

Uso de tecnología de membranas y resinas para la separación y purificación de polifenoles del tomate de árbol morado (*Solanum betaceum Cav*)

(Use of membrane technology and resins for the separation and purification of polyphenols purple tree tomato (*Solanum betaceum Cav*))

Elena Beltrán^{1,2}, Dominique Pallet³, Edwin Vera¹ y Jenny Ruales¹

Resumen:

El fraccionamiento de los polifenoles de los jugos del mesocarpio, placenta y cáscara de tomate de árbol morado utilizando el tamaño de poro de la membrana como medio de selección, se realizó utilizando micro y ultrafiltración tangencial; pruebas realizadas con HPLC demostraron que no se realizó el fraccionamiento de los compuestos fenólicos. Los procesos de concentración de los jugos clarificados de placenta y cáscara de tomate de árbol por Osmosis Inversa obtuvieron un factor de concentración volumétrica de 2 y 2,2 respectivamente. La concentración de polifenoles se incrementó en 1,5 veces para placenta y 2,4 veces para la cáscara y la capacidad antioxidante para los dos jugos aumento en 2,4 veces. Las antocianinas de la placenta se incrementaron en 2,6 veces. La utilización de la resina XA 5071 FG concentró los compuestos fenólicos con el aumento de la capacidad antioxidante en un rango entre 4 y 5,5 y la concentración de antocianinas aumentó en 1,8 veces en el jugo de placenta. En conclusión el proceso de concentración de polifenoles del tomate de árbol fue más eficiente utilizando la resina XA 5071 FG que en el proceso de osmosis inversa utilizado en este estudio.

Palabras clave: Microfiltración, ultrafiltración, antioxidantes, tamarillo

Abstract:

The polyphenols fractionation of mesocarp juices, placenta and purple tree tomato peel using the pore size of the membrane as a means of selection was performed using micro and ultrafiltration tangential; tests made with HPLC showed that fractionation of phenolic compounds was not performed. The processes of concentration of the clarified juices of placenta and tree tomato peel by reverse osmosis obtained a volumetric concentration factor of 2 and 2.2 respectively. The polyphenol concentration increased by 1.5 times for placenta and 2.4 times for peel and antioxidant capacity increased by 2.4 times for both juices. The anthocyanins of placenta increased by 2.6 times. The use of the resin XA 5071 FG concentrated phenolic compounds with an increase of antioxidant capacity in a range between 4 and 5.5, and anthocyanins concentration was increased 1.8 times in the placenta juice. In conclusion the process of polyphenols concentration of tree tomato was more efficient using the resin XA 5071 FG than the reverse osmosis applied in this research.

Keywords: Microfiltration; ultrafiltration; tamarillo.

¹ Escuela Politécnica Nacional, Quito – Ecuador

² Universidad Tecnológica Equinoccial, Quito – Ecuador (elena.beltran@ute.edu.ec)

³ Centre De Cooperation Internationale En Recherche Agronomic Pour Le Developpement. Montpellier-Francia.

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 cardiovasculares, inflamatorias y neurológicas; así como también enfermedades cancerígenas y el retardo del envejecimiento (Bravo, 1998; Lichtenthaler & Marx, 2005; Silva, Pompeu, Larondelle, & Rogez, 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 purificación de estos compuestos a nivel de laboratorio, se han probado principalmente: cromatografía de fase reversa con Sephadex (Mazza & Velioglu, 1992) o cromatografía iónica (Gil, Tomás-Berberán, Hess-Pierce, Holcroft, & Kader, 2000) y resinas absorbentes, que han sido ampliamente utilizadas para aislamiento, purificación, recuperación y concentración de antocianinas (Chandra, Nair, & Iezzoni, 1993; Liu, Xiao, Chen, Xu, & Wu, 2004; Liu et al., 2007; Scordino, Di Mauro, Passerini, & Maccarone, 2004; Silva, Pompeu, Larondelle, & Rogez, 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; Coronel, 2012). Además esta tecnología puede fácilmente aplicarse a nivel industrial para la obtención de diferentes tipos de polifenoles.

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 disminuir la concentración de colesterol en sangre y proteger contra el avance de enfermedades degenerativas (Vasco, 2005).

El objetivo de este trabajo es evaluar el uso de tecnología de membranas y de la resina XA 5071 FG para la separación y la concentración de polifenoles y antocianinas del tomate de árbol. La separación 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. Metodología

Se utilizó tomate de árbol morado gigante maduro, procedente de Baños, provincia de Tungurahua, Ecuador. Las frutas fueron lavadas, peladas, cortadas y se separó de la cáscara (exocarpio), el mesocarpio y la placenta que contiene las semillas. Con el mesocarpio y la placenta se realizaron pulpas sin añadir agua. Las tres fracciones separadas se guardaron a -21 °C.

