificados y concentrados con estabilidad microbiológica, buenas características sensoriales y nutricionales preservando los compuestos polifenólicos (Jaeger, Bento, & Trindade, 1998; Marcillo, 2010; Vaillant, Millan, O'Brien, Dornier, Decloux, & Reynes, 1999; Venturini, Dornier, & Belleville, 2003).

La deshidratación es un proceso que elimina por evaporación, la mayor parte del agua de los alimentos y permite poner al alcance del consumidor una mayor variedad de alimentos de cómoda utilización; pero, altera en cierto grado, tanto las características organolépticas como el valor nutritivo de los alimentos. Sin embargo, el manejo de los parámetros del proceso permite reducir al mínimo las modificaciones que experimentan los alimentos (Fellows, 1994).

Si se toman en cuenta las ventajas de la tecnología de membranas y que con la utilización de parámetros adecuados del secado por aspersion es posible obtener un producto de buena calidad, la aplicación de estas dos tecnologías permitirá obtener un producto deshidratado concentrado de los polifenoles del tomate de árbol morado.

1. OBJETIVOS

1.1. OBJETIVO GENERAL

El objetivo general de esta investigación fue obtener concentrados en polvo de polifenoles del tomate de árbol morado, mediante el uso de tecnología de membranas y secado.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Optimizar la extracción de polifenoles de la pulpa y placenta del tomate de árbol utilizando agua y enzimas.
- Optimizar la extracción de polifenoles de la cáscara del tomate de árbol utilizando agua y solventes orgánicos.
- Estudiar el uso de tecnología de membranas y de la resina XA 5071 FG para la separación y concentración de polifenoles del tomate de árbol.
- Cuantificar y evaluar la actividad antioxidante de los polifenoles presentes en las fracciones obtenidas.
- Cuantificar el contenido de polifenoles luego del secado por aspersión.

2. LITERATURA

2.1. GENERALIDADES DEL TOMATE DE ÁRBOL

2.1.1. ORIGEN

El tomate de árbol es una fruta originaria de Sudamérica, es cultivado en Colombia y Ecuador, mientras que en Perú, Chile, Bolivia, Argentina, Brasil y Centro América su cultivo es marginal o se han encontrado poblaciones silvestres. Los principales productores son: Nueva Zelanda, Kenia, Sri Lanka, India, Colombia, Zambia y Zimbabwe (Feicán, Encalada, & Larriva, 1999; García, 2008; Hernández & León, 1992; Quijano & Pino, 2006; Wrolstad & Heatherbell, 1974).

La Clasificación taxonómica del tomate de árbol según Bohs (1994) es la siguiente:

Reino:	Vegetal
División:	Fanerogamas
Subdivisión:	Angiospermae
Clase:	Dicotiledoneae
Subclase:	Simpetalas
Orden:	Tubiflorales
Familia:	Solanaceae
Género:	Cyphomandra
Especie:	betaceum

2.1.2. DESCRIPCIÓN

El tomate de árbol es un arbusto que puede alcanzar una altura de 2 a 5 m, con hojas grandes, alternas, sencillas, de color verde oscuro o brillante. Las flores son fragantes, están portadas en pequeños racimos axilares (Figura 1). El cáliz se forma de una base semejante a una campana de cinco dientes agudos. La corola está conformada por cinco pétalos largos de color rosado o blanco, unidos por la base (Bohs, 1994).



Figura 1. Tomate de árbol (*Solanum betaceum Cav*)

El fruto es una baya con forma ovalada, redonda o acorazonada. La cáscara es lisa, brillante, de sabor desagradable y de color verde claro y oscuro cuando el fruto es joven, al madurar el color varía de acuerdo con la variedad. El mesocarpio es firme, succulento y blando. La placenta, que contiene a las semillas, es suave, jugosa, de olor agradable y sabor dulce, astringente y ligeramente ácido, de color rojo púrpura o amarillo; las semillas son de color blanco amarillento, aplanadas y redondas (Calderón, 2007; Feicán *et al.*, 1999; García, 2008; Hernández & León, 1992; Manzano & Díaz, 2002; Mwithiga, Mukolwe, Shitanda, & Karanja, 2007; Quijano & Pino, 2006; Wrolstad & Heatherbell, 1974).

Según Feicán *et al.* (1999) existen cinco variedades de tomate de árbol que presentan variaciones en tamaño, forma y color de los frutos y son las siguientes:

Variedad anaranjado puntón. Los frutos maduros presentan la cáscara, pulpa y placenta de color anaranjado; alcanzan un peso de 75 g, una longitud de 6,8 cm y un diámetro de 4,6 cm.

Variedad anaranjado redondo. El color de la pulpa es anaranjado. Es poco cultivada y comercializada.

Variedad anaranjado gigante. El color de la pulpa y placenta es anaranjado; los frutos alcanzan un peso de 118 g, una longitud de 7,0 cm, un diámetro de 6,0 cm. Esta variedad es muy apreciada por el mercado.

Variedad morado neocelandés. El color de la pulpa es anaranjado y la placenta es de color rojo oscuro a morado. El fruto alcanza un peso de 85 g, una longitud de 6,4 cm y un diámetro de 4,6 cm. La piel es de color rojizo oscuro.

Variedad morado gigante. El color de la pulpa es anaranjado; la placenta tiene un color rojo oscuro a morado, los frutos alcanzan un peso de 117 g, una longitud de 8,0 cm y un diámetro de 5,8 cm. El color de la piel es rojizo oscuro (Feicán *et al.*, 1999).

2.1.3. USOS Y VALOR NUTRITIVO DEL TOMATE DE ÁRBOL

En Ecuador, el tomate de árbol generalmente se consume crudo o cocinado en jugos, jaleas, helados, purés y como fruta fresca cuando está maduro. La cáscara se elimina por ser de sabor amargo. Es frecuente utilizar los frutos como postre, cocinados en almíbar. Cuando los frutos están tomando coloración anaranjada se utilizan para preparar una salsa conjuntamente con ají (*Capsicum pubescens* R. & P.). Esta salsa picante se consume como un aperitivo. En algunos lugares de la sierra peruana los frutos del tomate de árbol sustituyen en los guisos al tomate (*Lycopersicon* sp.). Otras opciones que podrían tener buena aceptación son la elaboración de néctar, vino y té de tomate de árbol (Calderón, 2007; García, 2008; Hernández & León, 1992; Manzano & Díaz, 2002; Mwithiga *et al.*, 2007; Quijano & Pino, 2006).

El tomate de árbol es una excelente fuente de vitamina A, B₆ (piridoxina), C, E (α -tocoferol) además de hierro (Boyes & Strübi, 1997; Calderón, 2007;

Hernández & León, 1992). La composición química del tomate de árbol por cada 100 g de fruto comestible se encuentra en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición química del tomate de árbol por cada 100 g de la porción comestible del fruto

Agua (g)	82,7 – 87,8
Proteína (g)	1,5
Carbohidratos (g)	10,3
Grasa (extracto etereo) (g)	0,06 - 1,28
Fibra (g)	1,4 - 4,2
Ceniza (g)	0,61 - 0,84
Calcio (mg)	3,9 -11,3
Fósforo (mg)	52,5 – 65,5
Hierro (mg)	0,66 - 0,94
Carotenos (mg)	0,371 - 0,653
Tiamina (mg)	0,038 – 0,137
Riboflavina (mg)	0,035 – 0,048
Ácido Ascorbico (mg)	23,3 – 33,9

Fuente: (Calderón, 2007)

Además de los nutrientes mencionados antes, el tomate de árbol contiene compuestos fenólicos. Así, varias antocianinas fueron aisladas en el estudio realizado por Wrolstad & Heatherbell (1974) e identificadas como pelargonidina-3-rutinósido, pelargonidina-3-glucósido, cianidina-3-rutinósido, cianidina-3-glucósido, delfinidina-3-rutinósido y delfinidina-3-glucósido. La placenta presentó una alta concentración de antocianinas, la de mayor concentración fue la delfinidina-3-rutinósido. La pulpa, de color anaranjado, contiene flavonas y una baja concentración de antocianinas. La antocianina de mayor concentración en la cáscara es la cianidina-3-rutinósido, así como flavonas y leucoantocianinas en menor cantidad (Wrolstad & Heatherbell, 1974). Según Vasco (2005), la cáscara del tomate de árbol morado gigante contiene quercetina y miricetina, 942 mg/kg y 340 mg/kg, respectivamente y derivados de ácidos hidroxicinámicos; mientras que, en el mesocarpio o pulpa se encontraron solo ácidos hidroxicinámicos.

2.2. COMPUESTOS FENÓLICOS

Los compuestos fenólicos o polifenoles son sustancias químicas sintetizadas por las plantas en su desarrollo normal y en respuesta a condiciones de estrés como infecciones, heridas y radiación ultravioleta entre otros. Constituyen uno de los grupos más numerosos y extensamente distribuidos en el reino vegetal con más de 8.000 estructuras de compuestos fenólicos conocidas (Bravo, 1998; Calderón, 2007; Kroll *et al.*, 2003; Martínez-Valverde *et al.*, 2000; Nack & Shahidi, 2006; Naczk & Shahidi, 2004; Vasco, 2005).

Los polifenoles son metabolitos secundarios que son sintetizados principalmente por las rutas del ácido shikímico y de los poliacetatos. La distribución de los polifenoles en los tejidos y células vegetales varía considerablemente de acuerdo al tipo de compuesto químico que se trate, los compuestos fenólicos solubles se sitúan en el interior de las células dentro de las vacuolas; mientras que, los polifenoles insolubles se encuentran en la pared celular (Bravo, 1998; Calderón, 2007; Martínez-Valverde *et al.*, 2000; Nack & Shahidi, 2006; Naczk & Shahidi, 2004).

En las células vegetales los compuestos fenólicos contribuyen a la resistencia mecánica de las paredes celulares, actúan como metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas y como agentes protectores frente a la acción de patógenos, son secretados como mecanismo de defensa (Martínez-Valverde *et al.*, 2000; Nack & Shahidi, 2006; Naczk & Shahidi, 2004; Vasco, 2005).

Los polifenoles son parcialmente responsables de la calidad sensorial y nutricional de los alimentos de origen vegetal, tanto frescos como procesados. El contenido de compuestos fenólicos como los taninos condensados dan a los alimentos y bebidas la astringencia y el sabor amargo. Las antocianinas son responsables de los colores rojo, azul, violeta, naranja y púrpura de la mayoría de las plantas y sus productos. Los flavonoides son también responsables de cambios no deseables

tales como el pardeamiento de las superficies cortadas de frutas tales como manzanas, peras, melocotones y ciruelas; como resultado de la oxidación enzimática de compuestos fenólicos endógenos a quinonas (Bravo, 1998; Martínez-Valverde *et al.*, 2000; Murcia, Parras, Jiménez, Vera, & Martínez, 2002).

2.2.1. ESTRUCTURA Y CLASIFICACIÓN

Los compuestos fenólicos son sustancias químicas que poseen un anillo de benceno, con uno o más grupos hidróxidos incluyendo derivados funcionales (ésteres, metil ésteres, glicósidos, etc.). La forma más común de encontrarlos en la naturaleza es en forma de glicósidos, son solubles en agua y solventes orgánicos. Los azúcares asociados a los polifenoles pueden ser monosacáridos, disacáridos o incluso oligosacáridos. Los compuestos a los que se encuentran unidos con más frecuencia son: glucosa, galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa y ácidos glucurónico y galacturónico. También pueden encontrarse unidos a ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas, lípidos y a otros compuestos fenólicos (Bravo, 1998; Martínez-Valverde *et al.*, 2000).

Los compuestos fenólicos se pueden agrupar en diferentes clases dependiendo de su estructura química básica. En la tabla 2 se presenta un esquema donde se identifican, de manera sencilla, los grupos y subgrupos principales por su presencia en los alimentos y sus implicaciones en la salud (Murcia *et al.*, 2002).

Tabla 2. Diferentes grupos de compuestos fenólicos y estructuras representativas

Grupo	Subgrupo	Ejemplos	Esqueleto base
1. Fenoles y ácidos fenólicos	Fenoles sencillos	Hidroquinona, vainillina, alcohol salicílico	C ₆
	Estíbenos Ác. fenólicos	Resveratrol Ác. Benzoico, ác. P-hidroxibenzoico (PABA) Ác. gálico Ác. o y p-cumárico, ác. cafeico, ác. ferúlico, eugenol, tirosina Ác. clorogénico, cinarina Ác. rosmarínico	C ₆ - C ₂ - C ₆ C ₆ - C ₁ C ₆ - C ₃
2. Cumarinas	Sencillas C-prednizada	Aesculetin Suberosina	C ₆ - C ₃

	Dicumarinas	Dicumarol	
3. Lignanós	Simples Ciclolignanós	Podofilotoxina, peltatinas Silibina, silidianina, silicristina, silimarina (n=9)	$(C_6-C_3)_2$ $(C_6-C_3)_n$
	Flavanolignanós Lignina		
4. Flavonoides y compuestos relacionados	Flavonoles Flavanololes	Quercetina, kaempferol, miricetina Dihidroquercetina, dihidrokaempferol	$C_6-C_3-C_6$
	Flavonas	Nobiletina, diosmetina, tangeritina, apigenina, luteolina	
	Flavanonas Chalconas	Hesperidina, naringenina, naringina, hesperidina, eriotricina, naritulina	
	Isoflavonoides Antocianidinas	Chalconaringenina, buteína	
	Catequinas (flavan-3-ol)	Cianidina, catequina, iricetina, malvidina	
	Leucoantocianidinas (flavan-3-4-diol)	Delfinidina, cianidina, peonidina, Pelargonidina, petunidina Catequina Leucopelargonidina	
5. Taninos	Taninos hidrolizables Taninos condensados (catequínicos o proantocianidinas)	Galotaninos, elagitaninos Polímero flavánico (flavan-3-ol), procianidina	$(C_6-C_3-C_6)_n$
6. Quinonas y antracénósidos	Benzoquinonas	Plastoquinonas, ubiquinona (coenzima Q)	C_6
	Naftoquinonas	Plumbagóna, juglóna, vitamina K	C_6-C_4
	Antraquinonas	Emodina, aloemodina, ác. carmínico, Crisofanol, alizarina, reína	$(C_6-C_2-C_6)$
	Antracilínona Oxantronas	Tetracilinas	$C_6-C_3-C_3-C_6$
	Antronas Dihidroantranoles	Aloína, crisaloína	

Fuente: (Murcia *et al.*, 2002)

Los compuestos fenólicos de mayor importancia en la dieta son los ácidos fenólicos, (ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos), los taninos (hidrolizables y condensados) y los flavonoides con más de 4.000 compuestos caracterizados (Calderón, 2007; Kroll *et al.*, 2003; Vasco, 2005). Los compuestos fenólicos identificados en el tomate de árbol morado gigante pertenecen a los ácidos fenólicos y flavonoides.

2.2.1.1. Ácidos fenólicos

Ácidos hidroxibenzoicos

Los derivados del ácido hidroxibenzoico tienen una estructura general C₆-C₁, (por ejemplo ácido salicílico y ácido gálico) como se ilustra en la Figura 2.

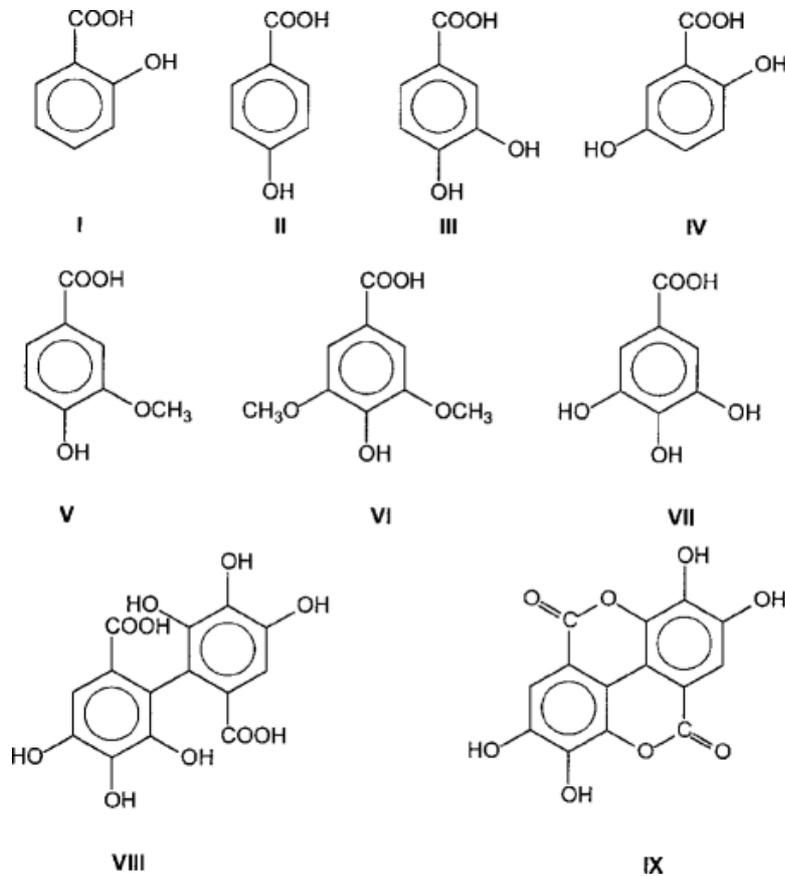


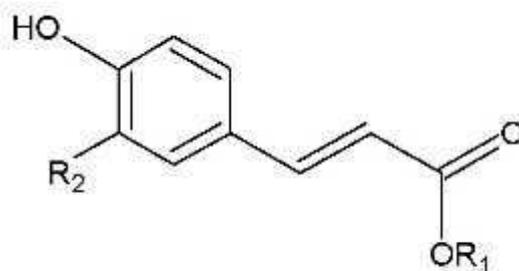
Figura 2. Ácidos hidrobenczoicos: I ácido salicílico; II ácido 4-hidroxibenzoico; III ácido protocatéquico; IV, ácido gentísico; V, ácido vanílico; VI, ácido siríngico; VII, ácido gálico; VIII, ácido elágico; IX, ácido hexahidroxidifenico .

Fuente: Tomás-Barberán & Clifford (2000)

La estructura básica puede cambiar debido a hidroxilaciones y metilaciones del anillo aromático. Por regla general los ácidos hidroxibenzóicos están presentes en su forma conjugada, aunque estos pueden ser también detectados como ácidos libres en algunas frutas después de ser liberados en la maduración o más importante, durante el procesamiento de alimentos (Calderón, 2007; Kroll *et al.*, 2003; Macheix, Fleuriet, & Billot, 1990).

Ácidos hidroxicinámicos

Se encuentran ampliamente distribuidos en los tejidos vegetales, siendo los más importantes el ácido cumárico, caféico, felúrico y sinápico.



R1	R2	Nombre
H	H	Ácido <i>para</i> -coumárico
Ácido Tartárico	H	Ácido <i>para</i> -cumariltartárico
Ácido Quínico	H	<i>para</i> -cumarilquínico
Glucosa	H	<i>para</i> -cumarilglucosa
H	OH	Ácido cafeico
Ácido Tartárico	OH	Ácido cafeiltartárico
Ácido Quínico	OH	Ácido cafeilquínico
H	OCH3	Ácido ferúlico
Ácido Tartárico	OCH4	Ácido feruliltartárico
Ácido Quínico	OCH5	Ácido ferulilquínico
Glucosa	OCH6	ferulilglucosa

Figura 3. Estructura de los ácidos hidroxicinámicos y sus derivados.
Fuente: Bengoechea *et al.* (1995)

Su fórmula general es C₆-C₃ (Figura 3), pero el conjugado más conocido es el ácido clorogénico. La amplia distribución y alta concentración de ácidos cinámicos en frutas puede deberse, en parte, a que juegan un papel clave en la biosíntesis de otros compuestos fenólicos más complicados (Calderón, 2007; Martínez-Valverde *et al.*, 2000; Murcia *et al.*, 2002).

2.2.1.2. Flavonoides

Son compuestos de bajo peso molecular caracterizados por poseer una configuración C₆-C₃-C₆, comparten el esqueleto común de difenilpiranos: dos anillos benceno unidos a través de un anillo pirona o pirán heterocíclico (Figura 4)

Esta estructura básica presenta o permite una multitud de sustituciones y variaciones del anillo pirona dando lugar a 12 subclases.

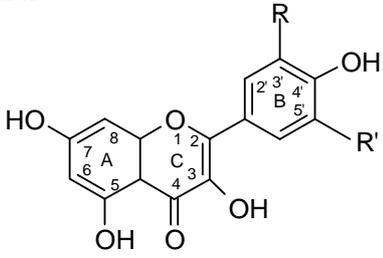
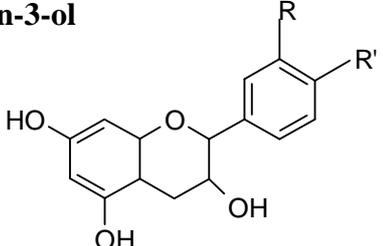
Los flavonoides son generalmente extraídos del material vegetal con metanol, etanol y agua o sus combinaciones, pero en algunos casos estos solventes son acidificados (Kuskoski, Asuero, García-Parilla, Troncoso, & Fett, 2004; Macheix *et al.*, 1990; Pokorny, Yanishlieva, & Gordon, 2005; Vasco, 2005).

De las diferentes clases de flavonoides, tres se encuentran muy extendidas en las frutas y son cuantitativamente dominantes: antocianinas, flavonoles y flavan-3-ols. La diversidad y complejidad de los flavonoides de las frutas depende de dos factores:

- primero, la variedad de la aglicona y el alto número de glucósidos posible
- segundo, la posibilidad de condensación en moléculas complejas, como los taninos condensados (Macheix *et al.*, 1990).

2.2.2. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

El oxígeno es esencial para la vida humana pero también es altamente tóxico debido a la formación de sustancias químicas llamadas radicales libres, que son moléculas inestables por tener al menos un electrón desapareado. Las moléculas de radicales libres pueden reaccionar con cualquier molécula causando daño químico. Cuando esto ocurre en un organismo viviente, puede llevar a la lesión celular y a la enfermedad (Schmidl & Labuza, 2000).

