

Obtención de Jugo Clarificado Concentrado de Mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) Mediante el Uso de Tecnología de Membranas

Tupuna Santiago¹; Vera Edwin¹; Ruales Jenny¹

¹Escuela Politécnica Nacional, Departamento de Ciencia de Alimentos y Biotecnología, Quito, Ecuador

Resumen: El objetivo del presente trabajo fue obtener un jugo clarificado concentrado de mortiño que conserve las características organolépticas, nutricionales y funcionales de la fruta fresca mediante los procesos de microfiltración tangencial (MFT) y ósmosis inversa (OI). Se evaluó el efecto del tratamiento enzimático sobre el rendimiento de pulpa en el proceso de despulpado. Se realizaron experimentos con 0,5 y 1 mL de coctel enzimático/kg de pulpa para determinar la cantidad que permita obtener el mayor peso de pulpa en la extracción. Una pulpa sin tratamiento enzimático se usó como control. Se usó el coctel enzimático Klerzyme 150[®] porque éste se utiliza en la hidrólisis de los frutos rojos sin causar degradación en las antocianinas. También se estudió el efecto del tratamiento sobre la MFT con las cantidades estudiadas de coctel enzimático Klerzyme 150[®] con 0,5 y 1 mL/kg de pulpa aplicadas antes y después del despulpado. Posteriormente se determinó el efecto de la presión transmembranaria (PTM) sobre la MFT a valores de 2 y 4 bar. Se realizó la concentración del jugo clarificado de mortiño mediante OI a 60 bar de PTM y 30 °C de temperatura. En el despulpado de mortiño el rendimiento fue mayor cuando se aplicó el tratamiento enzimático antes del despulpado con 1 mL de Klerzyme 150[®]/kg de pulpa y a la vez esta cantidad fue la que permitió obtener un mayor contenido de antocianinas en la pulpa. En la MFT la variación de la PTM no presenta diferencias estadísticamente significativas en la masa de permeado. En el estudio del efecto del tratamiento enzimático sobre la MFT el sitio de aplicación tiene una influencia estadísticamente significativa. A mayor cantidad de Klerzyme 150[®] aplicada antes del despulpado aumenta el contenido de antocianinas en el jugo clarificado. El jugo clarificado concentrado de mortiño obtenido presenta un mayor contenido de antocianinas y compuestos fenólicos, y se incrementa la capacidad antioxidante a un 62 % del valor que tiene la fruta fresca. El producto obtenido en esta investigación muestra una excelente calidad sensorial, mantiene un nivel alto de sabor a fruta fresca, un aroma aceptable y una acidez moderada.

Palabras clave: Mortiño, microfiltración tangencial, ósmosis inversa, antocianinas, compuestos fenólicos, capacidad antioxidante, Hidrólisis enzimática.

Concentration of Clarified Juice Blueberry (*Vaccinium floribundum* Kunth) by Membrane Technology

Abstract: The purpose of this study was to obtain a clarified concentrated juice of blueberry that preserves the organoleptic and nutritional properties of the fresh fruit using the cross-flow microfiltration (CMF) and reverse osmosis (RO) processes. The effect of the enzymatic treatment on the pulping yield was studied. Experiments were performed with 0.5 and 1 mL of enzyme cocktail/kg of pulp to determine the amount corresponding to the greater weight of extracted pulp. Pulp without enzymatic hydrolysis treatment was used as a control reference. It was also studied the effect of enzyme treatment on the MFT with Klerzyme150[®] quantities of 0.5 to 1 mL/kg of pulp applied before or after pulping. The cocktail Klerzyme 150[®] was used because it does not produce degradation of anthocyanins. Subsequently it was determined the effect of transmembrane pressure (TMP) on the yield of clarified juice at 2 and 4 bar. The concentration of blueberry juice clarified was performed using RO with conditions of 60 bar TMP and 30 °C temperature. The pulp yield was higher when the enzymatic treatment was applied before pulping process with Klerzyme 150[®] 1 mL/kg of pulp and yet there was a higher content of anthocyanins in the flesh. In CMF the variation of TMP does not show statistically significant differences on the permeate side. The enzymatic treatment applied to the pulp previously processed with CMF has a significant effect. The addition of Klerzyme 150[®] increases the anthocyanin content and therefore the antioxidant capacity in the clarified blueberry juice. The concentration factor was 2.85. The product obtained in this study shows excellent sensory quality, with a strong fresh fruit taste, acceptable aroma and a moderate acidity.

Keywords: Blueberry, cross-flow microfiltration, reverse osmosis, anthocyanins, phenolic compounds, antioxidant capacity, Enzymatic Hydrolysis.

1. INTRODUCCIÓN

El mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) es una fruta nativa de Ecuador, crece en los páramos de la sierra andina, no se conoce que existan cultivos comerciales. La fruta es recolectada manualmente por comunidades indígenas. Entre octubre y diciembre de cada año se produce una cosecha extendida y en algunas zonas se ha obtenido una segunda cosecha entre los meses de enero a marzo (Sanjinés Asturizaga et al., 2006). La fruta se comercializa en mercados locales, es de fácil uso, pero en el Ecuador se consume muy poco en fresco, normalmente es adquirida para preparar la tradicional “colada morada” en el mes de noviembre. Según Vasco et al., (2009), el mortiño es rico en glucósidos de quercetina, ácidos hidroxicinámicos y antocianinas, tiene una alta actividad antioxidante que debe ser aprovechada usándolo como ingrediente de alimentos funcionales.

La introducción de tecnología de membranas en el ciclo de transformación industrial de las frutas, representa una de las respuestas tecnológicas al problema de la producción de jugos con alta calidad, sabor natural y sin aditivos (Cassano et al., 2004). La microfiltración tangencial (MFT) es una tecnología de membranas altamente innovadora a nivel industrial, es una excelente alternativa frente a los métodos convencionales de separación gracias a su alta selectividad, su posibilidad de operación continua y automatizada, y sus costos de procesamiento relativamente bajos. El proceso de ósmosis inversa (OI) es una tecnología que permite concentrar solutos de interés. Entre las aplicaciones de OI más importantes en la industria de bebidas tenemos: la concentración de jugo de frutas; la estabilización del vino y eliminación de sus tartratos; la obtención de aromas y sabores de zumos de frutas; y la reducción del contenido de alcohol en cerveza (De la Casa, 2006; Martínez, 2004; Moliner, n.d.).

El presente trabajo desarrolla el proceso tecnológico para la obtención de un jugo clarificado concentrado mediante el uso de microfiltración tangencial y ósmosis inversa.