<p>Flavonol</p> 	R	R'	
	H	H	Quempferol
	OH	H	Quercetina
<p>Flavan-3-ol</p> 	R	R'	

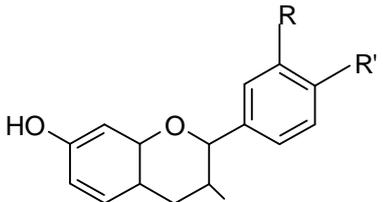
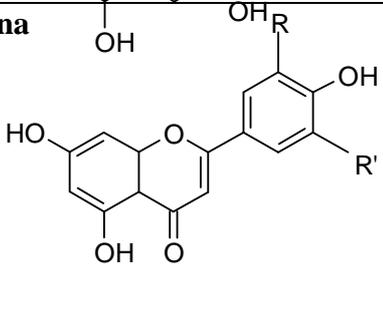
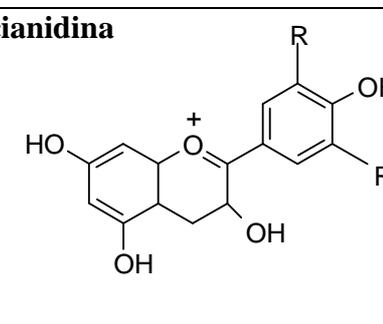
	OH	OH	Catequina
<p>Flavona</p> 	R	R'	
	H	H	Apigenina
	OH	H	Luteolina
<p>Antocianidina</p> 	R	R'	
	OH	H	Cianidina
	OCH ₃	OCH ₃	Malvidina

Figura 4. Estructura de las principales subclases de los flavonoides.
Fuente: (Leighton, Urquiaga, & Diez, 1997)

La producción no controlada de radicales libres en el organismo está asociada con varias enfermedades humanas como: cáncer, artritis reumatoidea y arterosclerosis, así como también a procesos degenerativos asociados con el envejecimiento. Varios mecanismos han sido desarrollados en los organismos vivos para limitar los niveles de estas especies reactivas del oxígeno y el daño que ellos infligen. Incluidos entre estos están enzimas endógenas como superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa. En adición a estos mecanismos endógenos se encuentran moléculas que no pueden ser sintetizadas por el cuerpo y que son obtenidas de la dieta, como vitamina E, vitamina C y los compuestos fenólicos (Knekt *et al.*, 2002; Schmidl & Labuza, 2000; Tedesco *et al.*, 2000).

Estudios realizados han demostrado que los polifenoles presentan capacidad antioxidante y que un adecuado consumo de compuestos fenólicos en la dieta puede prevenir enfermedades tales como: alergia y asma, cáncer, diabetes tipo

dos, catarata, (Knekt *et al.*, 2002; Leibovitz & Mueller, 1993; Martínez-Flores *et al.*, 2002), artritis reumatoidea (Knekt *et al.*, 2002), enfermedades cardiovasculares (Knekt *et al.*, 2002; Leibovitz & Mueller, 1993; Martínez-Flores *et al.*, 2002; Sánchez-Moreno *et al.*, 2000; Tedesco *et al.*, 2000), además presentan efectos antiinflamatorios y actividad antimicrobiana (Leibovitz & Mueller, 1993).

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos tiene interés desde un punto de vista tecnológico y nutricional, ya que se podrían obtener productos con un alto contenido de compuestos fenólicos naturales reduciendo la utilización de aditivos antioxidantes, a la vez que los alimentos serían más saludables y llegarían a englobarse dentro de los alimentos funcionales (Martínez-Flores *et al.*, 2002; Martínez-Valverde *et al.*, 2000).

2.3. TECNOLOGÍAS DE ALIMENTOS Y POLIFENOLES

2.3.1. UTILIZACIÓN DE ENZIMAS

El color del vino rojo es una de sus propiedades más importantes y su estabilidad está directamente relacionada con la calidad, así que técnicas que mejoren este factor son de mucho interés. La adición de enzimas directamente al mosto es una práctica común usualmente empleada para facilitar la extracción de compuestos fenólicos durante la vinificación. Preparaciones enzimáticas usadas contienen: poligalacturonasas, pectin liasas, hemicelulasas, celulasas y ocasionalmente glicosidasas, que degradan los polisacáridos estructurales de las células de las uvas y facilitan la liberación de los compuestos fenólicos, incrementado su contenido (Guadalupe, Palacios, & Ayestarán, 2007; Kammerer, Claus, Schieber, & Carle, 2005; Rogerson, Vale, Grande, & Silva, 2000).

En este sentido existen varios estudios sobre la utilización de enzimas para incrementar el contenido de polifenoles en bebidas. En el estudio realizado por Guadalupe *et al.* (2007) se determinó que tratamientos enzimáticos aplicados al mosto, incrementan los valores del índice total de polifenoles y producen vinos con una fuerte intensidad de color visual y astringencia. Resultados similares fueron obtenidos por Rogerson *et al.* (2000) al utilizar enzimas pectinolíticas en el

procesamiento del vino de oporto. Mientras Kammerer *et al.* (2005) utilizando enzimas, establecieron un proceso para la recuperación de polifenoles del mosto de uva, a nivel de planta piloto. En cuanto al procesamiento de jugos de arándano y grosella negra, al utilizar preparaciones enzimáticas, el contenido y composición de antocianinas fueron afectados y se observó un incremento del contenido de compuestos fenólicos de 13 a 41 % en arándano y de 18 a 29 % en grosella negra (Buchert, Koponen, Suutarinen, Mustranta, Lille, Törrönen, & Poutanen, 2005).

2.3.2. UTILIZACIÓN DE SOLVENTES ORGÁNICOS

La distribución de los polifenoles en las plantas no es uniforme, los polifenoles insolubles se encuentran en la pared celular y los polifenoles solubles en el interior de las células vegetales, por lo que la extracción de los compuestos fenólicos depende de la naturaleza química de los compuestos fenólicos, el método de extracción empleado, el tamaño de partícula de la muestra, el tiempo y condiciones de almacenamiento de la muestra (Bravo, 1998; Nack & Shahidi, 2006; Naczk & Shahidi, 2004; Taiz & Zeiger, 1991).

La recuperación de polifenoles de tejidos vegetales está influenciada también por la relación muestra:solvente, por las variaciones del tamaño de partícula de la muestra y por la presencia de sustancia de interferencia como el ácido ascórbico, algunos azúcares reductores y amino ácidos (Georgé, Brat, Alter, & Amiot, 2005; Nack & Shahidi, 2006; Naczk & Shahidi, 2004).

Los ácidos fenólicos libres y esterificados pueden ser extraídos de aceite de semillas usando una mezcla de metanol-acetona-agua (7:7:6,v/v/v). Los flavonoides son comúnmente extraídos del tejido vegetal con metanol, etanol, agua o sus combinaciones, pero en algunos casos estos solventes son acidificados. Las antocianinas son comúnmente extraídas con metanol acidificado que destruye las membranas celulares y simultáneamente disuelve y estabiliza las antocianinas (Macheix *et al.*, 1990; Nack & Shahidi, 2006; Naczk & Shahidi, 2004).

2.3.3. TECNOLOGÍA DE MEMBRANAS

Los alimentos y bebidas juegan un rol muy importante en la vida del ser humano, proporcionando los nutrientes esenciales para las actividades diarias, incluyendo el mantenimiento celular, crecimiento y reproducción. La separación de uno o más componentes de una mezcla compleja es un requerimiento en muchas operaciones de la industria de alimentos y biotecnología. El objetivo de las separaciones es lograr la remoción de componentes específicos para incrementar el valor agregado del producto que puede ser el residuo, los componentes extraídos o ambos (Grandinson & Lewis, 1996).

Se han desarrollado varios procesos utilizando las membranas sintéticas, Carneiro, dos Santos, dos Santos, Martins, y Corrêa (2002) estudiaron el proceso de la microfiltración tangencial para clarificar y esterilizar en frío jugo de piña, utilizando una membrana tubular de polietersulfona con un tamaño de poro de 0,3 μm . Jaeger *et al.* (1998) utilizaron microfiltración y ultrafiltración para producir jugo clarificado de piña con membranas de polisulfona y cerámicas de varios tamaños de poro, encontrando que la membrana de polisulfona de 50 kDa presentó la mayor eficiencia para remover taninos y pectina. Mientras que en la microfiltración de marañón Pereira, Sabino, Blumemberg, Martins, Corrêa, y Couri (2002) observaron un incremento del contenido de taninos totales en el clarificado que podría deberse al calentamiento de la pulpa y a la acción de las enzimas adicionadas. También se han realizado estudios de microfiltración tangencial de jugos de maracuyá, manzana y naranja en los que se determinaron que la microfiltración tangencial es una técnica que puede ser aplicada en la industria como una pasteurización en frío, que preserva las características organolépticas de la fruta (Vaillant *et al.*, 1999; Venturini *et al.*, 2003; Zárate-Rodríguez, Ortega-Rivas, & Barbosa-Cánovas, 2001).

Otra aplicación de la tecnología de membranas es la recuperación de moléculas de interés. Así, la ultrafiltración ha sido utilizada en la recuperación de proteína del jugo de patata en la investigación de Zwijnenberg, Kemperman, Boerrigter, Lotz, Dijksterhuis, Poulsen, y Koops (2002) obteniendo mejores propiedades

organolépticas que con la aplicación de los métodos tradicionales. En cambio en el estudio realizado por Bailey, Barbe, Hogan, Johnson, y Sheng (1999) la ultrafiltración es utilizada como pre tratamiento para mejorar la destilación osmótica de jugo de uva, incrementando los flujos del proceso.

En la industria azucarera las dos principales aplicaciones de la micro y ultrafiltración son la clarificación y la decoloración de soluciones. Decloux, Tatoud, y Mersad (1999) concluyen que la microfiltración de jarabe de azúcar de la caña roja produce una buena clarificación pero decolora poco y no retiene los polisacáridos, por el contrario, en la ultrafiltración la clarificación es prácticamente total, la decoloración es superior al 45 % y sobre todo la retención de polisacáridos es muy eficaz.

Por otra parte la concentración de jugos de fruta se realiza industrialmente para reducir los costos de almacenamiento, empaquetado, manejo y envío. Una técnica de concentración de jugos de fruta es la ósmosis inversa, así, para obtener jugo concentrado de acerola, Matta, Moretti, y Cabral (2004) utilizaron microfiltración como una operación previa para obtener el concentrado por ósmosis inversa, el jugo clarificado fue concentrado de 7 °Brix hasta 29.2 °Brix y el contenido de vitamina C se concentró en 4,2 veces de 1.234 mg/100g en el jugo clarificado a 5.229 mg/100g en el jugo concentrado. Otra técnica para concentrar jugos es la destilación osmótica que fue empleada por Cassano, Jiao, y Drioli (2004) en su estudio de concentración de Jugo de kiwi clarificado por ultrafiltración.

La microfiltración tangencial es un sistema que puede ser usado eficientemente para la concentración y purificación de pectina de cáscara de mandarina (Chang-Wo, Do-Youn, & Chan-Wa, 2003). El fraccionamiento de antocianinas poliméricas y monoméricas del jugo de uva por ultrafiltración fue realizado por Kalbasi & Cisneros-Cevallos (2007), demostrando que la tecnología de membranas puede ser usada para obtener fracciones de antocianinas monoméricas y poliméricas con potenciales efectos en el color y propiedades bioactivas.

2.3.4. RESINAS

Existe un creciente interés por la obtención de colorantes de origen natural que reemplacen a los colorantes sintéticos. Las antocianinas proporcionan colores atractivos como el naranja, rojo y azul. Al ser solubles en agua, se facilita su incorporación en sistemas alimenticios acuosos y tienen potenciales beneficios para la salud (Liu, Xiao, Chen, Xu, & Wu, 2004; Liu, Yang, Xu, Zhao, Gao, & Wang, 2007; Scordino, Di Mauro, Passerini, & Maccarone, 2004; Silva, Pompeu, Larondelle, & Rogez, 2007).

La purificación a través de adsorción en resinas está basada en diferencias en el peso molecular, polaridad, o la forma diferente de las moléculas de la solución, estas propiedades dan como resultado diferencias en la afinidad por el adsorbente (Liu *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2007). Las resinas absorbentes son polímeros no polares o ligeramente hidrofílicos con una alta capacidad de adsorción y de recuperación de las moléculas adsorbidas, con un costo relativamente bajo y de fácil regeneración (Liu *et al.*, 2004; Scordino *et al.*, 2004).

Las resinas son un material efectivo para purificar mediante adsorción las antocianinas de diferentes orígenes y han sido ampliamente usadas en investigación y en la producción de antocianinas como colorantes naturales (Liu *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2007; Scordino *et al.*, 2004; Silva *et al.*, 2007). Así, Chandra, Nair, y Iezzoni (1993), en su trabajo aisló y estabilizó antocianinas de la cereza ácida (guindo) utilizando la resina XAD-2. La adsorción de cianidina-3-glucósido en soluciones acuosas fue estudiada por Scordino *et al.* (2004) a pH 3,5 y 20 °C utilizando 13 resinas comerciales con diferente hidrofobicidad, área superficial y tamaño de poro, los mejores resultados fueron obtenidos con la resina EXA-118. En la investigación de Liu *et al.* (2004), la extracción y purificación de antocianinas de mora utilizando resinas es descrita como un método eficaz para la producción industrial de colorantes para alimentos. En el estudio de optimización de la adsorción de polifenoles de las hojas de *Inga edulis* en resinas macroporosas, utilizando una metodología de diseño experimental; Silva *et al.* (2007) determinaron que la resina que presentó los mejores resultados en el proceso de adsorción fue XAD-7, alcanzando un alto contenido de polifenoles.

2.3.5. DESHIDRATACIÓN

La deshidratación es un proceso mediante el cual se elimina la mayor parte del agua de los alimentos, por evaporación, aplicando generalmente calor. Esta técnica permite poner al alcance del consumidor una mayor variedad de alimentos de más cómoda utilización, pero altera en cierto grado, tanto las características organolépticas, como el valor nutritivo de los alimentos. Uno de los objetivos en el diseño y manejo de las instalaciones de deshidratación consiste en conseguir reducir al mínimo las modificaciones que los alimentos experimentan durante el proceso, utilizando los parámetros de proceso adecuados para cada alimento en particular (Fellows, 1994). Así, Maldonado y Pacheco-Delahaye (2003) estudiaron la deshidratación del brócoli y coliflor a diferentes temperaturas, observando que la temperatura de bulbo seco afectó significativamente el descenso de la humedad del sólido, la velocidad y tiempo de secado de ambos vegetales.

Varios estudios sobre el efecto del secado en los compuestos fenólicos han sido realizados por varios investigadores. Así, Lohachompol, Szrednicki, y Craske (2004) estudiaron el efecto del secado sobre el contenido de antocianinas totales como cianidina 3-rutinósido del arándano; utilizaron un deshidratador de armario, encontrando que el contenido de antocianinas disminuyó de 7,2 mg/g muestra en base seca de la fruta fresca a 4,3 mg/g de muestra del producto seco, sin embargo no existió diferencia significativa en la actividad antioxidante de la fruta fresca y el arándano seco. Mientras que en la deshidratación del concho de cáscara de uva utilizando un deshidratador de armario, realizada por Larrauri, Rupérez, y Saura (1997) determinaron que el contenido de polifenoles, color y actividad antioxidante no se afecta significativamente en el proceso de secado a 60 °C, en tanto que a 100 y 140 °C se produjo una disminución de estos. G. Hernández y Moreno (2000), ensayaron tres técnicas de secado: convección forzada, convección libre y secado a temperatura ambiente para estudiar el efecto del secado sobre los carotenoides del pericarpio acondicionado con ácido cítrico del tomate de árbol. El tratamiento más adecuado fue el secado a temperatura ambiente y con el acondicionamiento en una solución del 0.5% (p/v) de ácido cítrico. Mientras que el contenido de licopeno en jugo de tomate secado por aspersión fue estudiado por Candelas-Cadillo *et al.* (2005) utilizando dos

temperaturas del aire de entrada (170 y 180 °C) y concentraciones de maltodextrina de 80 y 100 % en base a sólidos solubles totales del tomate. El mejor tratamiento fue el de 180 °C y 100 % de maltodextrina ya que el polvo presentó mayor estabilidad del licopeno y las mejores propiedades de color y humedad.

3. RESUMEN DEL TRABAJO

Los polifenoles son compuestos ampliamente distribuidos en frutas y alimentos de origen vegetal, tradicionalmente han sido considerados como antinutrientes, pero en la actualidad se han estudiado sus potenciales beneficios para la salud; ya que poseen propiedades antioxidantes y antimutagénicas. Por esto el consumo de frutas está asociado con la reducción del riesgo de sufrir enfermedades crónicas, enfermedades del corazón, algunos tipos de cáncer y procesos inflamatorios. Estudios del contenido de polifenoles de frutas ecuatorianas demostraron que el tomate de árbol morado, es una de las que presenta un alto contenido de polifenoles respecto a las otras frutas. Al consumo de este tomate de árbol, que es cultivado principalmente en Colombia y Ecuador, se le ha asociado la propiedad de bajar el colesterol y la protección contra enfermedades degenerativas. La fracción de la fruta que contiene la mayor concentración de dichos compuestos es la cáscara, sus principales antioxidantes son miricetina y derivados de ácidos hidroxicinámicos; mientras que, en la placenta se encuentran ciertas antocianinas, como la cianidina-3-rutinósido, las flavonas y las leucoantocininas.

El objetivo de este trabajo fue obtener concentrados deshidratados de los polifenoles del tomate de árbol morado, utilizando la tecnología de membranas y la deshidratación por aspersión. Para lo cual, inicialmente se fraccionó el fruto en mesocarpio, placenta y cáscara.

La extracción de los polifenoles con hidrólisis enzimática se realizó en el mesocarpio, placenta y cáscara por separado y con solventes orgánicos únicamente para la cáscara. Los cocteles enzimáticos fueron Pectinex® ultra SP-L, Pectinex® BE XXL, Cellubrix® y Rapidasa vegetable juice®. Las muestras se prepararon con las siguientes relaciones en peso: mesocarpio:agua 1:2, placenta:agua 1:1 y cáscara:agua 1:4. En el proceso se varió la temperatura (20 y 30°C) y la concentración de enzima (0,5 y 1 mL de coctel enzimático/kg de muestra). La determinación del contenido de polifenoles se realizó en los sobrenadantes aplicando el método de Folin-Ciocalteu's y las antocianinas con el método del diferencial de pH descritos por Bravo (1998) y Giusti y Wrolstad (2001). Los resultados se expresaron como fracción de polifenoles y antocianinas presentes en el sobrenadante respecto al tiempo cero. En la extracción del mesocarpio con agua a 20 y 30 °C el contenido de polifenoles disminuye hasta un 15,62 y 28,63 %, a los 100 min, respectivamente (revisar el Artículo I). En la extracción por hidrólisis enzimática de los polifenoles del mesocarpio el contenido disminuye con el tiempo para todos los tratamientos. Sin embargo, el porcentaje de pérdida en la hidrólisis enzimática con Rapidasa vegetable juice® a 30 °C y 1ml/kg de muestra hasta los 90 min, fue alrededor del 1 %. Para la extracción de polifenoles y antocianinas de la placenta se utilizó Pectinex® BE XXL y Rapidasa vegetable juice®; en general, el contenido de polifenoles y antocianinas fue ligeramente mayor, alcanzando un 3,25 y 1,7 % de incremento respectivamente; estos resultados se obtuvieron a los 30 min con Rapidasa vegetable juice® a 30 °C y 1ml/kg de muestra. Para la extracción de polifenoles de la cáscara se utilizó Pectinex® BE XXL y Rapidasa vegetable juice®, y se obtuvo una mayor extracción de los polifenoles con la segunda a 20°C y 1ml/kg de muestra, el incremento a los 30 min fue del 50%, y este se mantuvo hasta los 90 min.

En la cáscara se realizó la extracción con soluciones de solventes orgánicos en las siguientes relaciones en peso: cáscara:agua 1:4, cáscara:acetona:agua 1:2:2, cáscara:etanol:agua 1:2:2 y cáscara:acetona:etanol 1:2:2; a dos temperaturas (20 y 30 °C). La determinación del contenido de polifenoles se realizó en los sobrenadantes, los resultados se expresaron como fracción de polifenoles y antocianinas presentes en el sobrenadante respecto al tiempo cero. En la extracción acuosa, la fracción de polifenoles, a los 90 min presentó un incremento

de 167 y 180 % para los tratamientos a 20 y 30 °C, respectivamente (revisar Artículo II). Con la mezcla acetona-etanol, a 20 °C, se obtuvo un incremento del 30 % para y el etanol a 20 °C del 10 %. El tratamiento con etanol a 20 °C permitió una mayor extracción de antocianinas con un incremento del 30 %, mientras que para la mezcla acetona-etanol el contenido de antocianinas no fue detectable. El mayor contenido de polifenoles se obtuvo utilizando agua debido a la cáscara del tomate de árbol tiene quercetina y miricetina que son flavonoides y por tanto son solubles en agua.

Para el procesamiento con tecnología de membrana los frutos fueron pelados manualmente se separó el mesocarpio de la placenta, y se obtuvieron las pulpas respectivas. Previo a la microfiltración tangencial se realizó la hidrólisis enzimática de las pulpas. Se utilizó el coctel enzimático Rapidasa vegetable juice® (1 ml/kg de muestra) por un tiempo de 30 min, a 30 °C para el mesocarpio y 20 °C para placenta y cáscara. Se realizó la extracción alcohólica de la cáscara a 20 °C por 30 min. La separación de sólidos insolubles utilizando microfiltración tangencial se realizó con un equipo marca TIA a 2,5 bar de presión y una temperatura de 30 °C y un flujo de recirculación de 1000 Lh⁻¹. Para la pulpa del mesocarpio se utilizó una membrana cerámica, marca Rhodia de 10 µm de diámetro de poro y para las otras muestras una membrana cerámica, marca Membralox de 0,2 µm de diámetro de poro, ambas con una superficie de 0,2 m². En la clarificación del jugo de mesocarpio con la membrana 10 µm se observó que el flujo de permeado se mantuvo constante a 20 Lh⁻¹m⁻²; mientras que, para el de la placenta el flujo de permeado se estabilizó a 30 Lh⁻¹m⁻²; esto puede deberse a la diferente composición de las dos pulpas, ya que la del mesocarpio presenta una mayor cantidad de sólidos insolubles. Además, para la pulpa de la placenta se realizó la microfiltración con la membrana de 0,2 µm, presentando un mayor rendimiento que la membrana de 10 µm, y el flujo de permeado se estabilizó a 60 Lh⁻¹m⁻² este comportamiento se puede atribuir al diferente tamaño de poro de las membranas. La separación de los sólidos insolubles de la cáscara se realizó con la membrana 0,2 µm observándose que el flujo de permeado del extracto alcohólico fue mayor (336 Lh⁻¹m⁻²) que el flujo del extracto enzimático (32 Lh⁻¹m⁻²). De estos jugos clarificados se separó los compuestos fenólicos utilizando ultra y nano filtración tangencial, con membranas de tamaño de poro 0,2 µm, 0,1 µm, 150 kDa y 15

kDa. Se observó que no existe una influencia importante del diámetro de poro de la membrana en el flujo de permeado, debido probablemente a que la alimentación para todos los procesos fue el jugo clarificado obtenido de la microfiltración y por lo tanto el colmataje de la membrana fue mínimo (Artículo III). En los procesos de microfiltración con las membranas de 10 y 0,2 μm no se produce ningún cambio en la concentración de los polifenoles ya que esta es similar para la alimentación, permeado y retenido (Artículo III). Sin embargo, en los procesos de ultra y nano filtración tangencial se observa una disminución de la concentración de los polifenoles en el permeado. Estos primeros resultados indicarían que al utilizar membranas de tamaño de poro inferior a 0,1 μm , se podría separar polifenoles de diferentes tamaños moleculares utilizando la tecnología de membrana. Sin embargo, al realizar análisis de las fracciones de la placenta obtenidas del proceso de 15 kDa utilizando HPLC se observó que el perfil de polifenoles del permeado es similar al perfil de la alimentación (clarificado obtenido con la membrana de 0,2 μm) y por lo tanto con las membranas utilizadas no se logró el fraccionamiento de los polifenoles utilizando el tamaño de poro como medio de selección.

Además los jugos clarificados de los extractos enzimáticos de placenta y cáscara se concentraron por osmosis inversa a 52 bar y 25 °C utilizando membranas tubulares AFC99 de poliamida, con un área filtrante de 0,9 m^2 y una retención aparente del 99% de NaCl. Por otro lado, se concentraron los jugos clarificados de los extractos enzimáticos del mesocarpio, placenta y cáscara utilizando la resina XA 5071 FG empacada en una columna de vidrio. En los procesos de concentración de los polifenoles del jugo clarificado de placenta utilizando resina, el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante, respecto del jugo clarificado, se incrementaron en 300 y 315 % respectivamente, el contenido de antocianinas se incrementó en un 83%; mientras que en el proceso de osmosis inversa los factores de concentración son inferiores, así, el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante se incrementó en 54 y 143 % respectivamente y el aumento del contenido de antocianinas fue del 160 %. En la concentración del jugo clarificado de cáscara la concentración de polifenoles totales con la resina alcanza un porcentaje de 350 % y la capacidad antioxidante de 257 %; valores superiores a los obtenidos con osmosis inversa que fueron de

147 y 145 % respectivamente (ver Artículo III). Sin embargo, se debe tomar en cuenta que con un mayor volumen de alimentación en el proceso de osmosis inversa se puede obtener una mayor concentración de polifenoles en el retenido.

El concentrado de la placenta obtenido por osmosis inversa se deshidrató por aspersion con un equipo marca Niro Atomizer, provisto de un atomizador rotatorio, con un sistema de alimentación de flujo de aire en co-corriente, a una temperatura de entrada del aire de 180 °C y una temperatura de salida de 105 °C; el flujo de alimentación fue de 600 ml/h. Previamente se acondicionó el jugo clarificado concentrado de placenta con maltodextrina de yuca, se utilizó las relaciones de sólidos solubles en el concentrado: sólidos aportados por la maltodextrina de 1:1; 1:1,5 y 1:2. Por cada gramo de sólidos solubles del concentrado, mediante balance de masa, se calcula la masa de maltodextrina que permitirá obtener un jugo concentrado con 2, 2,5 y 3 veces el contenido inicial de sólidos solubles. El porcentaje de recuperación de los polifenoles fue de 94,5 % para el proceso de secado con la relación de 1:1,5.

El uso de Tecnología de membranas y el secado por aspersion permiten obtener concentrados en polvo de los polifenoles del tomate de árbol morado.

4. BIBLIOGRAFÍA

- Bailey, A., Barbe, A., Hogan, P., Johnson, R., & Sheng, J. (1999). The effect of ultrafiltration on the subsequent concentration of grape juice by osmotic distillation. *Journal of Membrane Science*, 164, 195-204.
- Bohs, L. (1994). *Cyphomandra* (Solanaceae). *Flora Neotropica*, 63, 1-175.
- Boyes, S., & Strübi, P. (1997). Organic acid and sugar composition of three New Zealand grown tamarillo varieties (*Solanum betaceum* (Cav.)). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 25, 79-83.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*, 56, 317-333.
- Buchert, J., Koponen, J., Suutarinen, M., Mustranta, A., Lille, M., Törrönen, R., & Poutanen, K. (2005). Effect of enzyme-aided pressing on anthocyanin yield and profiles in bilberry and blackcurrant juices. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 2548-2556.
- Calderón, D. (2007). Extraxtion of phenolic compounds from tree tomato (*Solanum betaceum* Sent). Master, Universiteit Gent, Gent.
- Candelas-Cadillo, M., Alanís-Guzmán, M., Bautista-Justo, M., Del Río-Olague, F., & García-Díaz, C. (2005). Contenido de licopeno en jugo de tomate secado por aspersion. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 4, 299-307.
- Carneiro, L., dos Santos, I., dos Santos, F., Martins, V., & Corrêa, L. (2002). Cold esterilization and clarification of pineapple juice by tangential microfiltration. *Desalination*, 148, 93-98.
- Cassano, A., Jiao, B., & Drioli, E. (2004). Production of concentrated kiwifruit juice by integrated membrane process. *Food Research International*, 2003, 139-148.
- Chandra, A., Nair, M., & Iezzoni, A. (1993). Isolation and Stabilization of Anthocyanins from Tart Cherries (*Prunus cermug* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 1062-1065.
- Chang-Wo, C., Do-Youn, L., & Chan-Wa, K. (2003). Concentration and purification of soluble pectin from mandarin peels using crossflow microfiltration system. *Carbohydrates Polymers*, 54, 21-26.

- Decloux, M., Tatoud, L., & Mersad, A. (1999). Rétenion des impuretés de refontes de sucre roux de canne par filtration tangentielle. Association AVH - 6^o Symposium, 58-70.
- Feicán, C., Encalada, C., & Larriva, W. (1999). El cultivo del tomate de árbol. Cuenca: Iniap.
- Fellows, P. (1994). Tecnología del procesado de los alimentos: Principios y prácticas (F. Sala, Trans.). Zaragoza: Editorial Acribia, S.A.
- García, M. (2008). Manual de manejo cosecha y poscosecha del tomate de árbol. Bogotá: Corpoica.
- Georgé, S., Brat, P., Alter, P., & Amiot, M. (2005). Rapid Determination of Polyphenols and Vitamin C in Plant-Derived Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1370-1373.
- Grandinson, A., & Lewis, M. (1996). Separation Processes in the Food and Biotechnology Industries. Cambridge, Londres: Woodhead Publishing Limited.
- Guadalupe, Z., Palacios, A., & Ayestarán, B. (2007). Maceration Enzymes and Mannoproteins: A Possible Strategy To Increase Colloidal Stability and Color Extraction in Red Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 4854-4862.
- Hernández, & León, J. (1992). Cultivos marginados otra perspectiva de 1492 (Vol. 26). Roma: FAO.
- Hernández, G., & Moreno, M. (2000). Efecto del secado y del ácido cítrico sobre la degradación de los carotenoides de tamarillo (*Cyphomandra betacea* sendt). *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 2, 228-233.
- Jaeger, L., Bento, C., & Trindade, A. (1998). Clarification of Pineapple Juice (*Ananas comosus* L. Merrill) by Ultrafiltration and Microfiltration: Physicochemical Evaluation of Clarified Juices, Soft Drink Formulation, and Sensorial Evaluation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 2185-2189.
- Kalbasi, A., & Cisneros-Cevallos, L. (2007). Fractionation of Monomeric and Polymeric Anthocyanins from Concord Grape (*Vitis labrusca* L.) Juice by Membrane Ultrafiltration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 7036-7042.

- Kammerer, D., Claus, A., Schieber, A., & Carle, R. (2005). A Novel Process for the Recovery of Polyphenols from Grape (*Vitis vinifera* L.) Pomace. *Journal of Food Science*, 70, 157-163.
- Knekt, P., Kumpulainen, J., Järvinen, R., Rissanen, H., Eliövaara, M., Reunanen, A., Hakulinen, T., & Aromaa, A. (2002). Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *American Journal of Clinical Nutrition* 76, 560-568.
- Kroll, J., Rawel, H., & Rohn, S. (2003). Reactions of Plant Phenolics with Food Proteins and Enzymes under Special Consideration of Covalent Bonds. *Food Science and Technology Research* 9 (3), 205-218.
- Kuskoski, E., Asuero, A., García-Parilla, M., Troncoso, A., & Fett, R. (2004). Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 24 (4), 691-693.
- Larrauri, J., Rupérez, P., & Saura, F. (1997). Effect of Drying Temperature on the Stability of Polyphenols and Antioxidant Activity of Red Grape Pomace Peels, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 1390-1393.
- Leibovitz, B., & Mueller, J. (1993). Bioflavonoids and polyphenols: medical applications. *Journal of Optimal Nutrition*, 2(1), 17-35.
- Leighton, F., Urquiaga, I., & Diez, M. (1997). Propiedades antioxidantes del vino y sus componentes. Artículo presentado en XXII Congreso Mundial de la Vid y del Vino, Buenos Aires.
- Liu, X., Xiao, G., Chen, W., Xu, Y., & Wu, J. (2004). Quantification and Purification of Mulberry Anthocyanins With Macroporous Resins. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 5, 326-331.
- Liu, X., Yang, B., Xu, Z., Zhao, J., Gao, Y., & Wang, L. (2007). Adsorption Characteristics of Anthocyanins from Purple-fleshed Potato (*Solanum tuberosum* Jasim) Extract on Macroporous Resins. *International Journal of Food Engineering*, 3(5).
- Lohachoompol, V., Szrednicki, G., & Craske, J. (2004). The Change of Total Antyocyanins in Blueberries and Their Antioxidant Effect After Drying and Freezing. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 5, 248-252.
- Macheix, J., Fleuriet, A., & Billot, J. (1990). *Fruit phenolics*. Florida: CRC Press, Inc.
- Maldonado, R., & Pacheco-Delahaye, E. (2003). Curvas de Deshidratación del brócoli (*Brassica oleraceae* L var. *Italica* Plenck) y coliflor (*Brassica*

- oleraceae L var. Botrytis L). Revista de la Facultad de Agronomía, 20, 306-319.
- Manzano, J., & Díaz, J. (2002). Características de Calidad en Frutos Almacenados de Tomate de árbol [Cyphomandra betaceae (Cav.) Sendtner]. Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture, 46, 68-69.
- 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. M.Sc. Tesis Escuela Politécnica Nacional, Quito.
- Martínez-Flores, S., González-Gallego, J., Culebras, J., & Tuñón, M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición Hospitalaria, 6, 271-278.
- Martínez-Valverde, I., Periago, M., & Ros, G. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. [Agosto 2008]. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 50(1), 5-18.
- Matta, V., Moretti, R., & Cabral, L. (2004). Microfiltration and reverse osmosis for clarification and concentration of acerola juice. Journal of Food Engineering, 61, 477-482.
- Murcia, M., Parras, P., Jiménez, A., Vera, A., & Martínez, M. (2002). Polifenoles y flavonoides: su importancia en la prevención de enfermedades Nuevos alimentos para nuevas necesidades. Madrid: Nueva imprenta S.A.
- Mwithiga, G., Mukolwe, M., Shitanda, D., & Karanja, P. (2007). Evaluation of the effect of ripening on the sensory quality and properties of tamarillo (Cyphomandra betaceae) fruits. Journal of Food Engineering, 79, 117-123.
- Nack, M., & Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereal, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 41, 1523-1542.
- Naczki, M., & Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. Journal of Chromatography A, 95-111.
- Pereira, D., Sabino, A., Blumentberg, D., Martins, V., Corrêa, L., & Couri, S. (2002). Cashew apple juice stabilization by microfiltration. Desalination, 148, 61-65.

- Pokorny, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M. (2005). *Antioxidantes de los alimentos. Aplicaciones prácticas* (J. Aramayona, Trans.). Zaragoza: Editorial ACRIBIA.
- Quijano, C., & Pino, J. (2006). Análisis de los compuestos volátiles del tomate de árbol (*Cyphomandra Betacea* Sendtn.) mediante microfiltración en fase sólida. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 16, N° 3, 17-22.
- Rogerson, F., Vale, E., Grande, H., & Silva, M. (2000). Alternative Processing of Port-Wine Using Pectolytic Enzymes. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 2, 222-227.
- Sánchez-Moreno, Jiménez-Escrig, A., & Saura-Calixto, F. (2000). Study of low-density lipoprotein oxidizability indexes to measure the antioxidant activity of dietary polyphenols. *Nutritión Research*, 20(7), 941-953.
- Scordino, M., Di Mauro, A., Passerini, A., & Maccarone, E. (2004). Adsorption of Flavonoids on Resins: Cyanidin 3-Glucoside. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 1965-1972.
- Schmidl, M., & Labuza, T. (2000). *Essentials of functional foods*. Maryland: Aspen Publishers Inc.
- Silva, E., Pompeu, D., Larondelle, Y., & Rogez, H. (2007). Optimisation of the adsorption of polyphenols from *Inga edulis* leaves on macroporous resins using an experimental design methodology. *Separation and Purification Technology*, 53, 274-280.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (1991). *Plant Physiology*. California: The Benjamin /Cummings Publishing Company, Inc.
- Tedesco, I., Russo, M., Russo, P., Iacomino, G., Russo, G., Carraturo, A., Faruolo, C., Moio, L., & Palumbo, R. (2000). Antioxidant effect of red wine polyphenols on red blood cells. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 11, 114-119.
- Vaillant, F., Millan, P., O'Brien, G., Dornier, M., Decloux, M., & Reynes, M. (1999). Crossflow microfiltration of passion fruit juice after partial enzymatic liquefaction. *Journal of Food Engineering*, 42, 215-224.
- Vasco, C. (2005). Qualitative and quantitative analysis of phenolic compounds with antioxidant capacity in a selection of fruits and vegetables cultivated in Ecuador. MSc. Tesis, Escuela Politécnica Nacional, Quito-Ecuador, Chalmers University of Technology, Gothenburg-Sweden.

- Venturini, W., Dornier, M., & Belleville, M. (2003). Tangential Microfiltration of Orange Juice in Bench Pilot. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 23(3), 330-336.
- Wrolstad, R., & Heatherbell, D. (1974). Identification of Anthocyanins and Distribution of Flavonoids in Tamarillo Fruit (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendt.). *Journal of the Science of Food Agriculture*, 25, 1221-1228.
- Zárate-Rodríguez, E., Ortega-Rivas, E., & Barbosa-Cánovas, G. (2001). Effect of membrane pore size on quality of ultrafiltered apple juice. *International Journal of Food Science and Technology*, 36, 663-667.
- Zwijnenberg, H., Kemperman, A., Boerrigter, M., Lotz, M., Dijksterhuis, J., Poulsen, P., & Koops, G. (2002). Native proteins recovery from potato fruit juice by ultrafiltration. *Desalination*, 144, 331-334.

ARTÍCULO I

EXTRACCIÓN DE POLIFENOLES DEL TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum Betaceum Cav.*) UTILIZANDO ENZIMAS

Beltrán, Elena; Vera, Edwin y Ruales, Jenny
 ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
 DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
 Pasaje Andalucía E 12A y Veintimilla
 Casilla 17-01-2759. E. mail. elenarbs@yahoo.es
 QUITO - ECUADOR

Palabras clave: tomate de árbol, *Solanum Betaceum Cav*, extracción, enzimas, polifenoles.

RESUMEN

Se estudio la extracción de polifenoles de la cáscara, pulpa y placenta del tomate de gigante morado, utilizando hidrólisis enzimática como pretratamiento. Se utilizaron soluciones acuosas con Pectinex® Ultra SP-L, Pectinex® BE XXL, Cellubrix y Rapidasa vegetable juice., a diferentes temperaturas y concentraciones de enzima. La enzima Rapidasa vegetable juice permitió una mayor extracción de polifenoles y antocianinas para la cáscara y la placenta, mientras que para la pulpa los mejores resultados se obtuvieron utilizando Rapidasa vegetable juice y Pectinex® BE XXL.

INTRODUCCIÓN

Los compuestos fenólicos constituyen uno de los grupos de metabolitos más numerosos en las plantas. Tradicionalmente han sido considerados como antinutrientes, sin embargo en la actualidad han alcanzado gran interés debido a sus propiedades antioxidantes (Bravo, 1998)

Varios compuestos fenólicos, como los taninos, se encuentran ligados a los componentes de la pared celular, compuesta principalmente por celulosa hemicelulosa y pectina., por lo tanto en la extracción los polifenoles son retenidos en la fibra. Esto explica que el uso de enzimas pectolíticas mejora la extracción de los compuestos polifenólicos celulares de la uva, en la maceración del vino (Taiz y Zeiger, 1991; Bravo, 1998; Escarpa y González, 2000; Palacios *et al.*, 2001)

MATERIALES Y METODOS

La materia prima utilizada fue tomate de árbol morado gigante procedente de Baños, (Ecuador) y transportado a la Escuela Politécnica Nacional en Quito. El tiempo de transporte aproximado fue de tres horas.

En la planta piloto los tomates fueron seleccionados, lavados, pelados y cortados. La cáscara, placenta y pulpa del tomate fueron separadas, pesadas y colocadas en fundas plásticas de un peso aproximado de 500g. Las muestras fueron almacenadas en congelación a -18°C.

Preparación del jugo

Las mezclas se prepararon con las siguientes relaciones en peso:

Pulpa: agua 1:2, placenta: agua 1:1, cáscara: agua 1:4

Las enzimas utilizadas fueron: Pectinex® ultra SP-L (Poligalacturonasa), Pectinex® BE XXL (Pectinliasa/Poligalacturonasa), Cellubrix (Celulasa) y Rapidasa vegetable juice. Las variables fueron la temperatura (20 y 30°C) y la concentración de enzima (0.5 y 1ml de enzima/kg de muestra).

Luego de la hidrólisis enzimática se tomaron alícuotas de 50ml de jugo cada 20 min y se centrifugó a 4 °C por 10 min a 8000 rpm en una centrifuga marca Universal 16R. Después se recogió alícuotas de 10 ml del sobrenadante para los análisis respectivos. Las muestras fueron almacenadas en refrigeración a 8 °C, durante un día.

Análisis

Para determinar el contenido de polifenoles solubles totales en el sobrenadante se utilizó el método de Folin-Ciocalteu's descrito por Bravo(1998)

El contenido de antocianinas en el sobrenadante se evaluó usando el método del diferencial de pH para antocianinas monoméricas descrito por Giusti & Wrolstad (2001)

Los resultados fueron analizados utilizando el análisis de varianza (anova one way). El test de comparación múltiple se realizó con la prueba LSD con el 95% de confiabilidad.

Con los resultados obtenidos a los 20 y 60 min, de cada enzima, se realizó el análisis factorial 2² (Temperatura x concentración de enzima). Para el análisis estadístico se utilizó el programa Statgraphics plus 5.1.

RESULTADOS

Los resultados se expresan como fracción de polifenoles y antocianininas presentes en el sobrenadante respecto al tiempo cero. Tanto en la pulpa como en la cáscara, durante la incubación con las enzimas, el contenido de antocianinas no fue detectable.

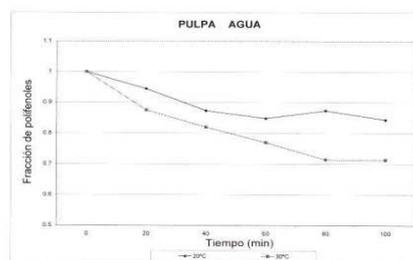


Figura 1. Fracción de polifenoles presentes en el sobrenadante de la pulpa durante la extracción con soluciones acuosas

En la Figura 1. se presenta la variación del contenido de polifenoles utilizando soluciones acuosas, sin enzimas, a 20°C y 30°C. Se observa una disminución del contenido de polifenoles con el transcurso del tiempo y con el aumento de la temperatura. La diferencia es estadísticamente significativa ($p < 0.05$) desde los 60 minutos. Este comportamiento puede deberse a que los polifenoles reaccionaron con el oxígeno del aire.

El contenido de polifenoles presente en el sobrenadante de los procesos de hidrólisis enzimática de la pulpa también desciende con el transcurso del tiempo, pero se observa que es mayor que el contenido de los procesos sin utilizar las enzimas. Los resultados indican que las enzimas permiten una mayor extracción de los polifenoles de la pulpa. La liberación de polifenoles mediante enzimas fue observada por Palacios *et al.* (2001), en un estudio de la maceración de vino con enzimas, cuyos contenidos de polifenoles totales fueron superiores hasta un 20% respecto a los procesos en los que no se utilizó enzima. El contenido de polifenoles presentes en el sobrenadante de los procesos de hidrólisis enzimática de la pulpa desciende con el transcurso del tiempo. (Fig. 2. y Fig. 3.)