2. MARCO TEÓRICO/METODOLOGÍA

2.1 Materiales

La fruta fresca fue adquirida en la ciudad de Machachi, cosechada en estado de madurez organoléptica, por los campesinos de la comunidad “El Pedregal”. Se adquirió en lotes según las cantidades que se necesitaban procesar para cada fase de la experimentación. La fruta fue colocada en una lavadora de frutas horizontal marca The Sinclair Scott Co. que trabaja con un sistema de lavado rotatorio, en este lavado se retiraron las impurezas.

La desinfección se realizó en un tanque de acero inoxidable con agua clorada a 100 ppm. La fruta lavada fue escurrida en mallas de 0,60 m x 1,20 m con un tamaño de poro de 3 mm x 1 mm, luego se hicieron porciones de 10 kg envasadas en bolsas de polietileno. Una vez selladas y etiquetadas fueron

almacenadas en una cámara de congelación a -17 °C hasta que se requieran las muestras para ser procesadas.

El coctel enzimático utilizado fue Klerzyme 150® obtenida de DSM Food Specialties, su composición es de pectinasa líquida extraída del *Aspergillus niger* (Centerchem, n.d.).

2.2 Métodos

Las mediciones experimentales en los ensayos de caracterización de materia prima y productos obtenidos se realizaron por triplicado y en los ensayos de extracción de pulpa, MFT y OI, por duplicado. Los resultados mostrados son el promedio, que se aceptó cuando el error fue menor al 10 %.

2.2.1 Caracterización de materia prima

De la materia prima recibida, desinfectada y lavada se tomaron 500 g de muestra para los análisis de caracterización.

Se realizaron análisis físico-químicos de: peso, color (Küppers, 2002), sólidos solubles totales (°Brix), pH] y acidez titulable según el método AOAC 932.12, AOAC 981.12 y AOAC 942.15, respectivamente.

Para determinar la composición química de las frutas frescas se realizaron los siguientes análisis: humedad (AOAC 920.151), proteínas (AOAC 920.152), cenizas (AOAC 940.26), extracto etéreo (AOAC 920.85), contenido de ácidos galacturónicos (Theander et al., 1991), minerales tales como K, Ca, Mg, Cu, Fe y Zn, Fe (DECAB, 2001), fibra dietética (Asp et al., 1983), azúcares por HPLC (DECAB, 2004b), vitamina C por HPLC (DECAB, 2004a), carotenoides por HPLC (Peterson y Johnsson, 1990), ácidos orgánicos mediante HPLC (Pérez et al., 1997), compuestos fenólicos (Slinkard y Singleton, 1977), antocianinas (Giusti, M. y Wrolstad, 2001) y capacidad antioxidante (Re, et al., 1999). Todos los métodos AOAC se siguieron según AOAC (2007).

2.2.2 Caracterización de productos obtenidos

2.2.2.1 Caracterización de jugos clarificados

Se tomaron muestras del jugo clarificado obtenido al finalizar el proceso de MFT y se les realizó los siguientes análisis físico-químicos: sólidos solubles totales (°Brix), contenido de azúcares, vitamina C, carotenoides, compuestos fenólicos solubles totales, antocianinas, capacidad antioxidante mediante los métodos citados anteriormente en la caracterización de materia prima; caracterización reológica mediante el uso de un Reómetro AR 2000 ADVANCED RHEOMETER, densidad relativa con el método AOAC 985.19 (AOAC, 2007) y análisis sensorial.

2.2.2.2 Caracterización de jugos clarificados concentrados

Se tomaron muestras del jugo clarificado concentrado obtenido al finalizar el proceso de ósmosis inversa (OI) y se realizó los siguientes análisis físico-químicos: sólidos solubles

totales (°Brix), contenido de azúcares, vitamina C, carotenoides, compuestos fenólicos solubles totales, antocianinas, capacidad antioxidante, caracterización reológica, densidad relativa mediante los métodos citados anteriormente en la caracterización del jugo clarificado; análisis de minerales y finalmente un análisis sensorial.

2.2.3 Estudio del efecto del tratamiento enzimático en el proceso de despulpado

La fruta lavada y desinfectada escurrida pasó al desintegrador RITZ, y posteriormente al despulpador refinador horizontal de acero inoxidable para frutas marca LANGENKAMP M5707, se usó una malla de 0,084 mm de diámetro de poro.

Para evaluar el efecto del tratamiento enzimático sobre el proceso de despulpado y definir la cantidad de coctel enzimático para obtener un mayor rendimiento de pulpa se realizó un análisis de varianza de una vía y se tomó como variable dependiente la cantidad de pulpa obtenida después de cada experimento. Se trabajó con tres niveles de cantidad de coctel enzimático: 0 - 0,5 y 1 mL/kg de pulpa aplicados en el proceso de despulpado. La materia prima adquirida previamente lavada y desinfectada se dividió en tres lotes de 10 kg. Para cada experimento se realizó una réplica.

Se utilizó el coctel enzimático Klerzyme 150® porque ha sido desarrollado especialmente para mejorar la extracción de las bayas rojas ácidas, contiene pectinasas específicas que son requeridas para un procesamiento activo y estable de la pulpa o jugo ácido de frutos rojos con un alto contenido de compuestos fenólicos (Centerchem, n.d.). Klerzyme 150® permite la liberación de la pectina de color rojo de forma estable en el producto final porque no tiene actividad antocianasa, es decir, no provoca daño en las antocianinas (Centerchem, n.d.). El tratamiento enzimático consistió en una hidrólisis de la pulpa por 1 hora a 30 °C, mantenida a agitación constante.

2.2.4 Estudio del efecto de la presión y tratamiento enzimático y en el proceso de MFT

Para obtener el jugo clarificado se usó un equipo de MFT con una membrana de cerámica KERASEP de marca NOVASEP de 0,2 µm de diámetro de poro y un área de membrana de 0,0064 m².