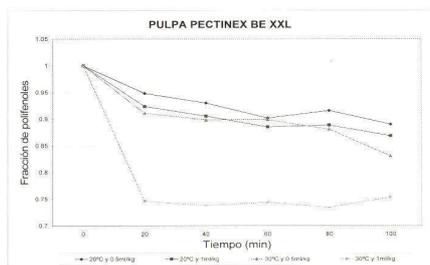


Figura 2 . Fracción de polifenoles presentes en el sobrenadante de la pulpa durante la extracción con Pectinex® BE XXL L.

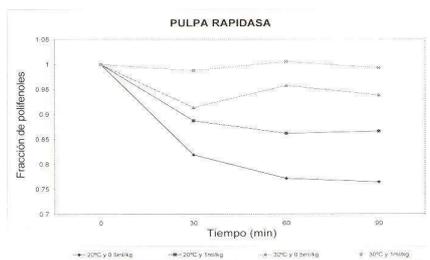


Figura 3. Fracción de polifenoles presentes en el sobrenadante de la pulpa durante la extracción con Rapidasa vegetable juice.

El análisis factorial de los resultados a los 20 min para Pectinex® BE XXL indica que la concentración de enzima y temperatura influyen sobre la extracción de polifenoles y que la temperatura tiene una mayor influencia. Por tanto, se esperaría que a una menor temperatura y baja concentración de enzima el contenido de polifenoles sea mayor. Para Rapidasa vegetable juice, a los 30 minutos, la temperatura y la concentración de enzima tienen influencia sobre el contenido de polifenoles siendo mayor la influencia de la temperatura, por lo que se espera que a una mayor temperatura y concentración de enzima la extracción de polifenoles sea mayor.

Para la extracción de polifenoles y antocianinas de la placenta se utilizó Pectinex® BE XXL y Rapidasa vegetable juice. El contenido de polifenoles del sobrenadante de la placenta, en general, fue mayor que el contenido inicial y no presentó diferencia significativa entre las diferentes condiciones de trabajo y tiempos de incubación. Los mejores resultados se obtuvieron con Rapidasa vegetable juice. (Fig. 4 y Fig 5.)

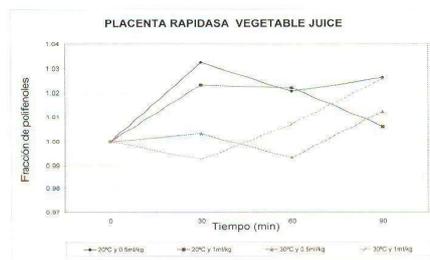


Figura 4. Fracción de polifenoles presentes en el sobrenadante de la placenta durante la extracción con Rapidasa vegetable juice.

El análisis factorial de los resultados a los 30 minutos de hidrólisis enzimática con Rapidasa Vegetable Juice, determinó que tanto la temperatura como la concentración de enzima no influyeron en el contenido de polifenoles y antocianinas del sobrenadante de la placenta.

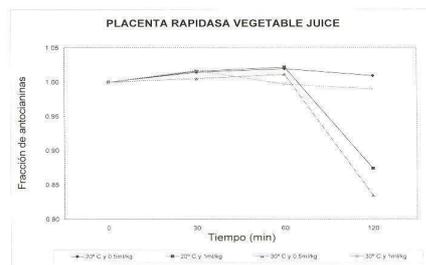


Figura 5. Fracción de antocianinas presentes en el sobrenadante de la placenta durante la extracción con Rapidasa vegetable juice.

Para la extracción de polifenoles de la cáscara se utilizó Pectinex® BE XXL y Rapidasa vegetable juice (Fig. 6.). Estos resultados indican que las enzimas permitieron una mayor extracción de los polifenoles de la cáscara.

El análisis factorial a los 30 minutos para Rapidasa vegetable juice indica que la interacción de la temperatura y concentración de enzima tiene influencia sobre el contenido de polifenoles del sobrenadante de la cáscara, que la influencia de la concentración de enzima es menor mientras que la temperatura no tiene influencia durante el proceso, por lo que se puede trabajar a una baja temperatura y alta concentración de enzima para obtener una mayor concentración de polifenoles.

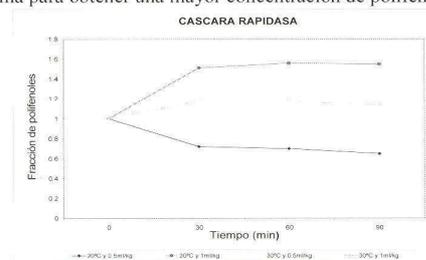


Figura 6. Fracción de de polifenoles presentes en el sobrenadante de la cáscara durante la extracción con Rapidasa vegetable juice.

CONCLUSIONES

Las enzimas permiten una mayor extracción de polifenoles de la pulpa, placenta y cáscara del tomate de árbol, por lo tanto pueden ser utilizadas como pretratamiento para la extracción. La enzima que permitió obtener los contenidos más altos de polifenoles del sobrenadante de la cáscara y placenta del tomate de árbol fue Rapidasa vegetable juice.

Los contenidos más altos de polifenoles del sobrenadante de la pulpa del tomate de árbol se obtuvo con Rapidasa vegetable juice y Pectinex® BE XXL.

En la pulpa el contenido de polifenoles desciende con el transcurso del tiempo de incubación, pero luego de 60 minutos permanece constante.

El contenido de polifenoles de la cáscara con el tratamiento Rapidasa vegetable juice se mantiene constante a partir de los 30 minutos.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado por la Unión Europea Proyecto 6-2003-INCO-DEV-2, contrato 015279

BIBLIOGRAFIA

- Bravo L. 1998. Polyphenols: Chemistry, Dietary sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews* 56(11):317-33.
- Escarpa A, González, M. 2000. Approach to the content of total extractable phenolic compounds from different food samples by comparison of chromatographic and spectrophotometric methods. Elsevier Science:119-27.
- Giusti M, Wrolstad, R. 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV - Visible Spectroscopy.
- Palacios A, Santiago, L, Guerrand, D. 2001. Utilización de enzimas de maceración en vinificación en tinto. La Rioja: UNIVERSIDAD DE LA RIOJA.
- Taiz L, Zeiger, E. 1991. *Plant Physiology*. California: The Benjamin /Cummings Publishing Company, Inc. 565 p.

ARTÍCULO II

Extracción de polifenoles de la cáscara de tomate de árbol (*Solanum betaceum Cav*) utilizando solventes orgánicos.

Elena Beltrán, Edwin Vera, Jenny Ruales

ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA.
Pasaje E 12A Andalucía y Veintimilla. Casilla 17-01-2759. E. mail. jenny.ruales@epn.edu.ec

QUITO - ECUADOR

Resumen

En el presente trabajo se estudió la extracción de los compuestos fenólicos de la cáscara del tomate de árbol. La extracción se realizó a 20 y 30 °C y las soluciones utilizadas fueron: acetona-agua, etanol-agua, acetona-etanol y agua como testigo. Para la extracción se realizó el licuado de la cáscara con los solventes orgánicos por un minuto y luego el extracto se colocó en baño maría con agitación; se tomó una muestra de 50 mL del extracto cada 30 min y se procedió a centrifugar para obtener el sobrenadante en el que se determinaron el contenido de polifenoles solubles totales con el método del Folin-Ciocalteau's y el contenido de antocianinas con el método del diferencial de pH. Los resultados se expresaron como fracción de polifenoles y antocianinas presentes en el sobrenadante respecto al tiempo cero. A los 90 minutos y 20 °C la fracción de polifenoles de la extracción con etanol-agua y acetona-etanol fueron de 1,1 y 1,3 respectivamente. En el tratamiento con etanol-agua a 20 °C se obtuvo la mayor fracción de antocianinas, que fue de 1,3 este valor se mantuvo estable desde los 30 minutos. Mientras que en la extracción con la mezcla acetona-etanol el contenido de antocianinas no fue detectable. La mejor extracción de los compuestos fenólicos de la cáscara de tomate de árbol se realizó utilizando agua la fracción de polifenoles a los 90 minutos fue de 2,8.

Palabras clave: tomate de árbol, *Solanum Betaceum Cav*, extracción, solventes, polifenoles

1. Introducción

El tomate de árbol es una fruta originaria de Sudamérica, es cultivado en Colombia y Ecuador, mientras que en Perú, Chile, Bolivia, Argentina, Brasil y Centro América su cultivo es marginal o se han encontrado poblaciones silvestres. Los principales productores son: Nueva Zelanda, Kenia, Sri Lanka, India, Colombia, Zambia y Zimbabwe. (García, 2008; Hernández & León, 1992; Vasco, 2005; Vergara, 2005)

Existen cinco variedades de tomate de árbol que son: Anaranjado puntón, anaranjado redondo, anaranjado gigante, morado neocelandés y morado gigante; entre éstas se presentan variaciones en tamaño, forma y color de los frutos. El tomate de árbol se consume crudo o cocinado, la cáscara se elimina por ser de sabor amargo, sin embargo ésta contiene la más alta concentración de polifenoles solubles de la fruta (García, 2008; Hernández & León, 1992; Vasco, 2005; Vergara, 2005; Wrolstad & Heatherbell, 1974). La cáscara del tomate de árbol morado gigante contiene quercetina, miricetina y derivados de ácidos hidroxycinámicos. El mayor contenido de antocianinas corresponde a cianidina-3-rutinosido, flavones y leucoantocianinas (García, 2008; Hernández & León, 1992; Vasco, 2005; Vergara, 2005; Wrolstad & Heatherbell, 1974).

Los polifenoles son metabolitos secundarios sintetizados por las plantas, durante su desarrollo normal y como respuesta a condiciones de estrés. El contenido de polifenoles en las plantas depende de varios factores como la técnica de cultivo, variedad, maduración y también del procesamiento y condiciones de almacenamiento (Kader, 1997; Nack & Shahidi, 2006).

Los polifenoles tradicionalmente han sido considerados como antinutrientes, pero en la actualidad se han estudiado potenciales beneficios para la salud debido a sus propiedades antioxidantes, antimutagénicas, y la captación de radicales libres (Vasco, 2005). Estudios realizados con compuestos fenólicos y especialmente los flavonoides demuestran su efecto en la prevención de varias enfermedades tales como: enfermedades cardiovasculares, cancerígenas y neurológicas (Bravo, 1998; Macheix *et al.*, 1990; Russo & Speranza, 2006).

La distribución de los polifenoles en las plantas no es uniforme, los polifenoles insolubles se encuentran en la pared celular y los polifenoles solubles en el interior de las vacuolas de las células vegetales. Los polifenoles pueden contribuir al color, sabor, astringencia y estabilidad oxidativa de los alimentos (Bravo, 1998; Nack & Shahidi, 2006; Taiz & Zeiger, 1991).

La extracción de polifenoles del tejido vegetal depende de su naturaleza química, el método de extracción empleado, el tamaño de partícula, el tiempo y condiciones de almacenamiento de la muestra y de la presencia de sustancias de interferencia. La naturaleza química es muy variada, ya que en las plantas se pueden encontrar en diferentes proporciones desde compuestos fenólicos simples hasta compuestos altamente polimerizados, como ácidos fenólicos, antocianinas, taninos y otros. Además existe la posibilidad de que se encuentren formando complejos insolubles con carbohidratos, proteínas y otros compuestos (Nack & Shahidi, 2006; Naczk & Shahidi, 2004).

La polaridad del solvente usado afecta la solubilidad de los compuestos fenólicos por lo que no es posible desarrollar un procedimiento de extracción para obtener todos los compuestos fenólicos del tejido vegetal, entonces los extractos fenólicos obtenidos son mezclas de diferentes clases de compuestos fenólicos que son solubles en el sistema de solvente usado. Los solventes que han sido utilizados para extraer polifenoles son metanol, agua, etanol, propanol, acetona, acetato de etilo, dimetilformaldehído y sus combinaciones (Nack & Shahidi, 2006; Naczk & Shahidi, 2004).

El tiempo de extracción de compuestos fenólicos del tejido vegetal usualmente varía de 1 minuto a 24 horas. Largos tiempos de extracción incrementan la posibilidad de oxidación de los compuestos fenólicos a menos que se añada un agente reductor al sistema de extracción (Nack & Shahidi, 2006; Naczk & Shahidi, 2004).

La recuperación de polifenoles de tejidos vegetales está influenciada también por la relación muestra:solvente. Naczk y Shahidi (2004) encontraron que cuando se utilizó 70% de acetona en agua como solución extractora en comidas comerciales

que contenían canola, al cambiar la relación muestra:solvente de 1:5 a 1:10 se incrementó la extracción de taninos condensados de 257,3 a 321,3 mg/100g de comida, y la concentración de polifenoles totales de 773,5 a 805,83 mg/100g de comida.

Naczk y Shahidi (2004) reportan que Deshpante y Cheryan demostraron que el rendimiento en la recuperación de taninos de frijoles secos fue fuertemente influenciada por las variaciones del tamaño de partícula.

Los ácidos fenólicos libres y esterificados pueden ser extraídos de aceite de semillas usando una mezcla metanol-acetona-agua (7:7:6,v/v/v). Los flavonoides son comúnmente extraídos del tejido vegetal con metanol, etanol, agua o sus combinaciones, En algunos casos, estos solventes son acidificados. Las antocianinas son comúnmente extraídas con metanol acidificado que destruye las membranas celulares y simultáneamente disuelve y estabiliza las antocianinas (Macheix *et al.*, 1990; Nack & Shahidi, 2006; Naczk & Shahidi, 2004).

Comúnmente el contenido de polifenoles se determina con el método de Folin-Ciocalteu,Georgé *et al.* (2005) optimizaron este método eliminando sustancias que interfieren en la determinación, como el ácido ascórbico, algunos azúcares reductores y aminoácidos.

El objetivo de este estudio fue determinar las mejores condiciones de trabajo para la extracción de polifenoles de la cáscara del tomate de árbol utilizando mezclas de solventes orgánicos y agua.

2. Materiales y métodos

La materia prima utilizada fue tomate de árbol morado gigante procedente de Baños, Ecuador. Los tomates fueron transportados a la Escuela Politécnica Nacional en Quito, con un tiempo de transporte aproximado de tres horas.

En la planta piloto los tomates fueron: seleccionados, lavados en una solución de 200 ppm de hipoclorito de sodio y pelados a mano. La cáscara fue dividida en

porciones de 200 g, empacada en fundas plásticas y almacenada a -18 °C hasta ser utilizada en los procesos de extracción.

Las extracciones de polifenoles de la cáscara de tomate de árbol se realizaron a 20 y 30 °C; las soluciones utilizadas para la extracción fueron acetona-agua, etanol-agua, acetona-etanol y agua como testigo. Las relaciones en peso fueron las siguientes

- cáscara:agua 1:4
- cáscara: acetona: agua 1:2:2
- cáscara: etanol: agua 1:2:2
- cáscara: acetona:etanol 1:2:2

Se utilizó acetona grado analítico y etanol potable; en una licuadora marca Oster se colocaron 150 g de cáscara y los solventes orgánicos en las relaciones antes mencionadas y se realizó el licuado por un minuto. El extracto se colocó en un baño maría con agitación. Cada 30 minutos, se tomaron alícuotas de 50 mL del extracto y se centrifugó a 4 °C por 10 min a 8000 rpm en una centrifuga marca Universal, modelo 16R. Luego se recogió aproximadamente 10 mL del sobrenadante para los análisis respectivos. Las muestras fueron almacenadas en refrigeración a 8 °C, durante un día.

Para determinar el contenido de polifenoles solubles totales en el sobrenadante se utilizó el método de Folin-Ciocalteau's indicado por Bravo (1998). Se usó un espectrofotómetro Shimadzu UV-VIS modelo UV-160A.

El contenido de antocianinas se determinó en el sobrenadante con el método del diferencial de pH para antocianinas monoméricas utilizando un espectrofotómetro Shimadzu UV-VIS (Giusti & Wrolstad, 2001).

Los resultados fueron analizados utilizando el análisis de varianza anova one way. El test de comparación múltiple se realizó con la prueba LSD con el 95% de confiabilidad. Para el análisis estadístico se utilizó en el programa Statgraphics Plus for Windows 2.0.

3. Resultados y discusión

Los resultados se expresan como fracción del contenido de polifenoles y antocianinas presentes en el sobrenadante respecto al tiempo cero.

En la Figura 1 se presenta los resultados de la fracción de polifenoles contenida en los extractos acuosos. Se observa que el contenido de polifenoles totales aumenta con el tiempo de extracción para las dos temperaturas estudiadas, sin embargo no presenta diferencia significativa entre estas para los diferentes tiempos. La fracción de polifenoles en la extracción acuosa a 30 y 20 °C fue de 2.8 y 2.7 respectivamente, a los 90 min.

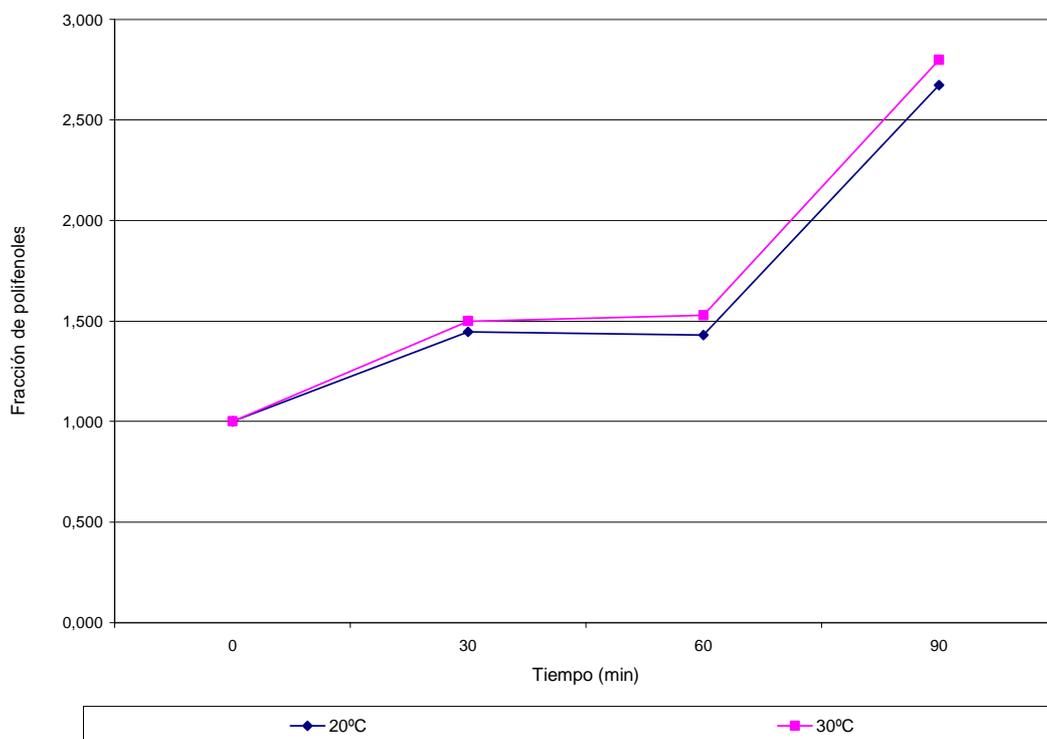


Figura 1. Fracción de polifenoles presentes en el sobrenadante de la cáscara durante la extracción con agua.

En la Figura 2 se observa que la fracción del contenido de polifenoles es menor a 30 °C que a 20 °C sin embargo no existe diferencia significativa. Según Georgé *et al.* (2005), generalmente los polifenoles son extraídos con mezclas de

metanol/agua o acetona/agua, en la misma figura se observa que las mezclas acetona/agua presentan las fracciones más bajas del contenido de polifenoles para los diferentes tiempos, esto puede deberse a que la cáscara de tomate de árbol contiene flavonoides que generalmente son mejor extraídos de los tejidos vegetales con metanol, etanol, agua o sus combinaciones (Naczk & Shahidi, 2004).

La extracción con la solución etanol:agua a 20 °C presenta un pico a los 30 min (Figura 2) sin embargo no presenta diferencia significativa con la extracción a 30 °C y este comportamiento se mantiene durante el resto del proceso. Además, las fracciones del contenido de polifenoles utilizando etanol/agua como solución extractora no presenta diferencia significativa con las fracciones de los contenidos de polifenoles obtenidos con acetona/agua para los diferentes tiempos y temperaturas a pesar de presentar valores más altos.

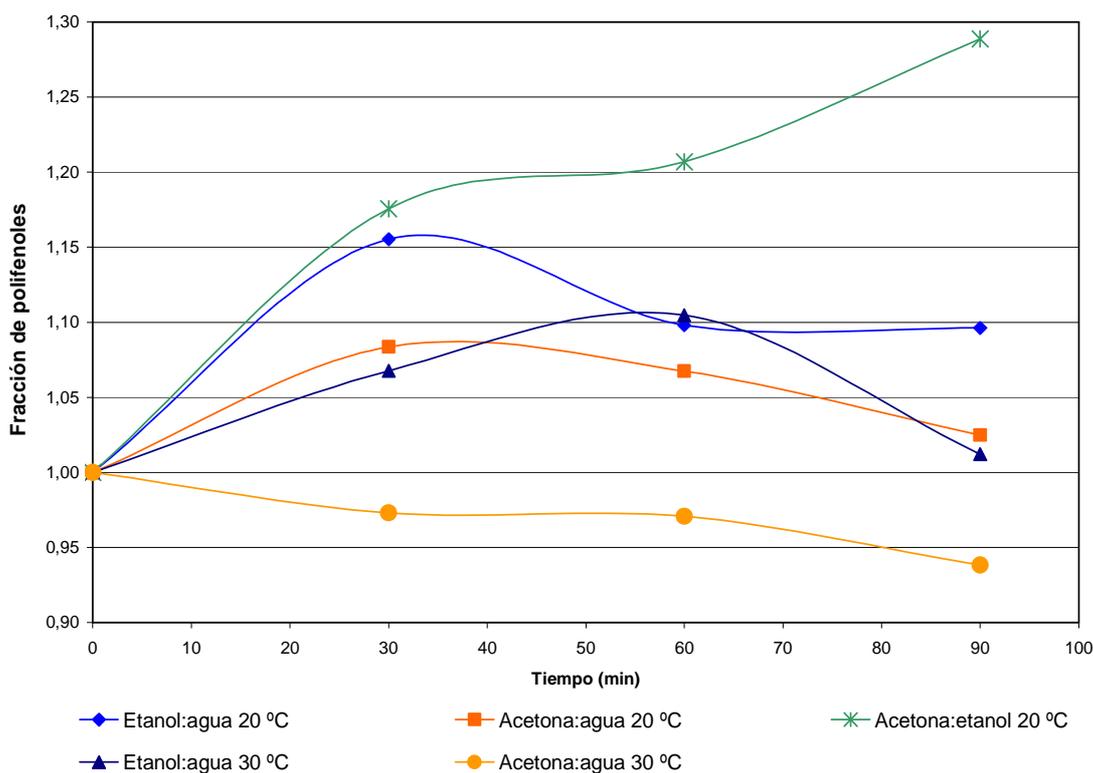


Figura 2. Fracción de polifenoles presentes en el sobrenadante de la cáscara durante la extracción con solventes orgánicos.

La mezcla acetona-etanol presenta las fracciones de los contenidos de polifenoles totales más altas que las otras combinaciones de solventes orgánicos (Figura 2),

el contenido de polifenoles a los 90 min es de 8.82 mg/mL y presenta diferencia significativa ($p < 0.05$) con el proceso de extracción con acetona:agua a 30 °C.

Esto puede deberse a que esta mezcla de solventes orgánicos permitiría una mejor extracción de flavonoides que generalmente son extraídos con etanol y agua y de los ácidos fenólicos cuya extracción se realiza con la mezcla de metanol-acetona-agua; pues la cáscara del tomate de árbol contiene flavonoides, ácidos fenólicos y antocianinas (Nack & Shahidi, 2006; Nacz & Shahidi, 2004).

El contenido de polifenoles totales del extracto de cáscara de tomate de árbol es mayor en las soluciones acuosas que en las soluciones con solventes orgánicos. Similar comportamiento fue observado en el estudio de la extracción de polifenoles del trébol rojo realizado por Motomura *et al.* (2008), igualmente en la extracción de polifenoles de flores de manzanilla y semillas de anís estudiada por Al-Ismael y Aburjai (2004) la concentración de polifenoles para la extracción acuosa fue de 395,5 y 347,0 mg/g respectivamente mientras que los valores de los extractos alcohólicos fueron de 273,7 y 217,1 mg/g, observándose nuevamente que la mayor concentración de polifenoles se tiene con la extracción acuosa. La cáscara de tomate de árbol contiene quercetina y miricetina que al ser flavonoides pueden ser extraídos con agua, así Karakaya y Nehir (1998) utilizan agua como solución extractora en su estudio del contenido de quercetina en varios alimentos. Igual comportamiento se observó en el estudio realizado por Makris *et al.* (2006) en cáscaras de uva producto de la industria vinícola.

En la Figura 3 se observa que el contenido de antocianinas es mayor en la extracción con la solución etanol:agua a 20 °C y presenta diferencia significativa ($p < 0.05$) con los otros tratamientos; a los 90 min la fracción de antocianinas con esta solución extractora fue de 1,3. Este comportamiento puede deberse a que las antocianinas son extraídas de material vegetal con ácidos orgánicos acidificados, siendo el más común el metanol, que es un disolvente prótico al igual que el etanol, mientras que la acetona es disolvente aprótico (Nack & Shahidi, 2006). En la extracción de antocianinas con la solución acetona:etanol el contenido de antocianinas no fue detectable.

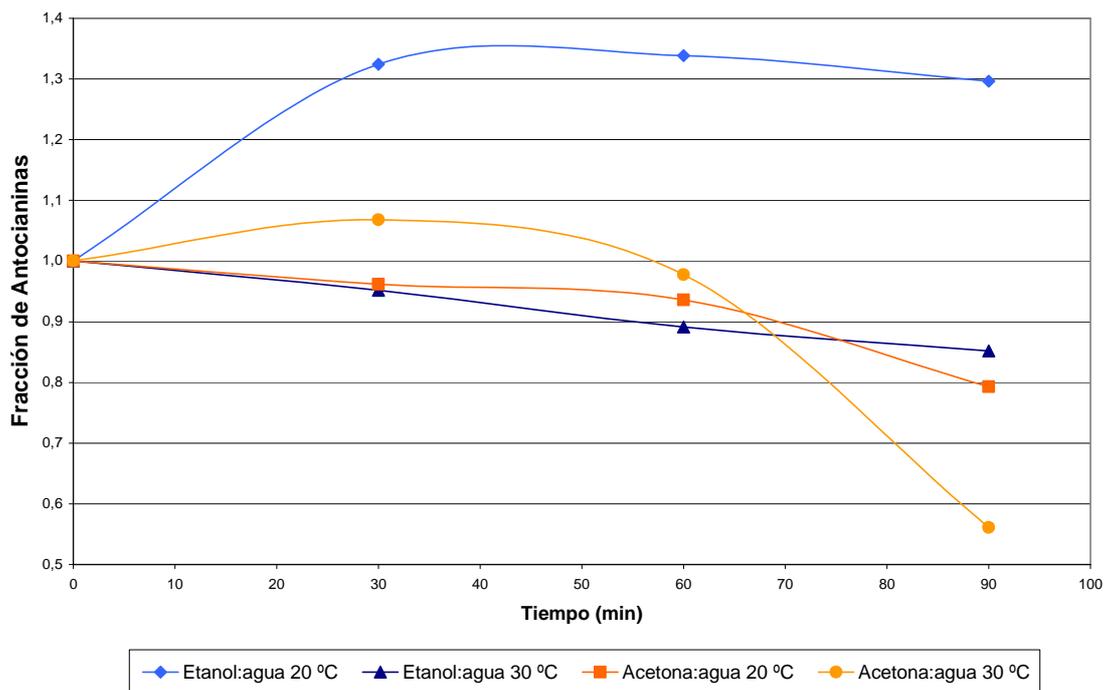


Figura 3. Fracción de antocianinas presentes en el sobrenadante de la cáscara durante la extracción con solventes orgánicos.

4. Conclusiones

La mejor extracción de los compuestos fenólicos de la cáscara de tomate de árbol se realizó utilizando agua, ya que la cáscara tiene quercetina y miricetina que son flavonoides y por tanto son solubles en agua.

Utilizando solventes orgánicos, la mayor extracción de polifenoles de la cáscara del tomate de árbol se realizó con una mezcla de acetona:etanol a 20°C, sin embargo no supera a los resultados obtenidos utilizando agua como solución extractora. La fracción de polifenoles del sobrenadante en la extracción con agua a los 90 min fue de 2,7 y 2,8 para los tratamientos a 20 y 30 °C respectivamente y de 1,3 para la extracción con acetona:etanol a 20°C . En cuanto a la extracción de antocianinas, la solución etanol:agua a 20°C permitió la mayor extracción de antocianinas con un fracción de 1,3 a los 90 min. Mientras que para la mezcla acetona-etanol el contenido de antocianinas no fue detectable

Agradecimientos

Este estudio fue financiado por la Unión Europea Proyecto PAVUC 6-2003-INCO-DEV-2, contrato 015279.

Bibliografía

- Al-Ismail, M., & Aburjai, T. (2004). Antioxidant activity of water and alcohol extracts of camomile flowers, anise seeds and dill seeds. *Journal of the Science of food and Agriculture*, 84, 173-178.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*, 56, 317-333.
- García, M. (2008). *Manual de manejo cosecha y poscosecha del tomate de árbol*. Bogotá: Corpoica.
- Georgé, S., Brat, P., Alter, P., & Amiot, M. (2005). Rapid Determination of Polyphenols and Vitamin C in Plant-Derived Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1370-1373.
- Giusti, M., & Wrolstad, R. (2001). *Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV - Visible Spectroscopy*: John Wiley & Sons, Inc.
- Hernández, & León, J. (1992). *Cultivos marginados otra perspectiva de 1492* (Vol. 26). Roma: FAO.
- Kader, A. (1997). Composition and compositional changes *Postharvest physiology and handling of horticultural commodities* (pp. 75-94). California: University of California Davis.
- Karakaya, S., & Nehir EL, S. (1998). Quercetin, luteolin, apigenin and kaempferol contents of some foods. *Food Chemistry*, 66, 289-292.
- Macheix, J., Fleuriet, A., & Billot, J. (1990). *Fruit phenolics*. Florida: CRC Press, Inc.
- Makris, D., Boskou, G., & Andrikopoulos, N. (2006). Recovery of antioxidant phenolics from white vinification solid by-products employing water/ethanol mixtures. *Bioresource Technology*, 98, 2963-2967.
- Motomura, Y., Reyes-Díaz, M., & Mora, M. (2008). Effect of selenite on the total polyphenol content and antioxidative activity of aqueous and ethenolic extracts in sprouts of four agronomic species. *Journal Soil Science and Plant Nutrition*, 8, 55-67.
- Nack, M., & Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereal, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41, 1523-1542.
- Nacz, M., & Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 95-111.
- Russo, R., & Speranza, M. (2006). Los flavonoides en la terapia cardiovascular. *Revista Costarricense de Cardiología*, 8, 13-18.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (1991). *Plant Physiology*. California: The Benjamin /Cummings Publishing Company, Inc.
- Vasco, C. (2005). *Qualitative and quantitative analysis of phenolic compounds with antioxidant capacity in a selection of fruits and vegetables cultivated in Ecuador*. MSc. Tesis, Escuela Politécnica Nacional, Quito-Ecuador, Chalmers University of Technology, Gothenburg-Sweden.

- Vergara, D. (2005). *Evaluación de productos Ecológicos en el control de Meloidogyne incognita en una variedad de tomate de árbol (Solanum betaceum Cav.) bajo invernadero. Tumbaco, Pichincha.* pre-grado, Universidad Central del Ecuador, Quito.
- Wrolstad, R., & Heatherbell, D. (1974). Identification of Anthocyanins and Distribution of Flavonoids in Tamarillo Fruit (*Cyphomandra betaceae* (Cav.) Sendt.). *Journal of the Science of Food Agriculture*, 25, 1221-1228.

ARTÍCULO III

Uso de tecnología de membranas y resinas para la separación y concentración de polifenoles del tomate de árbol morado (*Solanum Betaceum Cav.*)

Elena Beltrán^{1y2}, Mayra Anaguano¹, Elena Coyago¹, Dominique Pallet², Pierre Brat², Christian Mertz², Fabrice Vaillant², Edwin Vera¹ y Jenny Ruales¹

¹ ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
Pasaje E-12A Andalucía y Veintimilla, casilla 17-01-2759. E. mail. jenny.ruales@epn.edu.ec
QUITO – ECUADOR,

² CENTRE DE COOPERATION INTERNATIONALE EN RECHERCHE AGRONOMIC POUR LE DEVELOPPEMENT (CIRAD)
Département PERSYST, TA B 95/16 73, rue JF Breton 34398 Montpellier Cedex 5

Resumen

Se estudió la separación y concentración de los polifenoles de los jugos del mesocarpio, placenta y cáscara de tomate de árbol morado utilizando tecnología de membranas y la resina XA 5071 FG. Para la separación de los polifenoles se utilizó micro y ultrafiltración tangencial y se tomó el tamaño de poro de la membrana como medio de selección (0.2 μm , 0,1 μm , 150 kDa, y 15 kDa). Pruebas realizadas con HPLC demostraron que no se consiguió la separación de los compuestos fenólicos.

Para la concentración de los polifenoles se utilizó osmosis inversa y la resina XA 5071 FG. La resina XA 5071 FG concentró los compuestos fenólicos y aumentó la capacidad antioxidante en un rango entre 4 y 5,5 veces para los dos jugos y la concentración de antocianinas se incrementó 1,8 veces en el jugo de placenta. El proceso de concentración de los jugos clarificados de placenta y cáscara de tomate de árbol por ósmosis inversa se realizó con un módulo B1 (Aquious-PCI) de 18 membranas tubulares AFC99 de poliamida con un área filtrante de 0.9 m² y una exclusión de NaCl del 99%, a 52 bar y 25 °C, obteniendo un factor de concentración volumétrica de 2 y 2,2 respectivamente. Los compuestos fenólicos se concentraron en 1,5 veces para placenta y 2,4 veces para la cáscara y la capacidad antioxidante para los dos jugos aumentó en 2,4 veces. Las antocianinas de la placenta se concentraron en 2,6 veces. Los compuestos como azúcares, ácidos orgánicos y minerales fueron concentrados en factores superiores al de retención volumétrica.

En conclusión el proceso de concentración de polifenoles del tomate de árbol fue más eficiente utilizando la resina XA 5071 FG que el proceso de ósmosis inversa utilizado en este estudio.

Palabras clave: Tecnología de membranas, resinas, polifenoles, *Solanum betaceum*

1. Introducción

La presencia de antioxidantes en los alimentos es de gran interés debido al efecto beneficioso que tienen para la salud. Numerosos estudios se han realizado para la identificación y caracterización de diferentes compuestos antioxidantes debido a la importancia de estos en la prevención de enfermedades como las cardiovasculares, inflamatorias y neurológicas; así como también enfermedades cancerígenas y el retardo del envejecimiento (Bravo, 1998; Lichtenthaler & Marx, 2005; Silva *et al.*, 2007).

Los vegetales y frutas han recibido una atención particular debido a su alta concentración de antioxidantes. En este tipo de alimentos, los compuestos antioxidantes más abundantes son por lo general los polifenoles (Bravo, 1998). Para la separación de estos compuestos a nivel de laboratorio, se han probado principalmente: cromatografía de fase reversa con Sephadex (Mazza & Velioglu, 1992) o cromatografía iónica (Gil *et al.*, 2000) y resinas absorbentes, que han sido ampliamente utilizadas para aislamiento, purificación, recuperación y concentración de antocianinas (Chandra *et al.*, 1993; Liu *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2007; Scordino *et al.*, 2004; Silva *et al.*, 2007). Sin embargo no se encontró ningún estudio para la separación de polifenoles utilizando tecnología de membranas. Mediante esta tecnología se podría separar selectivamente, de acuerdo al tamaño de la molécula, polifenoles de diferente peso molecular (Scott, 1995). Además esta tecnología puede fácilmente aplicarse a nivel industrial para la obtención de diferentes tipos de polifenoles.

Siendo el tomate de árbol morado es una fruta originaria de Sudamérica que contiene fitoquímicos como beta carotenos y algunas antocianinas a las cuales se les ha asociado la propiedad de bajar el colesterol y la protección contra enfermedades degenerativas (Vasco, 2005).

El objetivo de este trabajo es evaluar el uso de la tecnología de membranas para el fraccionamiento de polifenoles y antocianinas del tomate de árbol

morado, así como la concentración de estos compuestos utilizando osmosis inversa y la resina XA 5071 FG.

El fraccionamiento y concentración de polifenoles se realizó en las fracciones comestibles así como en la cáscara del tomate de árbol morado, ya que según Vasco (2005) la mayor parte de polifenoles se encuentran en la cáscara de la fruta.

2. Materiales y métodos

Materia Prima

Se usó tomate de árbol morado gigante (*Solanum Betaceum* Cav.), adquirido en Baños, provincia de Tungurahua, Ecuador.

Las frutas (~100 kg) se lavaron, con una solución de 200 ppm de hipoclorito de sodio, pelaron y cortaron manualmente. Se separó el mesocarpio y la placenta (que contiene las semillas). Se obtuvo las pulpas de la placenta y mesocarpio, con el despulpador marca Cincinnati Mechtronics Inc. Se almacenó la cáscara y las pulpas, por separado, a -21°C hasta su procesamiento.

Hidrólisis enzimática

Para la hidrólisis enzimática se utilizó con el coctel enzimático Rapidaza Vegetable Juice[®] (1 mL/kg muestra) por un tiempo de 30 min con agitación (Beltrán *et al.*; 2007); una porción de la cáscara fue previamente triturada y mezclada con agua (1:3 en peso). Las muestras se hidrolizaron a 30 °C (mesocarpio) y a 20 °C (placenta y cáscara). El extracto enzimático de la cáscara se filtró (100 mesh).

Extracción alcohólica

La otra porción de cáscara (~ 5 kg) fue triturada y mezclada con agua y etanol potable (1:1,5:1,5 en peso). Esta mezcla se mantuvo en agitación por 30 min y 20 °C. El extracto alcohólico de la cáscara se filtró (100 mesh).

Separación de los sólidos insolubles

Para la separación de los sólidos insolubles de las cuatro muestras preparadas, se aplicó la microfiltración tangencial con un equipo marca TIA, las condiciones de operación fueron, presión de 2.5 bar, temperatura de 30 °C y flujo de recirculación de 1000 Lh⁻¹. Para la muestra del mesocarpio se utilizó una membrana cerámica, marca Rhodia, de 10 µm de diámetro de poro y para las otras muestras una membrana cerámica, marca Membralox, de 0,2 µm de diámetro de poro, ambas con una superficie de 0,2 m². Únicamente para la muestra de la placenta se utilizó las dos membranas, separadamente, para realizar la separación de los sólidos insolubles. Los jugos clarificados obtenidos se almacenaron a -20 °C para el procesamiento posterior. En las muestras obtenidas de este proceso se determinó el pH, sólidos solubles totales, acidez titulable, contenido de polifenoles solubles totales, vitamina C y beta carotenos.

Separación de los polifenoles

En la separación de los polifenoles de los cuatro jugos clarificados, se utilizó un módulo, a escala de laboratorio marca SEMATECH. El clarificado de la muestra del mesocarpio se filtró por separado en las membranas cerámicas, marca Rhodia, de tamaño de poro de 0,45, 0,2 y 0,1 µm, 300 kDa, 150 kDa 50 kDa y 15 kDa, con una superficie filtrante de 0,008 m² y a una presión de 3.0 bar, temperatura de 20 °C y un flujo de recirculación de 1Lh⁻¹.

Los clarificados de las muestras de la placenta y los extractos enzimático y alcohólico de la cáscara, se filtraron por separado en las membranas cerámicas, marca Rhodia, de tamaño de poro 0,1 µm, 150 kDa y 15 kDa; con una superficie filtrante de 0,008 m², a una temperatura de 20 °C, un flujo de recirculación de 1Lh⁻¹, a una presión de 3.0 bar (placenta) y 4.0 bar (extractos de la cáscara); todos los procesos se realizaron con una configuración operacional de concentración por lotes. Las muestras se almacenaron en congelación (-20 °C) hasta realizar los análisis químicos: pH, sólidos solubles totales, acidez titulable, contenido de polifenoles solubles totales, vitamina C y beta carotenos.

Concentración de los polifenoles

La concentración de los polifenoles se realizó por dos métodos diferentes; el uno con ósmosis inversa, utilizando un módulo B1, marca Aquious-PCI, de 18 membranas tubulares AFC99 de poliamida, con un área filtrante de 0,9 m² y una retención aparente del 99% de NaCl; y el otro utilizando una columna de vidrio (diámetro de 1,5 cm), con 40 mL de volumen de lecho (1BV) de la resina NOVASEP XA 5071 FG.

La ósmosis inversa se aplicó para los jugos clarificados de la placenta y del extracto enzimático de la cáscara a 52 bar y 25 °C.

La configuración operacional utilizada en todos los procesos fue de concentración por lotes. En las muestras se determinó pH, sólidos solubles totales, acidez titulable, capacidad antioxidante (ABTS) y el contenido de polifenoles solubles totales, antocianinas monoméricas totales vitamina C, azúcares, ácidos orgánicos y minerales.

Otra parte de los jugos clarificados de la placenta, del mesocarpio y del extracto enzimático de la cáscara y se utilizaron para la concentración con la resina NOVASEP XA 5071 FG; el jugo clarificado se alimentó a un flujo de 80 mL.h⁻¹, después se lavó la resina con agua (80 mL h⁻¹) y a continuación se realizó la desorción con etanol al 70 % manteniendo el flujo de 2BV h⁻¹; se obtuvo seis eluatos de 20 mL cada uno. Sólo el jugo clarificado de placenta fue previamente, diluido con agua (1:1 en volumen). Para cada jugo clarificado se realizó una repetición. En las muestras obtenidas de este proceso se determinó el contenido de polifenoles solubles totales, polifenoles como ácido clorogénico y antocianinas como ciandina-3-glucósido (HPLC) y la capacidad antioxidante (ORAC).

Métodos de análisis

La medición de pH se realizó utilizando un pHmetro Orion modelo 210A, según la norma ISO 1842 (1991). Para la determinación de acidez titulable se aplicó la norma AOAC 942.15 37.1.37(2000). Los sólidos solubles totales se determinaron midiendo con un refractómetro de acuerdo a la norma AOAC 932.12 37.1.15 (2000) (Horwits, 2000).

Para determinar el contenido de polifenoles solubles totales se utilizó el método de Folin-Ciocalteu's (Georgé *et al.*, 2005). El contenido de antocianinas monoméricas totales se midió con el método descrito por Giusti y Wrolstad (2001). Se determinó la capacidad antioxidante (ABTS) aplicando el método descrito por Re *et al.* (1999). La cuantificación de vitamina C y azúcares se realizó por HPLC utilizando los métodos descritos por Macrae (1988) y del manual de la columna ASTEC NH2 series, respectivamente, modificados y validados en los laboratorios del DECAB de la Escuela Politécnica Nacional (Quito). La cuantificación de carotenos se realizó por HPLC de acuerdo al método descrito por Petterson y Jonsson (1990). La determinación de ácidos orgánicos se realizó aplicando el método descrito por Pérez *et al.* (1997). La determinación de minerales se realizó con el método de Abdulla (1986).