2.2.4.1 Estudio del efecto de la presión en el proceso de MFT

Para evaluar el efecto de la presión transmembranaria (PTM) en el proceso de MFT y poder definir el valor de PTM para obtener el mayor rendimiento, se realizó un análisis de varianza de una vía y se tomó como variable dependiente la masa de permeado (Mp) obtenido cuando el proceso alcanza un factor de retención volumétrica (FR) de 1,5 y 2. Se realizaron experimentos en los cuales se cargó al equipo de MFT una masa inicial de pulpa (Mo) entre 1,5 a 1,7 kg y se midió cada 5 minutos la Mp obtenida. Con esta información se calculó el FR correspondiente a cada tiempo según la fórmula mostrada en la Ecuación (1):

$$FR = \frac{Mo}{Mo - Mp} \quad (1)$$

Se determinó el Mp obtenido para un FR de 1,5 y 2 mediante una interpolación de los datos registrados durante todo el proceso de MFT en cada ensayo. Se realizaron ensayos de filtración con muestras de pulpa de mortiño hidrolizadas “antes de” (A) y “después de” (D) el despulpado con la adición del coctel enzimático Klerzyme 150® en cantidad de 1 mL/kg de pulpa. La PTM aplicada fue de 2 y 4 bar. Se realizó una réplica para cada ensayo.

2.2.4.2 Estudio del efecto del tratamiento enzimático en el proceso de MFT

Se utilizó un diseño experimental 2² para evaluar el efecto del tratamiento enzimático en el proceso de MFT, las variables evaluadas fueron: la cantidad de Klerzyme 150® a dos niveles 0,5 y 1 mL/kg de pulpa; y el sitio de aplicación del tratamiento enzimático A y D.

Se usaron dos variables de respuesta para el análisis estadístico, estas fueron el resultado del análisis del contenido de antocianinas en la alimentación (Ro) y permeado (P). En las pruebas experimentales de MFT se trabajó con la PTM de 2 bar para pulpas hidrolizadas D y de 4 bar para pulpas hidrolizadas A.

2.2.5 Obtención de jugo clarificado concentrado de mortiño por OI

Esta operación se realizó para concentrar el jugo clarificado de mortiño obtenido en el proceso de MFT. El objetivo fue incrementar la concentración de sólidos solubles (°Brix) preservando la cantidad y actividad funcional de los componentes antioxidantes. Para realizar el proceso de OI se usó un módulo a escala de laboratorio MICRO 240. El módulo trabaja con un sistema tipo batch. Se usó una membrana AFC99 de poliamida que tiene una exclusión de NaCl del 99 % con 0,2 µm de diámetro de poro y un área de membrana de 0,024 m² marca Aquious – PCI Membranes.

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

Se usaron muestras de jugo clarificado de mortiño obtenido en el proceso de MFT realizado y cuya pulpa fue hidrolizada mediante la aplicación de un tratamiento enzimático antes del despulpado (1 mL de Klerzyme 150®/kg de pulpa). Los ensayos de concentración se realizaron con aproximadamente 4 kg de jugo clarificado de mortiño. Se tomó una muestra de retenido al tiempo 0 para medir los grados °Brix y luego en intervalos de tiempo cada 5 min, 10 min, 15 min, hasta que se consuma aproximadamente la mitad de la muestra depositada en el tanque de alimentación; posteriormente en intervalos de 30 min hasta finalizar el proceso.

2.2.6 Análisis estadístico

En este estudio fue llevado a cabo de acuerdo a un diseño factorial 2² (cantidad de Klerzyme 150[®]: 0,5 y 1 mL/kg de pulpa; sitio de aplicación del tratamiento enzimático: A y D). Con los datos obtenidos se realizaron los respectivos ANOVA y Prueba de Tukey ($\alpha=0,05$) mediante el uso del software STATGRAPHICS 5.1.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización de materia prima

3.1.1 Análisis físico-químicos

En la Tabla 1 se presentan los resultados de los análisis físico-químicos para el mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla 1. Análisis físico-químicos del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Parámetro	Resultado
Peso ¹ (g)	0,33 ± 0,06
Color	N ₉₉ M ₃₀ C ₇₀
Sólidos Solubles ² (°Brix)	11 ± 0,91
pH ³	2,61 ± 0,06
Acidez Titulable ³ (g Ácido cítrico/100 g PF)	7,72 ± 0,08

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

Se puede observar en la Tabla 1 que el mortiño presenta una baja cantidad de azúcares (°Brix) y de acuerdo al valor de pH y el contenido de ácidos orgánicos se puede decir que el mortiño es una fruta ácida. La fruta fresca presenta un color negro azulado muy oscuro en su estado de madurez organoléptica.

3.1.2 Composición química

En la Tabla 2 se muestra la composición química del mortiño. Los análisis fueron realizados con muestras de mortiño fresco, y en algunos casos en los que fue necesario se hicieron los análisis a partir de una muestra de mortiño liofilizado, para lo cual se realizó posteriormente la conversión de resultados utilizando la humedad de la fruta fresca y de la fruta liofilizada. En el presente estudio se obtuvo un valor de capacidad antioxidante de 1 192,86 mg Trolox/100 g, éste es un valor cercano a 1 203 mg Trolox/100 g reportado por Vasco et al. (2009) para mortiño.

Si se compara ambos valores con la capacidad antioxidante de otras frutas ecuatorianas reportadas por Vasco et al. (2009) como mora (1 302 mg Trolox/100 g) y guayaba (1 051 mg Trolox/100 g), se puede ver que se encuentran dentro del rango, por lo tanto, el mortiño se ubica entre las frutas del Ecuador con mayor capacidad antioxidante, lo cual se justifica por la presencia de un alto contenido de algunos componentes con actividad antioxidante en la fruta, como son los compuestos fenólicos.

3.2 Estudio del efecto de tratamiento enzimático en el rendimiento del proceso de despulpado de mortiño

Con los datos del peso de pulpa obtenido en cada experimento de despulpado 1, 2, 3 con cantidad de coctel enzimático Klerzyme 150[®] de 0 - 0,5 y 1 mL/kg de pulpa respectivamente se realizó el análisis de varianza (ANOVA) que se muestra en la Tabla 3.

Tabla 2. Composición química del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Parámetro	Resultado
Humedad ¹ (g/100 g PF)	80,09 ± 0,16
Proteínas ^{1*} (g/100 g PF)	0,76
Cenizas ^{1*} (g/100 g PF)	0,34 ± 0,01
Extracto Etéreo ^{1*} (g/100 g PF)	0,96
ÁcidosGalacturónicos ³ (g/100 g PF)	0,52 ± 0,04
Análisis de Minerales ¹	
Ca (mg/100 g PF)	15,54 ± 1,14
K (mg/100 g PF)	142,04 ± 1,88
Mg (mg/100 g PF)	21,22 ± 1,90
Cu (mg/100 g PF)	0,11 ± 0,00
Zn (mg/100 g PF)	0,21 ± 0,00
Fe (mg/100 g PF)	0,77 ± 0,00
Fibra Dietética Total [*] (g/100 g PF)	5,87
Contenido de Azúcares ^{1**}	
Fructosa (g/100 g PF)	4,55 ± 0,06
Glucosa (g/100 g PF)	2,96 ± 0,04
Sacarosa (g/100 g PF)	ND
Vitamina C ^{1**} (mg/100 g PF)	1,27 ± 0,02
Contenido de Ácidos Orgánicos ^{1**}	
Ácido cítrico (mg/100 g PF)	1 185,99 ± 74,53
Ácido málico (mg/100 g PF)	451,52 ± 14,96
Ácido tartárico (mg/100 g PF)	ND
Contenido de Carotenoides ^{1**} (mg/100 g PF)	0,13 ± 0,00
Antocianinas ¹ (mg/100 g PF)	356,73 ± 35,17
Capacidad Antioxidante ³ (mg Trolox/100 g PF)	1 192,86 ± 19,62