La determinación de los polifenoles como ácido clorogénico y antocianinas como cianidina-3-glucósido se realizó con un HPLC equipado con detector de arreglo de diodos y una columna lichrospher 5 CD2 4,6 x 250 mm; para la elución de los polifenoles se utilizó como fase móvil una solución A (2% de ácido fórmico y 98% de agua) y una solución B (80% acetonitrilo, 2% ácido fórmico y 2% agua) el gradiente de elución de la solución B fue: los primeros 50 min 3%; de 50 a 55 min se incrementa del 3% al 35%, de los 55 a los 60 min se llega al 50%, de los 60 a los 62 min se utilizó el 80% y de los 62 a 65 min el 100%. El tiempo total de elución fue 65 min y el flujo fue de 0.5 mL/min. El volumen de inyección fue de 20 µL. La determinación de la concentración de polifenoles como ácido clorogénico se realizó a 320 nm y la concentración de antocianinas como cianidina-3-glucósido a 510 nm. La medición de la capacidad antioxidante se realizó con el método de la capacidad de absorbancia de radicales de oxígeno (ORAC). Los reactivos Trolox, fluoresceína y 2,2'-azobis (2-amidinopropano) dihidrocloruro (AAPH) fueron comprados a Aldrich. Los análisis de ORAC se realizaron en un espectrofluorímetro de placas marca TECAN. La longitud de onda de excitación y emisión fueron de 485 nm y 520 nm, respectivamente. Las soluciones de AAPH, fluoresceína y Trolox fueron preparadas con la solución

buffer de fosfato de 75 mM (pH 7,4). Como blanco se utilizó la solución buffer de fosfato de 75 mM (pH 7,4) y soluciones de Trolox de 0 a 40 μ M fueron usadas como estándares. Las muestras fueron diluidas con buffer de fosfato de 75 mM. Se colocó 180 μ L de agua en las celdas exteriores de la placa y 160 μ L de fluoresceína y 20 μ L de la muestra diluida en las celdas interiores. Las muestras y los estándares fueron analizados por duplicado, y se utilizó el siguiente arreglo para la medición: dos columnas contenían las soluciones de estándares y las columnas siguientes correspondían a las muestras con sus duplicados, la medición se realizó en sentido decreciente de la concentración, cada minuto por 120 minutos. Las soluciones de trabajo fueron preincubadas a 37°C por 15 min. Los valores finales fueron calculados usando la regresión de la ecuación entre la concentración de trolox y el área neta bajo la curva del decaimiento de la fluorescencia y fueron expresados como micro moles de trolox por litro de muestra.

En los procesos de separación de sólidos insolubles y de polifenoles se calculó el factor de reducción volumétrica con la siguiente ecuación (Vaillant *et al.*, 1999a).

$$FRV = \frac{V_j}{V_j - V_p}$$

Donde:

V_j representa el volumen total de jugo que se alimentó

V_p representa el volumen total del permeado recolectado

3. Resultados y discusión

Separación de los sólidos insolubles

En la Figura 1 se presenta la variación del flujo del jugo clarificado de la pulpa del mesocarpio en el tiempo, con la membrana del fabricante Rhodia, en el proceso de microfiltración tangencial, el flujo disminuye bruscamente en los primeros 10 minutos luego se mantiene constante alrededor de 20 $\text{Lh}^{-1}\text{m}^{-2}$ hasta los 90 minutos, debido a la colmatación de la membrana.

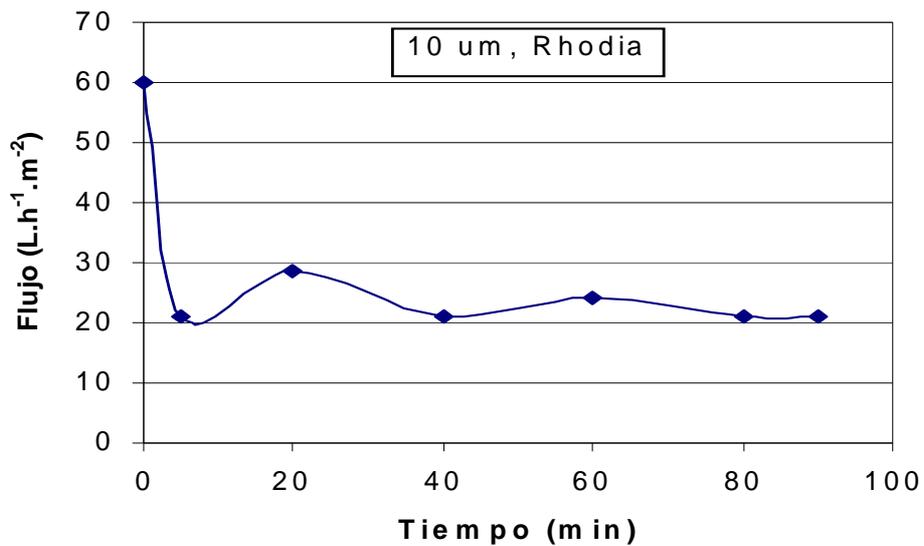


Figura 1. Evolución del flujo del jugo clarificado en la microfiltración de la pulpa del mesocarpio (2,5 bar, 32 °C, equipo TIA)

En la Figura 2 se presenta la evolución del flujo del jugo clarificado, de la pulpa de la placenta del tomate de árbol morado, durante la la separación de los sólidos insolubles con microfiltración tangencial. Como se puede apreciar el flujo de permeado con la membrana Membralox tiene un mayor rendimiento que la membrana de Rhodia, además, el flujo del permeado se estabiliza a los 20 minutos mientras que en la membrana Rhodia se estabiliza

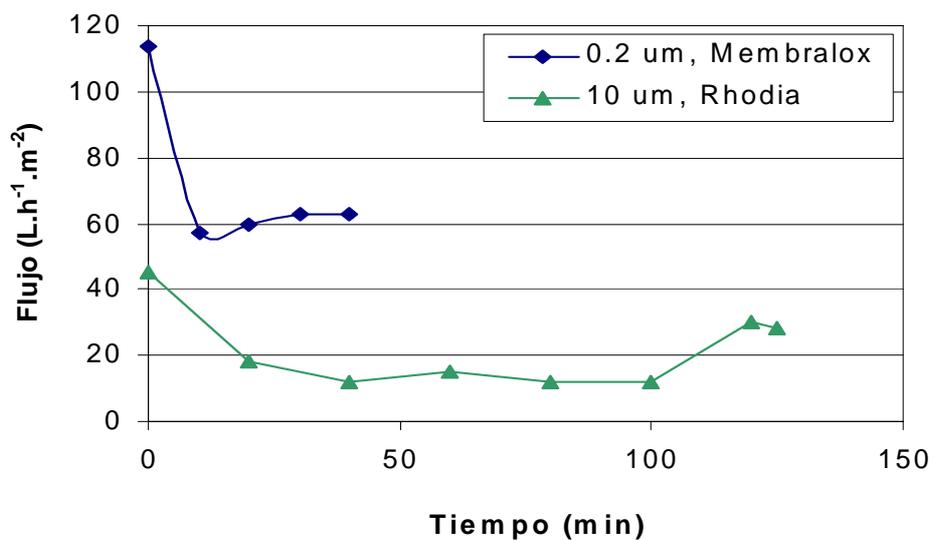


Figura 2. Evolución del flujo del jugo clarificado en la microfiltración de la pulpa de la placenta (2,5 bar, 35 °C, equipo TIA)

a los 40 minutos, esto puede ser consecuencia del tamaño de poro de las membranas.

El comportamiento del extracto enzimático de la cáscara del tomate de árbol, en la microfiltración tangencial para la separación de los sólidos insolubles, se presenta en la Figura 3; en la que se aprecia que el flujo inicia desde $81 \text{ Lh}^{-1} \text{ m}^{-2}$, y se reduce en un 50% en los primeros 10 minutos, luego sigue disminuyendo y se estabiliza alrededor de $32 \text{ Lh}^{-1} \text{ m}^{-2}$ debido a la colmatación de la membrana con un flujo de retención volumétrico de 1.55.

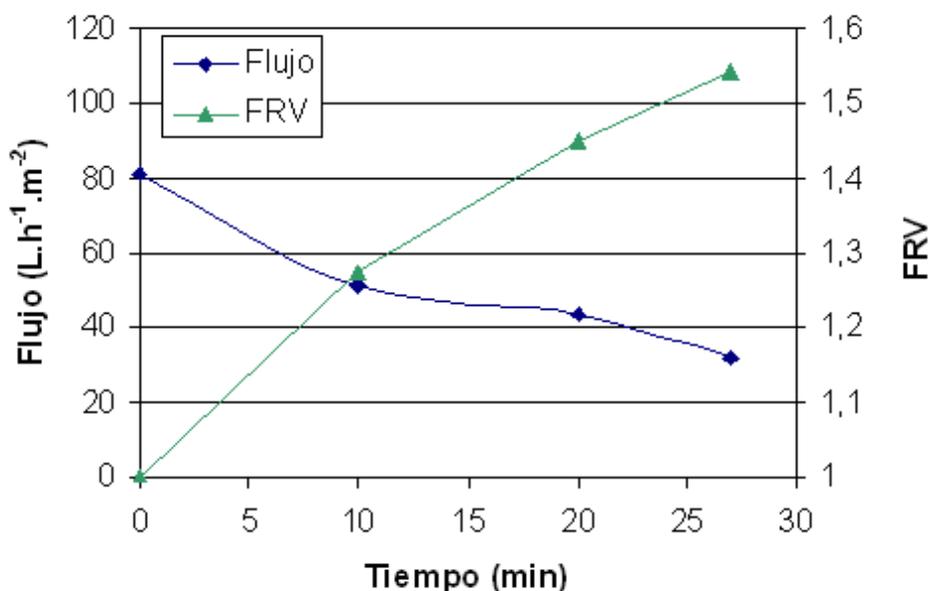


Figura 3. Variación del flujo de permeado y del factor de retención volumétrico (FRV) en la microfiltración del extracto enzimático de la cáscara, utilizando la membrana marca Membralox de $0,2 \mu\text{m}$ (3 bar, $34 \text{ }^\circ\text{C}$, equipo TIA)

Los flujos de permeado del extracto alcohólico de la cáscara (Figura 4), medidos durante el proceso fueron superiores a los obtenidos durante la microfiltración del extracto enzimático de la cáscara; así, los flujos de permeado inicial y final del extracto alcohólico fueron de 558 y $336 \text{ L.h}^{-1} \text{ m}^{-2}$, mientras que para el extracto enzimático fueron de 81 y $32 \text{ L.h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ respectivamente.

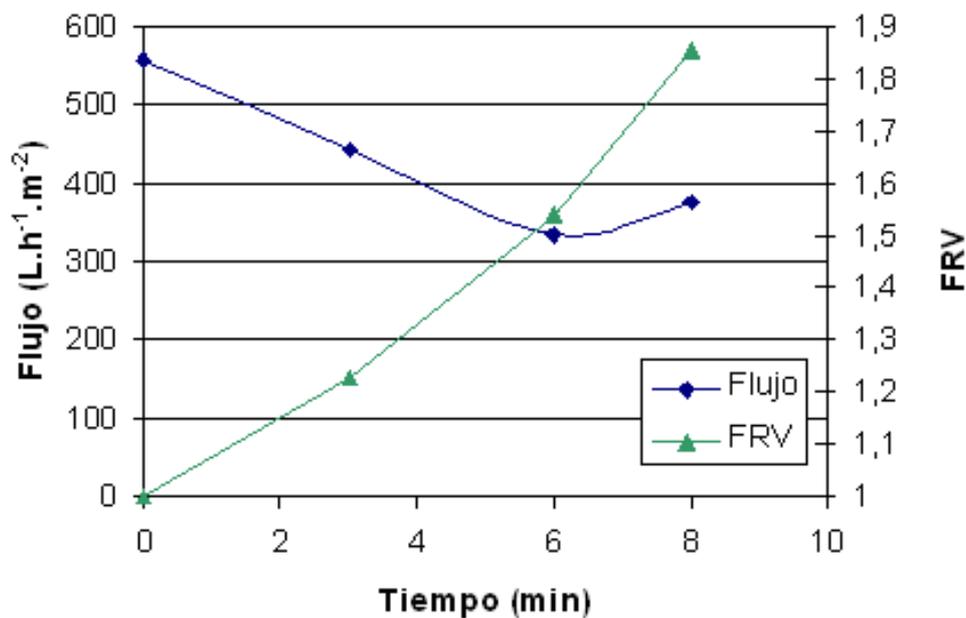


Figura 4. Variación del flujo de permeado y del factor de retención volumétrico (FRV) en la microfiltración del extracto alcohólico de la cáscara, utilizando la membrana marca Membralox de 0,2 μm (3 bar, 32 $^{\circ}\text{C}$, equipo TIA)

Separación de los polifenoles

Como se puede observar en la Figura 5 no existe una influencia importante del diámetro de poro de la membrana en el flujo de permeado, debido probablemente a que la alimentación para los procesos realizados en el

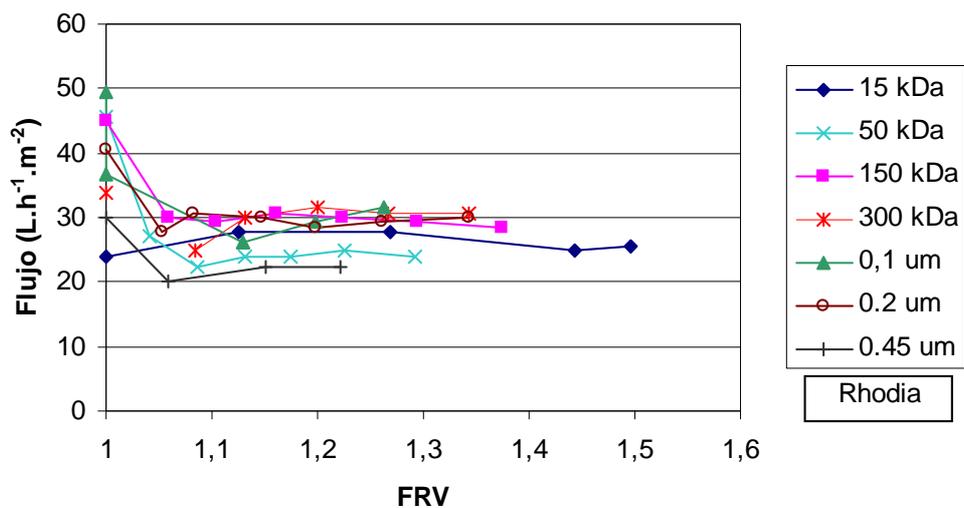


Figura 5. Variación del flujo de permeado y el FRV en la ultrafiltración del jugo clarificado del mesocarpio (3 bar, 20 $^{\circ}\text{C}$, equipo SEMATECH)

módulo a escala de laboratorio marca SEMATECH es el jugo clarificado obtenido de la microfiltración de la pulpa del mesocarpio y por lo tanto el colmataje de la membrana es mínimo.

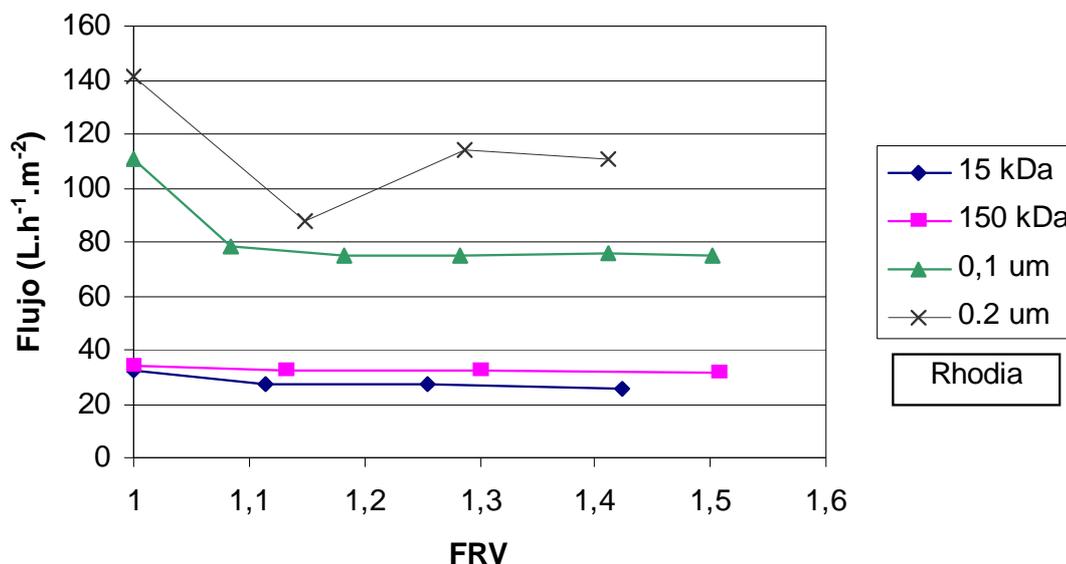


Figura 6. Variación del flujo de permeado en la ultrafiltración del jugo clarificado de la placenta (3 bar, 20 °C, equipo SEMATECH)

En las Figuras 6, 7 y 8 se presentan los resultados de los procesos realizados en el módulo a escala de laboratorio marca SEMATECH, alimentados con los jugos clarificados de la placenta y los extractos enzimático y alcohólico, respectivamente, se observa que los flujos de permeado se incrementan con el tamaño de poro de la membrana, esto indica que debe existir retención de ciertos compuestos en las membranas de 15 kDa y 150 kDa ya que los flujos obtenidos con estas membranas son los más bajos.

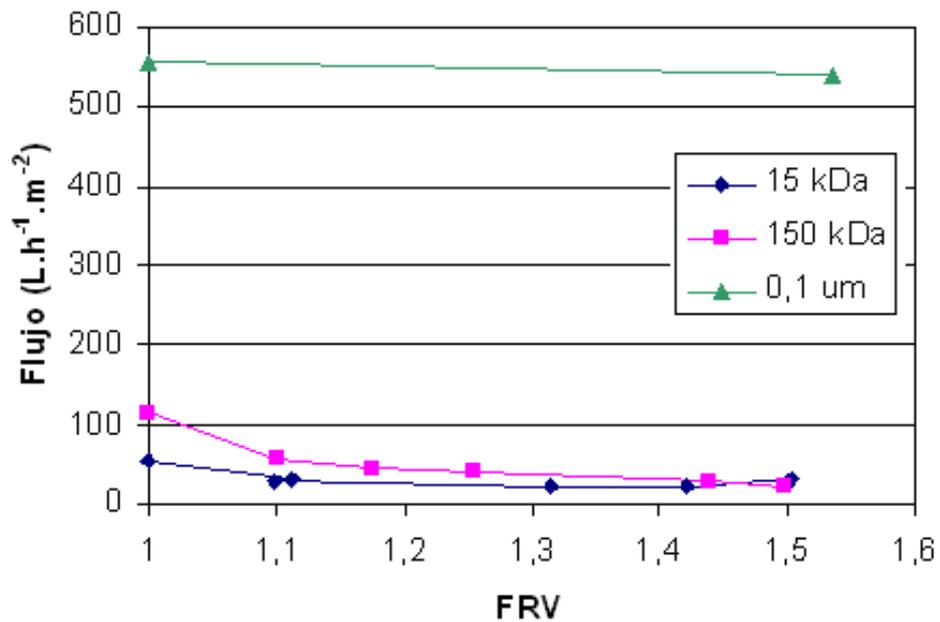


Figura 7. Variación del flujo de permeado y del factor de retención volumétrico (FRV) en la ultrafiltración del jugo clarificado del extracto enzimático de la cáscara, utilizando las membranas marca Rhodia (4 bar, 20°C, equipo SEMATECH)

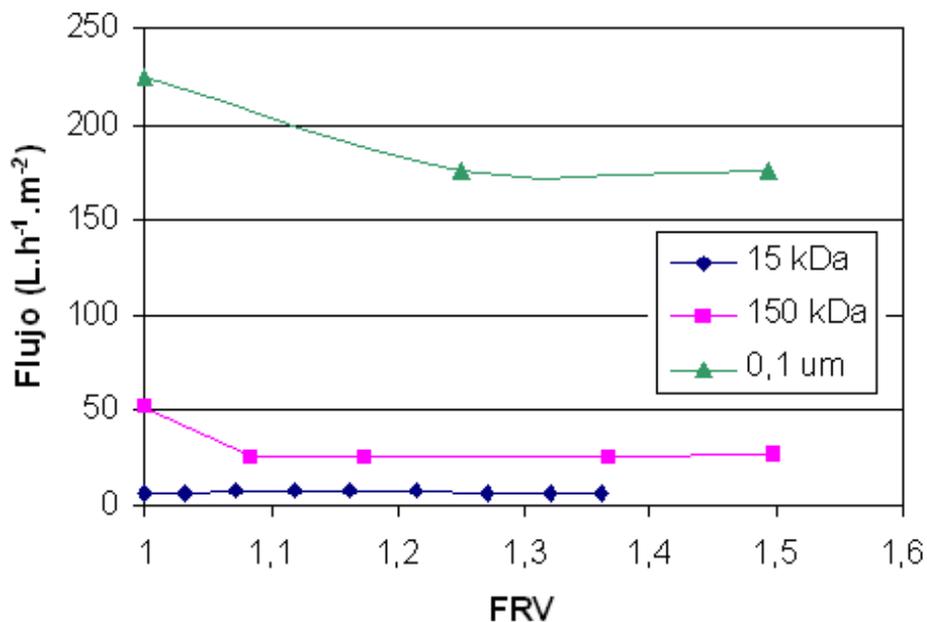


Figura 8. Variación del flujo de permeado y del factor de retención volumétrico (FRV) en la microfiltración del extracto alcohólico de la cáscara, utilizando las membranas marca Rhodia (4 bar, 20°C, equipo SEMATECH)

En las Tablas 1 y 2 se presenta la caracterización de las muestras de tomate de árbol morado sometidas a micro y ultrafiltración. Como podría esperarse,

se observa que el pH, permanece constante en todas las fracciones y en todos los tratamientos. Esto se debe a que las moléculas de los compuestos responsables de dicha propiedad, tienen un tamaño inferior al tamaño del poro de las membranas utilizadas.