Todos los resultados están expresados por peso de fruta fresca, para la conversión se usó el contenido de humedad en mortiño fresco (80,09 g/100gPF) y * liofilizado (5,845 g/100gPF), ** (1,72g/100gPF); ¹ Media ± DE (n = 2); ² Media ± DE (n = 4); ³ Media ± DE (n = 3); PF = Peso de fruta fresca; AG = Ácido gálico; ND = Bajo el límite de detección

Tabla 3. Análisis de varianza para el peso obtenido de pulpa de mortiño

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

Entre grupos: Varianza entre experimentos 1, 2, 3.

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

Se puede observar en la Tabla 3 que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las medias del peso de pulpa obtenido de un experimento a otro para un nivel de confianza del 95 %. Esto quiere decir que el peso de pulpa obtenido es significativamente diferente si se aplica o no se aplica un tratamiento enzimático antes del despulpado. La aplicación de un tratamiento enzimático antes del despulpado y la cantidad de coctel enzimático utilizado influyen significativamente en el rendimiento de la extracción de pulpa de mortiño. A mayor cantidad de coctel enzimático aplicado, mayor es el peso de pulpa obtenido. Por lo tanto, la cantidad de Klerzyme 150[®] de 1 mL/kg de pulpa aplicado antes del despulpado fue el

tratamiento elegido para obtener los mayores rendimientos en la extracción.

Adicionalmente en cada experimento de extracción se tomaron muestras en cada etapa: pulpa, desintegrado, desintegrado hidrolizado, pulpa hidrolizada antes del despulpado y pulpa hidrolizada después del despulpado; y se les realizó un análisis del contenido de antocianinas. El mayor contenido de antocianinas se obtuvo en el desintegrado y en la pulpa hidrolizada cuando se aplicó el tratamiento enzimático antes del despulpado con cantidad de Klerzyme 150® de 1 mL/kg de pulpa. La mayor cantidad de antocianinas se encuentran en la cáscara de la fruta, por lo tanto la hidrólisis enzimática aplicada directamente en el desintegrado de mortiño actúa sobre estas paredes celulares y permite una mayor extracción de antocianinas.

3.3 Efecto de la presión en el proceso de MFT

Los valores de Mp calculados en cada prueba para FRV de 1,5 y 2 se presentan en la Tabla 4.

En la Tabla 4 se puede observar que los mayores Mp para FRV 1,5 y 2 se obtuvieron en los ensayos de MFT realizados con muestras de pulpa hidrolizada después del despulpado a 2 y 4 bar de PTM. Se realizó un análisis de varianza de una vía de Mp para FR de 1,5 y 2.

En las Tablas 5 y 6 se muestran los resultados del análisis estadístico.

Tabla 4. Masa de permeado en las pruebas de MFT para alcanzar el FR de 1,5 y 2

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

A = tratamiento enzimático aplicado antes del despulpado
D = tratamiento enzimático aplicado después del despulpado

Tabla 5. Análisis de varianza de Mp para FR de 1,5

Fuente	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	P-Valor
Entre grupos	50 929,1	16 979,4	0,1591
Intra grupos	22 749,9	5 687,4	

Entre grupos: Varianza entre experimentos A2bar, A4bar, D2bar y D4bar.
Intra grupos: Varianza entre experimento A2bar y su réplica; A4bar y su réplica; D2bar y su réplica; D4bar y su réplica

Tabla 6. Análisis de varianza de Mp para FR de 2

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

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

Se puede observar en las Tablas 5 y 6 que no existen diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las medias del Mp para FRV de 1,5 y 2 de un experimento a otro para un nivel de confianza del 95 %, por lo tanto no existen diferencias estadísticamente significativas entre las Mp obtenidas en cada experimento.

Aunque no existan diferencias significativas se puede ver que para pulpas hidrolizadas antes del despulpado se obtiene una mayor Mp para FRV 1,5 y 2 cuando el experimento de MFT se realiza a 2 bar de PTM y para pulpas hidrolizadas después del despulpado se obtiene una mayor Mp para FR 1,5 y 2 cuando el experimento de MFT se realiza a 4 bar de PTM.

Para elegir la PTM de trabajo se puede usar como indicador el tratamiento enzimático al cual previamente haya sido sometida la pulpa. En los ensayos realizados con muestras de pulpa hidrolizada D se consiguieron volúmenes de permeado y promedios de flujo de permeado más altos que los obtenidos en ensayos realizados con muestras de pulpa hidrolizada A, sin embargo esta última es la que contiene una mayor cantidad de antocianinas y, por lo tanto una mayor capacidad antioxidante.

3.4 Estudio del efecto del tratamiento enzimático en el proceso de MFT

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

En la Tabla 7 se muestran los valores del contenido de antocianinas en cada muestra de alimentación (Ro) y jugo clarificado (P) pertenecientes a cada ensayo de MFT realizado con pulpa hidrolizada A y D y las cantidades de Klerzyme 150® de 0,5 y 1 mL/kg de pulpa.

Para pulpas hidrolizadas A se trabajó a 4 bar de PTM y para pulpas hidrolizadas D a 2 bar.

Tabla 7. Contenido de antocianinas en muestras en el Ro y en el P para cada prueba de MFT

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

A = tratamiento enzimático aplicado antes del despulpado
D = tratamiento enzimático aplicado después del despulpado

En la Tabla 7 se observa que existe una disminución del contenido de antocianinas en el permeado en relación al contenido inicial de antocianinas de la alimentación.

Esto se debe a la gran cantidad de antocianinas que se encuentran en los sólidos insolubles (semillas, cáscara) que no atraviesan la membrana.

En las Tablas 8 y 9 se presentan los resultados del ANOVA para los valores del contenido de antocianinas en el Ro y en el P respectivamente, según el sitio de aplicación y la cantidad de coctel enzimático.

Tabla 8. Análisis de varianza para el contenido de antocianinas en el Ro

Fuente	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	P-Valor
A:Cantidad de Klerzyme	273,31	273,31	0,0760
B:Sitio de aplicación	17 557,50	17 557,50	0,0002
AB	229,194	229,194	0,0925

Tabla 9. Análisis de varianza para el contenido de antocianinas en el P

Fuente	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	P-Valor
A:Cantidad de Klerzyme	1 708,79	1 708,79	0,0562
B:Sitio de aplicación	4 818,67	4 818,67	0,0146
AB	930,96	930,96	0,1111

La cantidad de coctel enzimático y de la combinación de ambas variables no muestran diferencias significativas ($p > 0,05$) en las medias del contenido de el Ro y en el P respectivamente, en cambio, sí hay diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre las medias del contenido de antocianinas en el Ro y en el P de un nivel de sitio de aplicación a otro al 95 % de intervalo de confianza.

Los resultados del análisis estadístico reportan en las Figuras 1, 3 y 2, 4, la superficie de respuesta estimada y el gráfico de efectos principales, respectivamente.

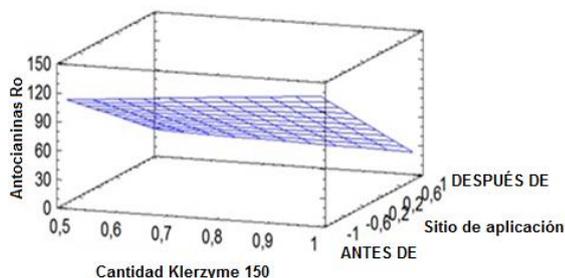


Figura 1. Superficie de respuesta estimada para el contenido de antocianinas en el Ro según la cantidad de coctel enzimático y el sitio de aplicación.

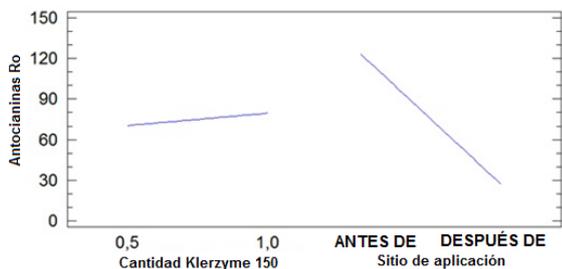


Figura 2. Gráfico de efectos principales para contenido de antocianinas en el Ro según la cantidad de coctel enzimático y el sitio de aplicación.

Se observa en las Figuras 1 y 2 que la cantidad de coctel enzimático Klerzyme 150[®] aplicada en el proceso de despulpa no influye en el contenido de antocianinas en el Ro, este contenido depende y tiene una variación significativa según el sitio de aplicación. Si se aplica el tratamiento

enzimático en el mortuño desintegrado antes del despulpa, las enzimas pueden trabajar extrayendo los compuestos fenólicos solubles presentes en la cáscara y semillas que se retienen en el despulpa.

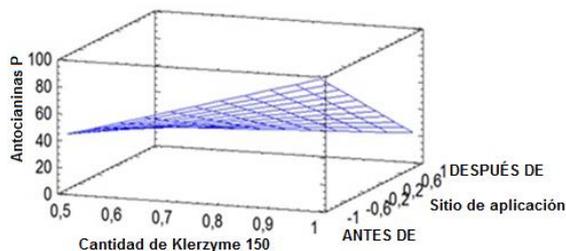


Figura 3. Superficie de respuesta estimada para el contenido de antocianinas en el P según la cantidad de coctel enzimático y el sitio de aplicación

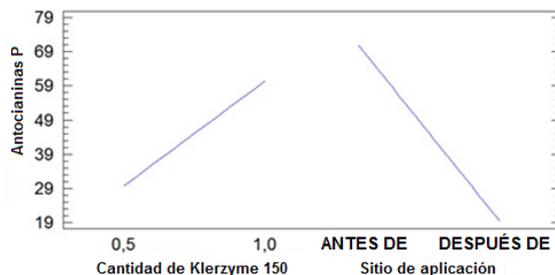


Figura 4. Gráfico de efectos principales para contenido de antocianinas en el P según la cantidad de coctel enzimático y el sitio de aplicación.

En la Figura 3 se observa que ambas variables influyen significativamente en el contenido de antocianinas en el P.

En la Figura 4 se observa que la variación del contenido de antocianinas (eje Y) es alta cuando la cantidad de coctel enzimático cambia de 0,5 a 1 mL (eje X), a mayor cantidad de coctel enzimático hay mayor contenido de antocianinas en el P. La variación del contenido de antocianinas (eje Y) también es alta cuando el sitio de aplicación cambia de “antes de” a “después de” el despulpa (eje X), si se aplica antes del despulpa el contenido de antocianinas en el P es más alto, mientras mayor sea la pendiente de la línea recta que representa estas variaciones el efecto de estos factores es más significativo.

Se puede observar que la cantidad de coctel enzimático Klerzyme 150[®] y el sitio de aplicación del tratamiento enzimático en el proceso de despulpa si influyen en el contenido de antocianinas en el jugo clarificado, este contenido depende y tiene una variación significativa según la cantidad de coctel enzimático y el sitio de aplicación.

3.5 Caracterización de jugos clarificados de mortuño

Se usaron muestras de jugo clarificado de mortuño obtenido mediante la aplicación de los niveles de las variables de proceso que mostraron ser las que proporcionan los mejores resultados después del análisis estadístico realizado en los estudios anteriores.

Estas condiciones fueron: tratamiento enzimático aplicado antes del despulpado con cantidad de coctel enzimático Klerzyme 150[®] de 1 mL/kg de pulpa y PTM de 4 bar. Las muestras fueron tomadas al final de cada ensayo.

3.5.1 Composición química

En la Tabla 10 se presentan los resultados de la composición química y proximal de las muestras de jugo clarificado de mortiño. Se observa que los azúcares como fructosa y glucosa

aumentan levemente en el jugo clarificado, estos azúcares no son retenidos por la membrana porque son compuestos solubles.

Los ácidos orgánicos, como el ácido cítrico presenta una alta disminución y el ácido málico aumenta en el jugo clarificado de mortiño con relación al valor presente en la fruta fresca.

Este incremento es resultado de la hidrólisis enzimática realizada como un tratamiento previo a la pulpa de mortiño usada en las pruebas de MFT.