Tabla 1. Propiedades de las fracciones obtenidas en la micro y la ultrafiltración de la pulpa del mesocarpio.

		Membrana	Alimentación	Retenido	Permeado
PULPA	10 µm	pH	3,55	3,53	3,55
		Brix	8,2	8,6	6,8
		Acidez (%)	0,22	0,22	0,21
		Polifenoles	38,22 **	35,29 **	32,42 *
		Vitamina C (mg/100g)	LND	LND	LND
		β – carotenos (mg/100g)	0,48	1,06	LND
0,45 µm	pH	3,56	3,55	3,18	
	Brix	6,2	7,2	5	
	Acidez (%)	0,2	0,18	0,13	
	Polifenoles*	32,58	31,02	0,32	
0,2 µm	pH	3,56	3,54	3,54	
	Brix	7	7,8	7,8	
	Acidez (%)	0,2	0,19	0,2	
	Polifenoles*	34,08	31,4	31,66	
0,1 µm	pH	4,17	4,14	4,1	
	Brix	8,4	7,8	7,2	
	Acidez (%)	0,21	0,21	0,18	
	Polifenoles*	34,73	34,3	30,6	
300 kDa	pH	4,05	4,04	4,04	
	Brix	8,4	8,2	6	
	Acidez (%)	0,21	0,2	0,15	
	Polifenoles*	35,13	30,6	23,73	
150 kDa	pH	4,04	4,02	4,01	
	Brix	8,4	8	6	
	Acidez (%)	0,21	0,2	0,15	
	Polifenoles*	33,99	35,38	23,55	
50 kDa	pH	4,02	3,99	3,99	
	Brix	8,4	7,8	5,8	
	Acidez (%)	0,21	0,21	0,15	
	Polifenoles*	35,01	34,92	22,78	
15 kDa	pH	3,98	3,95	3,99	
	Brix	8,2	8	5,4	
	Acidez (%)	0,21	0,21	0,14	
	Polifenoles*	33,53	35,1	21,73	

* En mg equivalente de ácido gálico / mL . ** En mg equivalente de ácido gálico / g

En efecto se conoce que estas moléculas son solo retenidas por nanofiltración o en ósmosis reversa (Scott, 1995). Los valores de sólidos

solubles y de la acidez titulable son menores en los permeados obtenidos en los procesos de ultrafiltración, esto nos indicaría que se produjo un fraccionamiento de las moléculas responsables de estas propiedades.

La alimentación de los procesos de microfiltración contiene β -carotenos (Tablas 1 y 2), sin embargo en el permeado la concentración de estos se encuentra bajo el límite de detección. Se puede concluir que los β -carotenos son retenidos por las membranas en la microfiltración tanto a 10 μm como a 0,2 μm .

En la Tabla 2. se observa que la alimentación de los diferentes procesos de ultra y nanofiltración para la placenta tienen vitamina C sin embargo en el retenido y el permeado la concentración de vitamina C se encuentra bajo el límite de detección lo que nos indica que las condiciones del proceso produjeron el deterioro de esta vitamina.

De los resultados presentados en las Tablas 1 y 2 se determina que la fracción de tomate de árbol en la que se encuentra la mayor concentración de vitamina C es la placenta ya que en las otras fracciones, cáscara y mesocarpio, los valores de vitamina C se encuentran bajo el límite de detección.

Se puede observar en Tablas 1 y 2 que los procesos de microfiltración con las membranas de 10 μm a 0,2 μm no producen ningún cambio en la concentración de polifenoles, ya que esta es similar tanto para la alimentación, permeado y retenido. Esto indica que estas membranas no logran retener estos compuestos. Sin embargo en los procesos de ultra y nanofiltración, se observa una disminución de la concentración de polifenoles en el permeado. Estos primeros resultados parecen indicar que al utilizar membranas de tamaño de poro inferior a 0,1 μm , se podría separar polifenoles de diferentes tamaños moleculares. Sin embargo, al realizar análisis por HPLC de los permeados de la placenta obtenidos de los procesos de filtración con las membranas de 0,2 μm y de 15 KDa se observó

Tabla 2. Propiedades de las fracciones obtenidas en la separación de sólidos insolubles y de polifenoles

	Membrana	Placenta			Extracto enzimático de la cáscara			Extracto alcohólico de la cáscara.			
		A	R	P	A	R	P	A	R	P	
PULPA	0,2 μ m	pH	3,95	3,95	3,94	3,98	3,98	4,03	4,66	4,63	4,65
		Brix	9,6	9,8	7,8	2	2	1,8	16,7	16,5	16,1
		Acidez (%)	0,15	0,19	0,13	0,039	0,045	0,039	0,04	0,03	0,03
		Polifenoles	201,11	150,51	151,43	65,81	52,45	47,18	56,45	57,58	53,62
		Vitamina C (mg/100g)	0,15	0,11	0,16	LND	LND	LND	LND	LND	LND
		β - carotenos (mg/100g)	0,54	0,81	LND	0,09	0,11	LND	0,02	0,02	LND
JUGO CLARIFICADO	0,1 μ m	pH	3,72	3,72	3,71	3,87	3,9	3,93	4,56	4,61	4,56
		Brix	6,4	3,9	6,2	1,6	1,6	1,6	15	14,85	13,65
		Acidez (%)	0,12	0,12	0,09	0,04	0,04	0,04	0,03	0,03	0,03
		Polifenoles*	142,32	159	128,53	42,98	43,65	42,21	51,03	51,47	52,19
		Vitamina C	0,041	LND	LND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		β - carotenos	LND	LND	LND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
JUGO CLARIFICADO	150 kDa	pH	3,7	3,71	3,74	3,89	3,96	3,93	4,56	4,52	4,53
		Brix	7,4	6	6,2	1,6	1,8	1,8	14,2	14,7	14,6
		Acidez (%)	0,12	0,12	0,1	0,03	0,04	0,04	0,03	0,03	0,03
		Polifenoles*	145,88	162,23	126,37	43,7	42,71	41,63	54,21	54,39	49,76
		Vitamina C	0,022	LND	LND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		β - carotenos	LND	LND	LND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
JUGO CLARIFICADO	15 kDa	pH	3,71	3,73	3,73	4,08	4,08	4,04	4,67	4,63	4,6
		Brix	6,1	4,3	6,2	1,8	1,8	1,8	15,45	15,75	14,6
		Acidez (%)	0,11	0,12	0,12	0,04	0,04	0,04	0,03	0,03	0,03
		Polifenoles*	140,04	144,02	146,9	43,88	44,73	34,4	53,89	60,05	43,52
		Vitamina C	0,1	LND	LND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		β - carotenos	LND	LND	LND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

*Concentración de polifenoles totales en mg Ác. Gálico/100 mL. Alimentación (A), retenido (R) y permeado (P). LND: límite no detectable. ND: no determinado

que el perfil de polifenoles era similar; por lo tanto, con las membranas utilizadas, no se logró el fraccionamiento de los polifenoles utilizando el tamaño de poro como medio de selección.

Concentración por ósmosis inversa

La concentración de los jugos clarificados de placenta y cáscara se realizó en una configuración operacional de concentración por lotes, con un flujo inicial de permeado alto que redujo el volumen de la alimentación y concentró rápidamente el jugo, incrementando la presión osmótica y reduciendo el flujo de permeado (Figura 9). Un comportamiento semejante fue reportado por Matta *et al.* (2004) y Marcillo *et al.* (2007) durante la concentración de jugo de acerola y mora respectivamente.

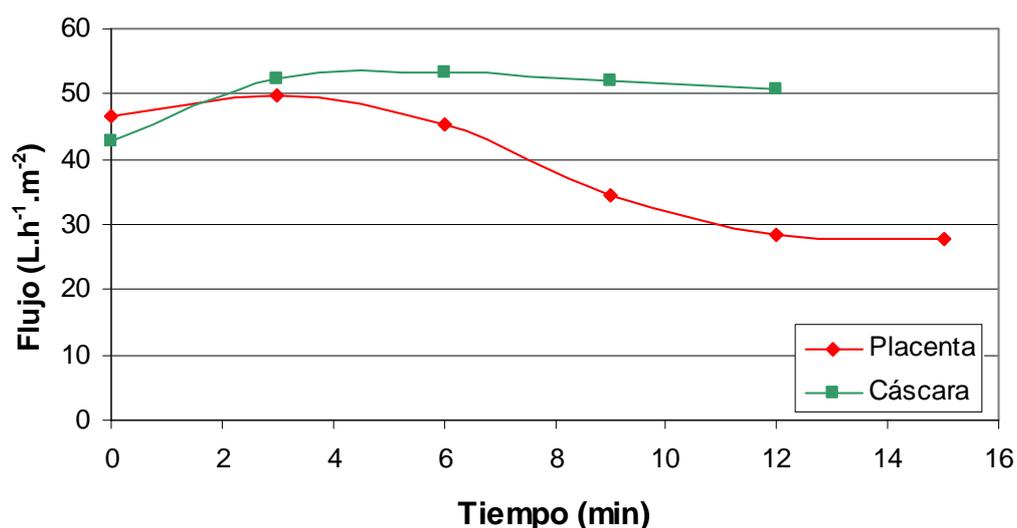


Figura 9. Comportamiento del flujo de permeado durante el proceso de ósmosis inversa del jugo clarificado de placenta y cáscara de tomate de árbol.

El flujo medio del permeado fue de 39 y 42 L.h⁻¹m² para el jugo clarificado de placenta y cáscara de tomate de árbol, respectivamente. Según Marcillo (2010) el flujo medio del permeado del jugo clarificado de tomate de árbol morado fue de 22,8 L.h⁻¹m², procesado a 30 °C y 60 bar de presión esta diferencia puede deberse a que en el este estudio el jugo clarificado contiene los sólidos solubles del mesocarpio con una concentración de sólidos solubles inicial de 7 - 8 °Brix, los que podrían dificultar el paso de permeado a

través de la membrana, mientras que en el jugo clarificado de placenta y del extracto enzimático de la cáscara la concentración sólidos solubles inicial fue de 5 y 2 °Brix, respectivamente.

El flujo de permeado se reduce con mayor rapidez para el jugo de placenta que para el jugo de cáscara debido a que el jugo de placenta inicia con mayor cantidad de sólidos solubles por lo que tiene una mayor presión osmótica que se opone al paso del permeado. El factor de concentración volumétrica para la placenta fue de 2,0 y de 2,2 para la cáscara.

El contenido de sólidos solubles (°Brix) se incrementa durante el proceso de concentración de los jugos clarificados desde un valor de 5,2 y 2 °Brix hasta alcanzar 13,6 y 4,8 °Brix en los jugos de placenta y cáscara respectivamente, obteniéndose las curvas típicas del proceso (Figura 10). Los factores de concentración volumétrica obtenidos fueron 2,6 y 2,5 veces para placenta y cáscara son semejantes al valor obtenido por Marcillo (2010) para el jugo de tomate de árbol morado (2,8).

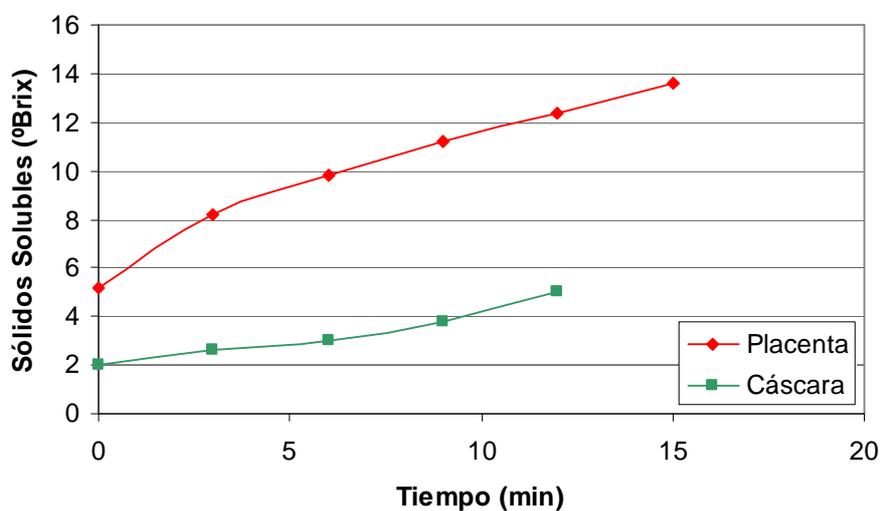


Figura 10. Variación de los sólidos solubles durante la concentración por ósmosis inversa de jugo clarificado de placenta y cáscara de tomate de árbol.

En la Tabla 3 se observa que la mayor parte de los compuestos de los jugos clarificados fueron retenidos por la membrana, el factor de concentración para los polifenoles solubles totales fue de 1,5; este resultado indicaría que

Tabla 3. Caracterización de jugos clarificados y concentrados por ósmosis inversa de placenta y cáscara de tomate de árbol morado

	Placenta			Cáscara		
	Jugo Clarificado	Jugo Concentrado	Permeado	Jugo Clarificado	Jugo Concentrado	Permeado
pH	3,3	3,2	3,95	3,6	3,6	3,93
Brix	5,2	13,6	0,2	2	4,8	0
Acidez (%)	0,1	0,29	LND	0,3	0,8	LND
Polifenoles (mg equivalente de ácido gálico /100 mL de muestra)	110,61 ± 4,43	169,97 ± 0,84	LND	60,25 ± 0,88	149,07 ± 3,27	LND
Antocianinas (mg equivalente de cianidina-3-glucósido /L de muestra)	557,74 ± 16,53	1449,46 ± 1,63	LND	ND	ND	ND
Capacidad antioxidante (equivalente de trolox µM/L de muestra)	686,66 ± 15,53	1670,69 ± 1,63	LND	200,78 ± 5,82	491,22 ± 22,92	LND
Vitamina C (mg/100 mL)	0,15 ± 0,00	2,66 ± 0,21	LND	ND	ND	ND
Fructosa (mg/100 mL)	208,69 ± 1,98	833,12 ± 51,85	LND	159,19 ± 14,33	313,67 ± 12,51	LND
Glucosa (mg/100 mL)	384,64 ± 8,57	1315,96 ± 84,139	LND	158,81 ± 12,11	LND	LND
Sacarosa (mg/100 mL)	579,33 ± 56,55	3.817,22 ± 260,37	LND	LND	LND	LND
Acido cítrico (mg/100 mL)	818,29 ± 3,36	3.749,94 ± 1,34	2,73 ± 0,00	621,64 ± 7,49	1.459,50 ± 52,11	0,92 ± 0,01
Acido tartárico (mg/100 mL)	LND	LND	LND	LND	LND	LND
Acido málico (mg/100 mL)	98,43 ± 5,78	405,25 ± 2,11	2,16 ± 0,00	36,93 ± 0,16	129,27 ± 4,38	LND
Sodio (mg/L)	1,29	2,88	1,66	2,46	6,92	0,28
Calcio (mg/L)	0,27	2,61	LND	3,01	8,93	LND
Hierro (mg/L)	0,11	3,53	LND	1,87	5,78	LND

LND: Límite no detectable. ND: No determinado

los polifenoles se deterioran o quedan retenidos en los poros de la membrana durante el proceso de concentración del jugo clarificado de placenta, mientras que para la concentración de antocianinas y la capacidad antioxidante el factor de concentración es de 2,6 y 2,4 respectivamente, y concuerda con el FRV del proceso de concentración por ósmosis inversa, estos resultados indican que la capacidad antioxidante del jugo de placenta se debe en gran medida a las antocianinas contenidas en el mismo. En el permeado no se detectaron polifenoles ni presentó capacidad antioxidante, esto muestra que estas sustancias se retienen en un 100%. El factor de concentración para los ácidos orgánicos y los azúcares fue de 4,6 y 3,4 veces respectivamente. Marcillo (2010) reportó resultados similares a los obtenidos en este estudio para los demás compuestos concentrados.

Concentración utilizando la resina XA 5071 FG

En la figura 11 se muestran los seis eluatos obtenidos del proceso de concentración del jugo clarificado de placenta utilizando la resina XA 5071 FG. Para calcular el porcentaje de polifenoles de las diferentes muestras se tomó como base la cantidad de polifenoles que contenía la alimentación (100%).

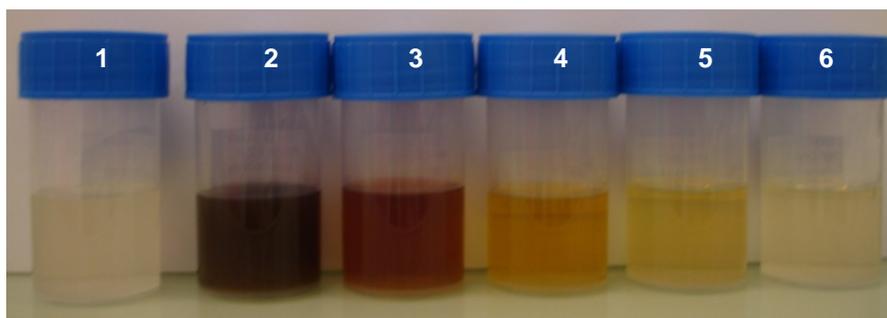


Figura 11. Eluatos de la concentración de polifenoles del jugo clarificado de placenta de tomate de árbol con la resina XA 5071 FG

Como se puede observar en la Figura 12 en el segundo eluato se obtuvo el mayor porcentaje de polifenoles, tanto para el mesocarpio, placenta y cáscara. En el eluato dos se encuentran el 42, 56 y 60 % de los polifenoles del mesocarpio, placenta y cáscara respectivamente.

Los eluatos dos y tres fueron mezclados para realizar los análisis, ya que contienen el mayor porcentaje de polifenoles y se le llamó eluato de mayor concentración.

En la Tabla 4 se presenta la capacidad antioxidante medida según el método ORAC de los eluatos de mayor concentración tanto de la placenta como de la cáscara, estos tienen valores similares a los reportados por Ou *et al.* (2001) para jugo de arándano y uva de 34659 y 31441 μM equivalentes de trolox /L de muestra, respectivamente.

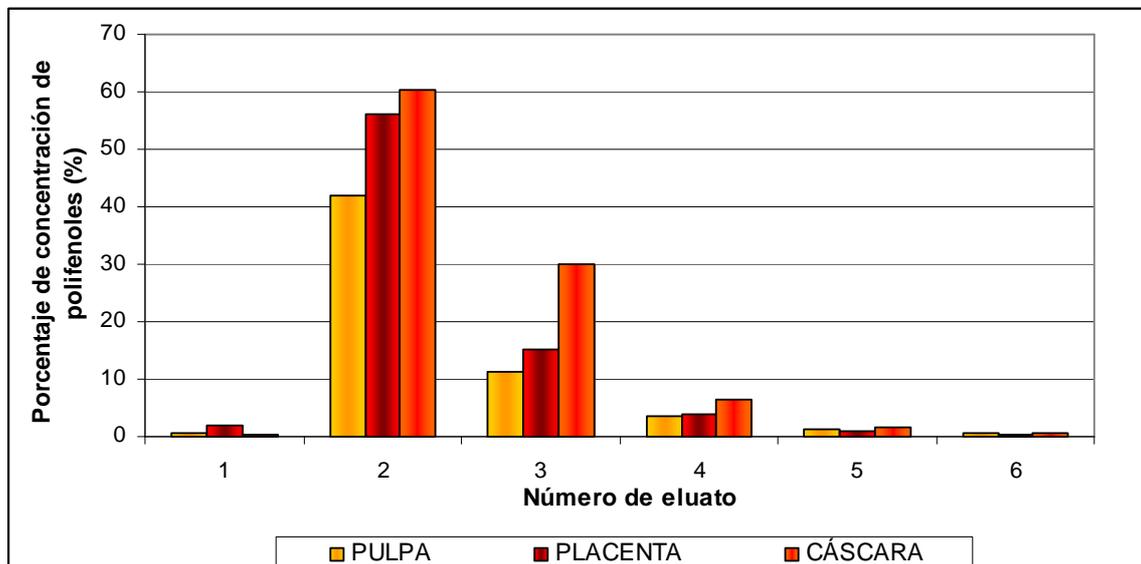


Fig. 12. Evolución del porcentaje de concentración de la cantidad de polifenoles por orden creciente de los eluatos obtenidos usando la resina XA 5071 FG

Los resultados de la Tabla 4, además muestran que en todos los casos, el contenido de polifenoles del eluato de mayor concentración es mucho más alto que el contenido de los jugos clarificados que constituyeron la alimentación, así, para el mesocarpio es 2,7 veces mayor que en el jugo clarificado, mientras que para la placenta y la cáscara el contenido es mayor en 4 y 4,5 veces respectivamente.

La concentración de polifenoles determinados como ácido clorogénico es mayor en el eluato de mayor concentración que en los jugos clarificados alimentados al proceso. Para el mesocarpio la concentración se duplicó, para la

cáscara se triplicó, manteniendo relaciones semejantes a las obtenidas al medir los polifenoles totales; mientras que para la placenta el eluato de mayor concentración contiene 16 veces la cantidad de polifenoles que la contenida en el jugo clarificado alimentado al proceso. El Eluato de mayor concentración de la placenta contiene el doble de la concentración de antocianinas como cianidina-3-glucósido, que el jugo clarificado mientras que para la cáscara y pulpa el contenido de antocianinas no fue detectable.