Tabla 10. Caracterización de jugos clarificados de mortiño

Análisis	RESULTADO	
	Fruta fresca	Jugo clarificado
Contenido de Azúcares*	(g/100 g PF)	(g/100 mL)
Fructosa	4,55 ± 0,06	4,63 ± 0,03
Glucosa	2,96 ± 0,04	3,22 ± 0,06
Sacarosa	ND	ND
Contenido de Ácidos Orgánicos *	(mg/100 g PF)	(mg/100 mL)
Ácido cítrico	1 185,99 ± 74,53	792,2 ± 6,24
Ácido málico	451,52 ± 14,96	700,6 ± 22,37
Ácido tartárico	ND	ND
Sólidos Solubles (°Brix)	11 ± 0,91	8,5 ± 0,50
Vitamina C *	(mg/100 g PF)	(mg/100 mL)
	1,27 ± 0,02	0,0064 ± 0,02
Contenido de Carotenoides	ND	ND
Compuestos Fenólicos Solubles Totales	(mg AG/100 g PF)	(mg AG/100 mL)
	729,48 ± 112,85	276,75 ± 2,58
Antocianinas ¹	(mg/100 g PF)	(mg/100 mL)
	3 56,73 ± 35,17	97,47 ± 31,95
Capacidad Antioxidante	(mg Trolox/100 g PF)	(mg Trolox/100 mL)
	1 192,86 ± 19,62	235,97 ± 9,74
Densidad Relativa (d ₂₀)	-	1,0484

* Para la conversión de los resultados se usó el contenido de humedad en mortiño fresco (80,09 g/100 g PF) y liofilizado (1,72 g/100 g PF); Media ± DE (n = 3); ¹ Media ± DE (n = 6); ND = bajo el límite de detección; AG = ácido gálico; PF = peso de fruta fresca

Existe una alta disminución en el contenido de compuestos fenólicos y antocianinas, esto puede deberse a que una gran cantidad de compuestos fenólicos se encuentran presentes en los sólidos insolubles que no atraviesan la membrana y se quedan en el retenido. La capacidad antioxidante en relación a la que presenta el mortiño fresco disminuye significativamente al 19,8 % en el jugo clarificado como resultado de la reducción del contenido de compuestos fenólicos.

3.5.2 Caracterización reológica

El jugo clarificado se comporta como un fluido no newtoniano, su viscosidad es de 3 mPa.s a 1 000 rps de rapidez de deformación y 25 °C de temperatura.

3.5.3 Análisis Sensorial

En la Tabla 11 se muestra el promedio de las valoraciones reportadas por cada panelista para cada atributo en una escala de débil (1) a intenso (10).

Tabla 11. Promedios para cada atributo sensorial del jugo clarificado de mortiño

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

Media ± DE (n = 20)

De acuerdo a las observaciones reportadas por los panelistas, el jugo clarificado de mortiño fue aceptado sensorialmente ya que presenta un sabor agradable.

Además de las pérdidas de aroma durante el proceso, en el promedio obtenido también influye el hecho de que varios panelistas no estaban familiarizados con el aroma de la fruta fresca, en cuanto a la acidez del producto se puede decir que es tolerable.

3.6 Obtención de jugo clarificado concentrado de mortiño

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

En el proceso de OI la PTM utilizada fue de 60 bar y la temperatura de 30 °C. El volumen de flujo de permeado fue disminuyendo durante el tiempo que demoró el proceso.

En la Figura 5 se muestra la variación del flujo de permeado y la concentración evaluada mediante el contenido de sólidos solubles totales (°Brix) durante el tiempo del proceso de obtención de jugo clarificado concentrado. La concentración del jugo clarificado se llevó a cabo en un sistema tipo batch.

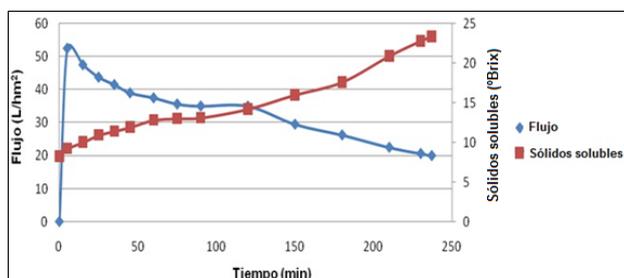


Figura 5. Flujo de permeado y concentración del jugo clarificado concentrado de mortiño

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

El contenido de sólidos solubles fue aumentando durante el tiempo del experimento hasta llegar a la concentración final de 23,4 °Brix como se observa en la Figura 5. La medida de los °Brix fue el parámetro utilizado para evaluar la concentración del jugo clarificado concentrado. Con los valores de °Brix de las muestras tomadas al inicio (jugo clarificado) y al final del proceso (jugo clarificado concentrado) se calculó el factor de concentración dividiendo el valor final para el valor inicial, y se siguió el mismo procedimiento para el contenido de antocianinas, polifenoles, fructosa y glucosa. Los valores iniciales, finales y el factor calculado para cada parámetro se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12. Factores de concentración para el jugo clarificado concentrado de mortiño (n=3)

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

En los jugos clarificados concentrados de frutas obtenidos por Marcillo et al. (2010b) se obtuvieron factores de concentración similares a los de este trabajo, en función de los °Brix para mora (2,96), naranjilla (2,87) y tomate de árbol morado (2,73). Como resultado de la concentración de los compuestos fenólicos, se incrementó la capacidad antioxidante del jugo clarificado concentrado.

3.7 Caracterización de jugos clarificados concentrados de mortiño

3.7.1 Composición química

En la Tabla 13 se presentan los resultados obtenidos en los análisis físico-químicos de las muestras de jugo clarificado concentrado de mortiño.

Se puede observar en la Tabla 13 que en el jugo clarificado concentrado de mortiño existe un incremento del contenido de la mayoría de los componentes en relación al contenido de los mismos en la fruta fresca. Sólo los compuestos fenólicos solubles totales y las antocianinas presentan una disminución, esta se debió a la gran cantidad de estos compuestos que están presentes en la cáscara y semillas que no atraviesan la membrana en el proceso previo de MFT. Los azúcares fructosa y glucosa, presentes en el jugo clarificado concentrado muestran un incremento mayor al doble del contenido presente en la fruta fresca.

La OI concentra todos los sólidos solubles, los azúcares pertenecen a esta clasificación. En el caso de los minerales algunos minerales esenciales como el Ca, Cu, Fe, K y Zn fueron fuertemente retenidos por la membrana durante el proceso de OI y se incrementan en mayor proporción que otros en relación a los que presenta la fruta fresca. Esto muestra que el uso de tecnología de membranas es una herramienta efectiva para obtener jugos concentrados de frutas con un buen contenido de minerales.

El contenido de compuestos fenólicos solubles totales alcanza un valor más cercano al que presenta la fruta fresca. Las antocianinas muestran una pérdida notable desde la MFT previa a la OI en relación al contenido en la materia prima, sin embargo gracias a la concentración de otros compuestos fenólicos la capacidad antioxidante del jugo clarificado concentrado (738,62 mg Trolox/100 g) se conserva aproximadamente en un 62 % en relación a la que se determinó en el mortiño fresco (1 192,86 mg Trolox/100 g). El incremento de minerales esenciales así como el mantenimiento de un alto porcentaje de capacidad antioxidante en relación a la fruta, muestran que el jugo clarificado concentrado es un producto con un buen contenido nutricional y características funcionales beneficiosas para la salud del ser humano.

3.7.2 Caracterización reológica

El jugo clarificado se comporta como un fluido no newtoniano, su viscosidad es de 3,2 mPa.s a 1 000 rps de rapidez de deformación y 25 °C de temperatura.

3.7.3 Análisis sensorial

En la Tabla 14 se muestra el promedio de las valoraciones reportadas por cada panelista para cada atributo en una escala de débil (1) a intenso (10).

Con base en los resultados y en los comentarios realizados como observaciones reportados al final del formato de

evaluación del análisis sensorial, el jugo clarificado concentrado de mortiño fue aceptado por los panelistas.

El jugo muestra un intenso sabor a fruta fresca y se presenta como una buena alternativa para ser comercializada al

mercado de jugos de frutas. El aroma se pierde en el proceso, pero además los panelistas no estaban familiarizados con el aroma de la fruta fresca. El jugo alcanza una acidez un poco mayor que en el jugo clarificado que fue tolerable para los panelistas

Tabla 13. Caracterización de jugos clarificados concentrados de mortiño

Análisis	Resultado	
	Fruta fresca	Jugo concentrado
Análisis De Minerales ¹	(mg/100 g PF)	(mg/100 mL)
Ca	15,54 ± 1,14	68,21 ± 67,05
Cu	0,11 ± 0,00	2,78 ± 0,35
Fe	0,77 ± 0,00	1,38 ± 0,18
K	142,04 ± 1,88	179,24 ± 10,61
Zn	0,21 ± 0,00	2,08 ± 0,60
Contenido de Azúcares I	(g/100 g PF)	(g/100 mL)
Fructosa	4,55 ± 0,06	9,42 ± 0,04
Glucosa	2,96 ± 0,04	6,23 ± 0,05
Sacarosa	ND	ND
Contenido de Ácidos Orgánicos ¹	(mg/100 g PF)	(mg/100 mL)
Ácido cítrico	1 185,99 ± 74,53	4 016,9 ± 18,04
Ácido málico	451,52 ± 14,96	1 820,7 ± 42,52
Ácido tartárico	ND	ND
Sólidos Solubles (°Brix) ²	11 ± 0,91	23,4 ± 0,00
Vitamina C ¹	(mg/100 g PF)	(mg/100 mL)
	1,27 ± 0,02	1,70 ± 0,00
Contenido de Carotenoides ¹	ND	ND
Compuestos Fenólicos Solubles Totales ²	(mg AG/100 g PF)	(mg AG/100 mL)
	729,48 ± 112,85	508,5 ± 17,50
Antocianinas ²	(mg/100 g PF)	(mg/100 mL)
	356,73 ± 35,17	90,59 ± 3,01
Capacidad Antioxidante ²	(mg Trolox/100 g PF)	(mg Trolox/100 mL)
	1 192,86 ± 19,62	738,62 ± 39,52
Densidad Relativa (d ₂₀)	-	1,0924

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

Tabla 14. Promedios para cada atributo sensorial del jugo clarificado de mortiño

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

Media ± DE (n = 24)

4. CONCLUSIONES

La aplicación del tratamiento enzimático tuvo un efecto significativo sobre el rendimiento en el despulpado de mortiño. Con este tratamiento se obtiene un mayor peso de pulpa.

La aplicación del tratamiento y la cantidad de cóctel enzimático tienen un efecto significativo en el contenido de antocianinas de la pulpa hidrolizada de mortiño. A mayor cantidad de cóctel enzimático, mayor el contenido de antocianinas en la pulpa.

La PTM no presenta un efecto significativo sobre el proceso de microfiltración tangencial.

En el proceso de MFT el sitio de aplicación del tratamiento enzimático tiene un efecto significativo sobre el contenido de antocianinas en el jugo clarificado de mortiño. A mayor cantidad de cóctel enzimático aplicado antes del despulpado aumenta el contenido de antocianinas en el jugo clarificado.

En el jugo clarificado de mortiño obtenido mediante MFT componentes químicos como azúcares, ácido cítrico, vitamina C, carotenoides, compuestos fenólicos solubles disminuyen porque se retienen en la membrana y en los sólidos insolubles.

El jugo clarificado de mortiño muestra una buena calidad sensorial, mantiene un nivel alto de sabor a fruta fresca y un aroma y acidez moderada.

El jugo clarificado concentrado de mortiño obtenido mediante OI presentó un factor de concentración de 2,85.

El jugo clarificado concentrado de mortiño presentó buenas características sensoriales.