Tabla 4. Caracterización las fracciones de tomate de árbol en el proceso concentración utilizando la resina XA 5071 FG

Muestra		Jugo clarificado	Eluato de mayor concentración
Mesocarpio	Polifenoles totales ^a	23,39 ± 0,75	63,34 ± 1,22
	Polifenoles como ácido clorogénico ^b	20,88 ± 2,09	47,78 ± 0,16
	Antocianinas ^c	LND	LND
	Capacidad antioxidante ^d	3.001 ± 142	11.176 ± 698
Placenta	Polifenoles totales ^a	54,16 ± 2,72	216,27 ± 4,34
	Polifenoles como ácido clorogénico ^b	9,54 ± 1,30	158,39 ± 21,07
	Antocianinas ^c	663,79 ± 43,71	1.213,54 ± 54,60
	Capacidad antioxidante ^d	8.614 ± 54	35.708 ± 97
Cascara	Polifenoles totales ^a	36,19 ± 1,82	162,52 ± 1,86
	Polifenoles como ácido clorogénico ^b	299,02 ± 18,33	1068,47 ± 2,73
	Antocianinas ^c	LND	LND
	Capacidad antioxidante ^d	6.413 ± 106	35.322 ± 1481

^a Expresado en equivalente de ácido gálico mg /100g de muestra, media ± desviación estandar , n= 2, tres determinaciones; ^b expresado en mg /L de muestra, media ± desviación estandar , n= 2, una determinación; ^cexpresado en mg /L de muestra, media ± desviación estándar , n= 2, una determinación; ^d Expresado en equivalente de trolox µM/L de muestra, media ± desviación estandar , n= 2, dos determinaciones

Los eluatos de mayor concentración presentan mayor capacidad antioxidante que los jugos clarificados que constituyeron la alimentación del los procesos. La capacidad antioxidante se intensifica en 3,7 veces para el mesocarpio, en 4 veces para la placenta y en 5,5 veces para la cáscara.

Comparando los procesos de concentración de los polifenoles se puede observar que en el proceso de concentración del jugo clarificado de placenta utilizando la resina XA 5071 FG, el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante se cuadruplicaron, el contenido de antocianinas se incrementó en 1,8 veces; mientras que en el proceso de ósmosis inversa los factores de concentración son inferiores, así, el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante se incrementó en 1,5 y 2,5 veces respectivamente y el aumento del contenido de antocianinas fue de 2,6 veces. Los factores de concentración del jugo clarificado de cáscara siguen la misma tendencia; la concentración de polifenoles totales alcanza un factor de 4,5 y la capacidad antioxidante de 5,5; valores superiores a los obtenidos con los procesos de ósmosis inversa, que fueron de 2,5. Sin embargo se debe tomar en cuenta que con un mayor volumen de alimentación en el proceso de osmosis inversa se puede obtener valores superiores del FRV y en consecuencia una mayor concentración de los polifenoles.

4. Conclusiones

Los procesos de microfiltración con las membranas de 10 μm a 0,2 μm no logran retener los polifenoles solubles totales pues las concentraciones para la alimentación, permeado y retenido son semejantes para las diferentes muestras.

En los procesos de ultrafiltración la reducción del flujo de permeado con la disminución del tamaño de poro de la membrana y la disminución de la concentración de polifenoles solubles totales en los permeados indicarían que al utilizar membranas de tamaño de poro inferior a 0,1 μm , se podría separar polifenoles de diferentes tamaños moleculares. Sin embargo, al realizar análisis por HPLC de los permeados de la placenta obtenidos de los procesos de filtración con las membranas de 0,2 μm y de 15 KDa se observó que el perfil de polifenoles era similar; por lo tanto, con las membranas utilizadas, no se logró el fraccionamiento de los polifenoles utilizando el tamaño de poro como medio de selección.

La ósmosis inversa permitió concentrar los polifenoles solubles totales pero debido al modo de operación y volumen de alimentación no se alcanzó la concentración máxima de los compuestos de interés.

En el proceso de concentración de polifenoles de los jugos clarificados de mesocarpio, placenta y cáscara de tomate de árbol morado utilizando la resina XA 5071 se obtuvieron los mejores resultados, así, la concentración de polifenoles y capacidad antioxidante se incrementaron en 4,5 y 5,5 veces respectivamente para la cáscara y en cuatro veces para la placenta, siendo estos factores superiores a los obtenidos en el proceso de ósmosis inversa realizado en este estudio.

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento al Proyecto de la Comunidad Europea FP6-2003-INCO-DEV-2 CONTRATO(015279) "Producing adding value from under-utiliced tropical fruit crops with high commercial potencial " (PAVUC), a través del cual se realizó este estudio.

Bibliografía

- Abdulla, M. (1986). *Inorganic elements in prepared meals in Sweden*. Ph.D. Tesis, University of Lund, Lund.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*, 56, 317-333.
- Chandra, A., Nair, M., & Iezzoni, A. (1993). Isolation and Stabilization of Anthocyanins from Tart Cherries (*Prunus cermug L.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 1062-1065.
- Georgé, S., Brat, P., Alter, P., & Amiot, M. (2005). Rapid Determination of Polyphenols and Vitamin C in Plant-Derived Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1370-1373.
- Gil, M., Tomás-Berberán, F., Hess-Pierce, B., Holcroft, D., & Kader, A. (2000). Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 4581-4589.
- Giusti, M., & Wrolstad, R. (2001). *Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV - Visible Spectroscopy*: John Wiley & Sons, Inc.
- Horwits, W. (2000). *Official Methods of Analysis of AOAC international* (17 ed.). Maryland: AOAC INTERNATIONAL.

- ISO. (1991). Fruit and Vegetable products - Determination of pH, ISO 1842:1991. *International Organization for Standardization*.
- Lichtenthäler, R., & Marx, F. (2005). Total oxidant scavenging capacities of common european fruit and vegetables juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53., 103-110.
- Liu, X., Xiao, G., Chen, W., Xu, Y., & Wu, J. (2004). Quantification and Purification of Mulberry Anthocyanins With Macroporous Resins. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 5, 326-331.
- Liu, X., Yang, B., Xu, Z., Zhao, J., Gao, Y., & Wang, L. (2007). Adsorption Characteristics of Anthocyanins from Purple-fleshed Potato (*Solanum tuberosum* Jasim) Extract on Macroporous Resins. *International Journal of Food Engineering*, 3(5).
- Macrae, R. (1988). *HPLC in food analysis* (2 ed.). Gran Bretaña.
- 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*. M.Sc. Tesis Escuela Politécnica Nacional, Quito.
- Marcillo, V., Cruz, A., Cabral, L., Matta, V., Vera, E., & Ruales, J. (2007). Utilización de tecnología de membranas para la obtención de jugo clarificado concentrado de mora (*Rubus glaucus*). *Alimentos Ciencia e Ingeniería*, 16(1), 89-91.
- Matta, V., Moretti, R., & Cabral, L. (2004). Microfiltration and reverse osmosis for clarification and concentration of acerola juice. *Journal of Food Engineering*, 61, 477-482.
- Mazza, G., & Velioglu, Y. (1992). Anthocyanins and other phenolic compounds in fruits of red-flesh apples. *Food Chemistry*, 43(2), 113-117.
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. (2001). Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4619-4626.
- Pérez, A., Olias, R., Espada, J., Olias, J., & Sanz, C. (1997). Rapid determination of sugars, non-volatile acids, and ascorbic acid in strawberry and other fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(9), 3545-3549.
- Petterson, A., & Jonsson, L. (1990). Separation of cis-trans isomers of alpha- and beta-carotene by adsorption HPLC and identificación with diode array. *Journal of Micronutrient Analysis*, 8, 23-41.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology & medicine*, 26, 1231-1237.
- Scordino, M., Di Mauro, A., Passerini, A., & Maccarone, E. (2004). Adsorption of Flavonoids on Resins: Cyanidin 3-Glucoside. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 1965-1972.
- Scott, K. (1995). *Handbook of industrial membranes* (2 ed.). Oxford: Elsevier science publishers LTD.
- Silva, E., Pompeu, D., Larondelle, Y., & Rogez, H. (2007). Optimisation of the adsorption of polyphenols from *Inga edulis* leaves on macroporous resins using an experimental design methodology. *Separation and Purification Technology*, 53, 274-280.
- Vaillant, F., Millan, A., Dornier, M., Decloux, M., & Reynes, M. (1999). *La microfiltración tangencial de los jugos pulposos. Una nueva estrategia*. Artículo

presentado en Simposio Internacional Aplicación de Tecnologías de Membrana en la Industria Agro-alimentaria Latinoamericana, Quito.

Vasco, C. (2005). *Qualitative and quantitative analysis of phenolic compounds with antioxidant capacity in a selection of fruits and vegetables cultivated in Ecuador*. MSc. Tesis, Escuela Politécnica Nacional, Quito-Ecuador, Chalmers University of Technology, Gothenburg-Sweden.

ARTÍCULO IV

Efecto de secado por aspersión en el contenido de polifenoles y antocianinas del concentrado del jugo clarificado de la placenta del tomate de árbol morado (*Solanum betaceum Cav*)

Beltrán Elena, Pólit Pablo Ruales Jenny
ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
Pasaje Andalucía E 12A y Veintimilla
Casilla 17-01-2759. E. mail. elenarbs@yahoo.es; jenny.ruales@epn.edu.ec; ppolit@edu.ec
QUITO – ECUADOR

Resumen

En el estudio del efecto de secado por aspersión del concentrado de jugo clarificado de la placenta del tomate de árbol morado (*Solanum betaceum Cav*); se determinó la concentración de polifenoles con el método del Folin Ciocalteus y antocianinas con el método del diferencial de pH. El proceso de secado se realizó con tres concentraciones de maltodextrina, mientras las demás variables permanecieron constantes. El producto deshidratado que presentó la mayor concentración de polifenoles y de antocianinas fue el que contenía la menor concentración de maltodextrina con valores de 842,97 mg equivalente de ácido gálico /100 g de muestra y 3,85 mg equivalente de cianidina-3-glucósido/g de muestra, respectivamente. El porcentaje de recuperación de los polifenoles fue superior al 80 % en todos los procesos.

Palabras claves: Tomate de árbol, *Solanum Betaceum Cav*, polifenoles, secado por aspersión.

1. Introducción

El consumo de frutas y alimentos de origen vegetal está asociado con la reducción del riesgo de sufrir enfermedades crónicas, enfermedades del corazón, algunos tipos de cáncer y procesos inflamatorios. Los polifenoles son compuestos ampliamente distribuidos en los tejidos vegetales y han cobrado gran importancia debido a sus potenciales beneficios para la salud por su actividad antioxidante (Bravo, 1998; Nack & Shahidi, 2006; Vasco, 2005). En el estudio realizado por Vasco (2005) se determinó que el tomate de árbol es una de las frutas ecuatorianas con mayor contenido de polifenoles.

La deshidratación es un proceso que permite poner al alcance del consumidor una mayor variedad de alimentos de cómoda utilización, pero altera en cierto grado, tanto las características organolépticas, como el valor nutritivo de los productos.

Mediante la deshidratación se elimina la mayor parte del agua de los alimentos por evaporación, aplicando generalmente calor. Lohachoompol *et al.* (2004) determinaron que en la deshidratación de grosella negra utilizando un deshidratador de armario, disminuía el contenido de antocianinas totales, tanto en las frutas con tratamiento de deshidratación osmótica (49 %) como en aquellas sin pretratamiento (41 %), en comparación con la fruta fresca, sin embargo no existió diferencia significativa en la actividad antioxidante. En la deshidratación del concho de cáscara de uva, en un deshidratador de armario, realizada por Larrauri *et al.* (1997) determinaron que el contenido de polifenoles, color y actividad antioxidante no fueron afectados significativamente en el proceso de secado a 60 °C, mientras que a 100 y 140 °C se produjo una disminución de estos. El contenido de licopeno en jugo de tomate secado por aspersion fue estudiado por Candelas-Cadillo *et al.* (2005) utilizando dos temperaturas (170 y 180 °C) y diferentes concentraciones de maltodextrina. El mejor tratamiento fue el de 180 °C y 100 % de maltodextrina con relación a los sólidos solubles ya que el polvo obtenido presentó mayor estabilidad del licopeno y las mejores propiedades de color y humedad.

El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto del secado por aspersión sobre el contenido de polifenoles de los concentrados de jugo clarificado de placenta de tomate de árbol morado.

2. Materiales y métodos

Las materias primas fueron maltodextrina de yuca, elaborada en las instalaciones del Departamento de Ciencia de Alimentos y Biotecnología de la Escuela Politécnica Nacional de Quito, con un índice de dextrinización del 20 % y el concentrado del jugo clarificado de la placenta del tomate de árbol morado gigante (*Solanum betaceum Cav*). Para obtener el jugo clarificado de la placenta se utilizó fruta comprada en Baños, provincia de Tungurahua, Ecuador. La fruta se lavó con una solución de 200 ppm de hipoclorito de sodio, peló y cortó manualmente. Se separó la placenta del mesocarpio y se obtuvo la pulpa, luego la pulpa se hidrolizó con el coctel enzimático Rapidaza Vegetable Juice© (1 mL/kg muestra) por un tiempo de 30 min con agitación (Beltrán *et al.*, 2007); para la separación de los sólidos insolubles, se aplicó la microfiltración tangencial con un equipo marca TIA, provisto con una membrana cerámica, marca Membralox, de 0,2 μm de diámetro de poro, con una superficie de 0,2 m^2 . El jugo clarificado de la placenta se concentró por ósmosis inversa en un módulo B1 (Aquious-PCI) provisto de 18 membranas tubulares AFC99 de poliamida con una área filtrante de 0,9 m^2 y una exclusión de NaCl del 99 %, a 52 bar y 25 °C. La configuración operacional utilizada fue de concentración por lotes (Beltrán *et al.*, 2012).

Con el fin de obtener polvos con buenas características, que no se apelmacen durante el proceso de secado, se realizaron pruebas preliminares en una estufa al vacío. Mediante balance de masa se determinó la cantidad de maltodextrina que sería añadida al jugo concentrado con las siguientes relaciones de sólidos solubles del jugo concentrado de placenta: sólidos aportados por la maltodextrina, 1:1; 1:1,5 y 1:2.

El secado se realizó en un secador por aspersión marca Niro Atomizer número de serie 1374, provisto de un atomizador rotatorio, con un sistema de

alimentación de flujo de aire en co-corriente, a una temperatura de entrada del aire de 180 °C y una temperatura de salida de 105 °C; el flujo de alimentación fue de 600 mL/h. En la Figura 1 se presenta el diagrama de flujo del proceso de secado del jugo concentrado de placenta de tomate de árbol por aspersión. Se realizó una repetición.

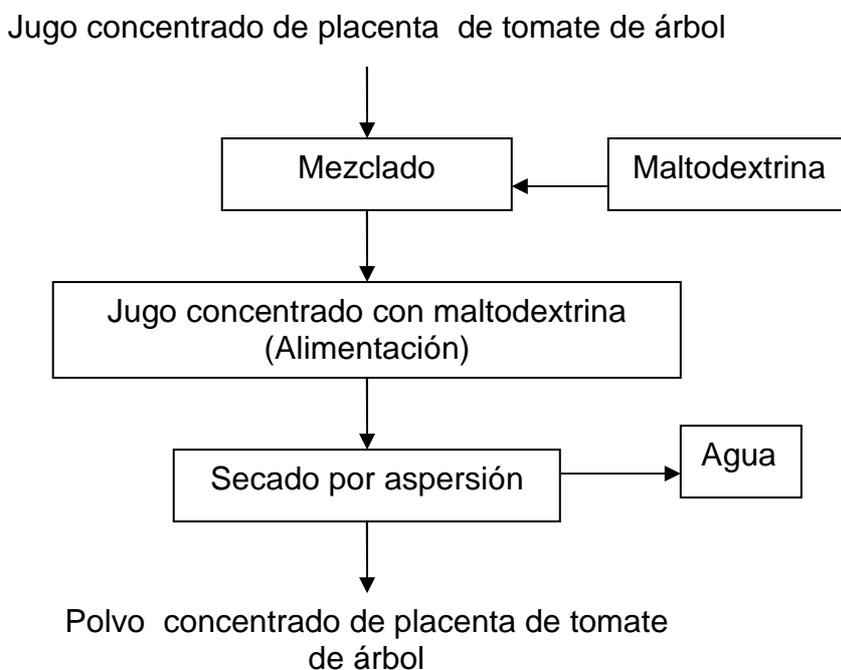


Fig. 1. Diagrama de flujo para el proceso de secado de jugo concentrado de placenta de tomate de árbol

Los sólidos solubles totales se midieron con un refractómetro de acuerdo a la norma AOAC (2000) 932.12 37.1.15. Para determinar el contenido de polifenoles solubles totales se utilizó el método de Folin-Ciocalteu's definido por Georgé *et al.* (2005) usando un espectrofotómetro marca Shimadzu modelo UV-160A. El contenido de antocianinas se determinó con el método descrito por Giusti y Wrolstad (2001) de diferencial de pH para antocianinas monoméricas.

3. Resultados y discusión

El porcentaje de recuperación de polifenoles y antocianinas se determinó a partir del balance de materiales sólidos considerando que no existe

acumulación de productos en el interior de la cámara ni pérdidas de producto al exterior (López *et al.*, 2006). En la Tabla 1. se puede observar que la menor recuperación (80 %) se obtiene con la mayor concentración de maltodextrina, mientras que con las otras concentraciones de maltodextrina el rendimiento es superior al 90 % y se presenta diferencia significativa entre estos ($p>0.05$). Con estos resultados se puede concluir que el tratamiento térmico aplicado deterioró los polifenoles en un bajo porcentaje, observándose además que la concentración de matodextrina influye en este proceso.

Tabla 1. Caracterización de la Alimentación y del producto deshidratado del proceso de secado por aspersión.

Relación SS del jugo concentrado de placenta: SS aportados por la maltodextrina	concentrado de jugo clarificado de placenta de tomate de árbol		
	1:1	1:1,5	1:2
Humedad %	1,2 ± 0,06	0,8 ± 0,01	1,2 ± 0,09
Polifenoles (mg equivalente de ácido gálico /100 g de muestra) en alimentación	203,15 ± 15,90	180,71 ± 0,77	178,58 ± 15,44
Polifenoles (mg equivalente de ácido gálico /100 g de muestra) en producto	842,97 ± 46,30	707,12 ± 80,39	473,97 ± 29,72
Recuperación de polifenoles (%)*	91,9 ± 2,3	94,5 ± 0,9	80,0 ± 0,7
Antocianinas (mg equivalente de cianidina-3-glucósido /g de muestra) en alimentación	1,09 ± 0,05	0,99 ± 0,08	0,83 ± 0,03
Antocianinas (mg equivalente de cianidina-3-glucósido /g de muestra) en producto	3,85 ± 0,08	2,70 ± 0,02	2,25 ± 0,13
Recuperación de antocianinas (%)*	78,3 ± 2,3	66.1 ± 1.4	81,4 ± 2.6

*La recuperación fue determinada tomando como base de cálculo la masa de polifenoles o antocianinas de la alimentación.

El porcentaje de recuperación de las antocianinas reportado en la Tabla 1. muestra que las condiciones de secado deterioraron a las antocianinas hasta en un 34%, porcentaje mayor que el presentado por los polifenoles que fue de hasta un 20%.

Según Candelas-Cadillo *et al.* (2005), la diferencia de las temperaturas de entrada y salida del aire adecuada permite obtener porcentajes de humedad en el producto inferiores al 4 %, así en su estudio del contenido de licopeno en jugo de tomate secado por aspersión, esta diferencia fue de 100 °C y la humedad del producto fue superior al 8 %; mientras que en el presente trabajo la diferencia es de 75°C y el contenido de humedad del producto final fue menor del 1,5 % para todos los procesos aplicados

4. Conclusiones

El proceso de secado por aspersión con el uso de maltodextrina como soporte, permitió la concentración de los polifenoles en el producto deshidratado. De acuerdo con el porcentaje de recuperación la pérdida de estos compuestos por el tratamiento térmico aplicado fue menor del 20 %.

El producto deshidratado obtenido con la menor adición de maltodextrina presentó la mayor concentración de polifenoles totales y antocianinas 842,97 mg equivalente de ácido gálico /100 g de muestra y 3,85 mg equivalente de cianidina-3-glucósido /g de muestra respectivamente.

Agradecimientos

Al Proyecto de la Comunidad Europea FP6-2003-INCO-DEV-2 CONTRATO (015279) "Producing adding value from under-utiliced tropical fruit crops with high commercial potencial" (PAVUC), quien financió el estudio.

Bibliografía

- Beltrán, E., Anaguano, M., Pallet, D., Brat, P., Mertz, C., Vaillant, F., Vera, E., & Ruales, J. (2012). Uso de tecnología de membranas y resinas para la separación y concentración de polifenoles del tomate de árbol morado (*Solanum Betaceum Cav.*). Manuscrito.
- Beltrán, E., Vera, E., & Ruales, J. (2007). Extracción de polifenoles del Tomate de árbol (*Solanum Betaceum Cav.*) utilizando enzimas. *Alimentos Ciencia e Ingeniería*, 16(3), 115-116.

- Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*, 56, 317-333.
- Candelas-Cadillo, M., Alanís-Guzmán, M., Bautista-Justo, M., Del Río-Olague, F., & García-Díaz, C. (2005). Contenido de licopeno en jugo de tomate secado por aspersión. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 4, 299-307.
- Georgé, S., Brat, P., Alter, P., & Amiot, M. (2005). Rapid Determination of Polyphenols and Vitamin C in Plant-Derived Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1370-1373.
- Giusti, M., & Wrolstad, R. (2001). *Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV - Visible Spectroscopy*: John Wiley & Sons, Inc.
- Larrauri, J., Rupérez, P., & Saura, F. (1997). Effect of Drying Temperature on the Stability of Polyphenols and Antioxidant Activity of Red Grape Pomace Peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 1390-1393.
- Lohachoompol, V., Srzednicki, G., & Craske, J. (2004). The Change of Total Antyocyanins in Blueberries and Their Antioxidant Effect After Drying and Freezing. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 5, 248-252.
- López, O., Muñoz, A., Carmona, R., Torres, L., & González, M. (2006). Influencia del uso de aditivos sobre el rendimiento del proceso de secado por aspersión de extracto acuoso de *Calendula officinalis* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 11(1).
- Nack, M., & Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereal, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41, 1523-1542.
- Vasco, C. (2005). *Qualitative and quantitative analysis of phenolic compounds with antioxidant capacity in a selection of fruits and vegetables cultivated in Ecuador*. MSc. Tesis, Escuela Politécnica Nacional, Quito-Ecuador, Chalmers University of Technology, Gothenburg-Sweden.