AGRADECIMIENTO

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

REFERENCIAS

- AOAC (2007). “Official Methods of Analysis of AOAC International”, 18th Edition, Maryland, USA.
- Asp, N., Johansson, C., Hallmer, H., y Siljestroem, M. (1983). “Rapid Enzymatic Assay of Insoluble and Soluble Dietary Fiber”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31 (3), pp. 476 - 482.
- Cassano, A., Jiao, B., Drioli, E. (2004). “Production of concentrated kiwi fruit juice by integrated membrane process”, *Food Research International*, 37, pp. 139 - 148.
- Centerchem, Inc. (n.d.) “Application Data Sheet Klerzyme 150®” Available: <http://www.centerchem.com/PDFs/Klerzyme150%20Applications.pdf>
- DECAB (2001). “Digestión en microondas y lectura del Ca, K, Mg, Cu, Zn y Fe por Espectrofotometría de Absorción Atómica”.
- DECAB (2004a). Método modificado y validado por el DECAB del artículo: Macrae, R., 1988, “HPLC in food analysis”, Academic Press, Segunda Edición, Gran Bretaña.
- DECAB (2004b). Método modificado del Manual de la Columna ASTEC NH2 series de Advanced Separation Technologies Inc., USA.
- De la Casa, E. (2006). “Estudio de las interacciones proteína-membrana en los procesos de filtración tangencial”, Universidad de Granada, Granada, España, pp. 7 – 22.
- Giusti, M. y Wrolstad, R. (2001). “Characterization and measurement with UV-visible spectroscopy”, *Current protocols in food analytical chemistry*, John Wiley & Sons, Inc., pp. 1 – 13.
- Hertog, MGL., Fesrens, EJM., Hollman, PCK., Katan, MB., y Kromhout, D. (1993). “Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease” The Zutphen elderly study, *The Lancet* 342, pp. 1007 – 1011.
- Küppers, H. (2002). “Atlas de los colores”, Editorial Blume, Barcelona España, p. 43.
- Marcillo, V., Matta, V., Vera, E. y Ruales, J. (2010a). “Evaluación de la concentración de jugo de mora (*Rubus glaucus*) en diferentes módulos de ósmosis inversa”, en “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, EPN, Quito, Ecuador.
- Marcillo, V., Matta, V., Vera, E. y Ruales, J. (2010b). “Concentración por ósmosis inversa de jugos de frutas andinas con capacidad antioxidante: mora (*Rubus glaucus*), naranjilla (*Solanum quitoense*) y tomate de árbol morado (*Solanum betaceum*)”, en “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. thesis, EPN, Quito, Ecuador.
- Martínez, A. (2004). “Obtención de oligosacáridos de leche de diferentes especies por tecnología de membranas”, Universidad de Granada, Granada, España, pp. 57 - 69.
- Meenakshi, P. (2007). “Effects of Food Processing on Bioactive Compounds”, *Global Media*, Delhi, India, pp. 1 - 7, 9, 10 – 15.
- Mendoza, J. (2010). “Uso de la tecnología de membranas en la clarificación de vinos”, *Revista ReCiTeIA*, v.10 n.2, Cali, Colombia, pp. 30 – 44.
- Moliner, R., (2009), “Introducción a la tecnología de membranas”, Instituto de Tecnología Cerámica, Castellón, España, [Online]. Available: [http://www.cma.gva.es/comunes_asp/documentos/agenda/val/62665-INTRODUCCI%C3%93N%20%20LA%20TECNOLOG%C3%8DA%20DE%20MEMBRANAS%20\(v2\).pdf](http://www.cma.gva.es/comunes_asp/documentos/agenda/val/62665-INTRODUCCI%C3%93N%20%20LA%20TECNOLOG%C3%8DA%20DE%20MEMBRANAS%20(v2).pdf).
- Pérez, A., Olías, R., Espada, J., Olías, J., y Sanz, C. (1997). “Rapid Determination of Sugars, Nonvolatile Acids and Ascorbic Acid in Strawberry and other Fruits, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, pp. 3545 - 3549.
- Pettersson, A. y Johnsson, L. (1990). “Separation of Cis-Trans Isomers of alpha- and beta-Carotene by Adsorption HPLC and Identification with Diode Array Detection. *Journal of Micronutrients Analysis*, USA, 8, pp. 23 - 41.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N. y Gordon, M. (2001) “Antioxidantes de los alimentos. Aplicaciones prácticas”, Editorial Acribia S.A., Zaragoza, España, pp. 1, 2, 43, 44.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. y Rice-Evans, C. (1999). “Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay”, *Free Radical Biology & Medicine*, 26, pp. 1 231-1 237.
- Sanjinés Asturizaga, A., Øllgaard, B., Balslev, H. (2006). “Frutos Comestibles”, en M. Moraes R, M., Øllgaard, B., Kvist, L.P., Borchsenius, F., Balslev, H., “Botánica Económica de los Andes Centrales”, Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia, p. 335.
- Slinkard, K., y Singleton, V. (1977). “Total phenol analysis: Automation and Comparison with Manual Methods”, *Am. J. Enol. Vitic* 28 N° 1, pp. 38, 49 -55.
- Theander, A., Aman, P., Westerlund, E., Andersson, R. y Graham, H. (1991). “Rapid analysis and characterization of total dietary fiber”, *The AOAC study on the Uppsala method for analysis of total dietary fiber*, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Suecia, pp. 1 - 4.
- Vasco, C., Riihinen, K. Ruales, J. y Kamal-Eldin, A. (2009). “Chemical Composition and Phenolic Compound Profile of Mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)”, en *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57 (18), pp. 8274 - 8281.



Ruales Najera Jenny Cumanda. Profesor principal del Departamento de Ciencia de Alimentos y Biotecnología de la Escuela Politécnica Nacional. Ingeniera Química de la Escuela Politécnica Nacional. Licenciada en Ingeniería de Alimentos y Ph.D. de la Universidad de Lund-Suecia. Las líneas de investigación de interés son la valorización de materiales nativos, aislamiento de principios activos y desarrollo de alimentos funcionales. Los polifenoles y carotenoides son de especial interés. Aplica en sus investigaciones tecnologías convencionales y tecnologías emergentes. Otra línea de interés es toxicología de alimentos, investiga la presencia de metales pesados (As, Cd) en materias primas y alimentos. Posee un RG de 23.64 y un h-index de 15 al 13 de junio del 2016.



Vera Calle Edwin Rafael. Ingeniero Químico de la Escuela Politécnica Nacional (EPN-Quito), Máster en Ciencias de la ENSIA-SIARC (Francia) y Ph.D. en procesos industriales (UM2-Francia). Profesor de la EPN por más de 15 años, ha trabajado también como investigador en el CNRS de Francia. Ha dirigido

8 proyectos de investigación y participado como investigador en 5 proyectos con financiamiento nacional e internacional. Tiene 16 publicaciones en revistas indexadas, 15 publicaciones en otras revistas, ha participado en más de 38 congresos nacionales e internacionales (scopus h-index 8). Tiene más de treinta proyectos de titulación dirigidos.



Tupuna Yerovi Diego Santiago. Nació en la ciudad de Quito, se formó como Ingeniero Agroindustrial en la Escuela Politécnica Nacional. Se desempeñó profesionalmente en el área de Análisis de Alimentos y Auditoría de Sistemas de Gestión de Calidad en Industrias Alimenticias Privadas, posteriormente fue Supervisor de Vigilancia y Control Sanitario en

el Ministerio de Salud Pública de Ecuador. Es un becario SENESCYT y actualmente se encuentra en la ciudad de Porto Alegre - Brasil en la Universidad Federal de Rio Grande do Sul realizando su Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Trabaja en el Laboratorio de Compuestos Bioactivos de Alimentos, la cual es su línea de investigación.