Se realizó una hidrólisis enzimática de la siguiente manera: las pulpas del mesocarpio y la placenta se descongelaron y dejaron que alcance 30 o 20 °C respectivamente. Las cáscaras se trituraron y se añadió agua en una proporción agua:cáscara 3:1. La hidrólisis en todos los casos se realizó por 30 minutos con el coctel enzimático Rapidaza Vegetable Juice© con las siguientes condiciones de trabajo: (a) pulpa del mesocarpio 30 °C, (b) pulpa de la placenta 20 °C, (c) cáscara 20 °C; en todas las muestras se añadió 1 mL de enzima/kg de muestra. La separación mediante tecnología de membranas de los polifenoles contenidos en el tomate de árbol se realizó usando los siguientes equipos: una unidad piloto de microfiltración tangencial de la sociedad TIA, equipada con una membrana cerámica Membralox de 0,2 µm de diámetro de poro, y una membrana de Rhodia de 10 µm de diámetro de poro, ambas con una superficie de 0,2 m² y un módulo a escala de laboratorio diseñado por el grupo de investigación y equipado con membranas de Rhodia de 80 cm² de superficie y diámetros de poro entre 0.45 µm y 15 kDa. El proceso de concentración por ósmosis inversa se realizó en el módulo B1 (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 a 60 bar y 25 °C

Los jugos hidrolizados fueron procesados en la unidad piloto para microfiltración, y el clarificado obtenido se usó como alimentación para: la micro y ultrafiltración en el módulo de laboratorio, la concentración por osmosis inversa en el módulo B1 y en los procesos de purificación y concentración utilizando la resina XA 5071 FG.

Las pruebas preliminares se realizaron usando membranas cerámicas con los siguientes tamaños de poro: 10 µm, 0,45 µm, 0,2 µm, 0,1 µm, 300 kDa, 150 kDa, 50 kDa y 15 kDa. En base a estos resultados se realizaron pruebas para la separación de polifenoles del mesocarpio, placenta y cáscara usando las siguientes membranas: 0.2 µm, 0,1 µm, 150 kDa, y 15 kDa. En la micro y ultrafiltración se fijaron las siguientes condiciones de operación: presión de 2.5-3.0 bar, temperatura de 25-30 °C, flujo de recirculación para la unidad piloto de 1000 l.h⁻¹, para el módulo de laboratorio de 1 l.h⁻¹ y para la concentración por osmosis inversa la presión fue de 52 bar y temperatura de 25 °C; se utilizó el factor de retención volumétrico (FRV = volumen de la alimentación /volumen de retenido) para medir el rendimiento de los procesos.

Para el proceso de concentración de los polifenoles con resina se utilizó la resina XA 5071 FG que es un polímero adsorbente, no iónico, hidrófobo que permite la adsorción de especies hidrófobas de solventes polares. Se presenta bajo la forma de pequeñas esferas porosas cuyo tamaño promedio es de 0,65 ± 0,05 mm con una área específica de 800 m²/g. Las materias primas fueron jugos clarificados de placenta, pulpa y cáscara de tomate de árbol (*Solanum betaceum Cav*), obtenidos de la microfiltración con una membrana cerámica de tamaño de poro de 0,2 µm. El proceso de concentración se realizó con una columna de vidrio de diámetro interno de 1,5 cm, altura útil 50 cm y una bomba peristáltica. La relación jugo clarificado de placenta:

agua para el proceso de concentración fue de 1:1, los otros jugos no se diluyeron. Para cada proceso se realizó una repetición. En la fase de adsorción la columna fue cargada con 40 mL de resina previamente hidratada con agua desgasificada a 40 °C, se debe cuidar que la resina permanezca sumergida dentro del líquido durante todo el proceso. El volumen V en mL de resina utilizada corresponde a 1BV (Bed Volume). El jugo fue bombeado a temperatura ambiente y pasó a través de la cama de resina con un flujo de 80 mL/h. Con el propósito de eliminar azúcares y ácidos restantes en la resina luego de la adsorción se realizó el lavado con agua fría manteniendo el flujo. La desorción se realizó con etanol al 70 % y se obtuvieron seis eluatos de 20 mL. Las muestras sometidas a los diferentes análisis fueron los jugos clarificados utilizados como materia prima y la mezcla de los dos eluatos con mayor contenido de polifenoles totales, denominada eluato de mayor concentración.

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 utilizó la norma AOAC 942.15 37.1.37, 2000 y los sólidos solubles totales se determinaron de acuerdo a la norma AOAC 932.12 37.1.15, 2000 (Horwits, 2000). El contenido de fructosa, glucosa y sacarosa se realizó de acuerdo con la Norma chilena, NCh 574 (2007). Las concentraciones de calcio y hierro se determinaron por espectrofotometría de absorción atómica, y la de sodio por emisión atómica, previa digestión por microondas (Abdulla, 1986).

Para determinar el contenido de polifenoles solubles totales se utilizó el método de Folin-Ciocalteu's (Georgé, Brat, Alter, & Amiot, 2005) con un espectrofotómetro marca Shimadzu modelo UV-160A. La cuantificación de vitamina C, ácido cítrico, ácido tartárico y ácido málico se realizó utilizando el método descrito por Macrae (1988) modificado y validado en los laboratorios del DECAB de la Escuela Politécnica Nacional (Quito). La cuantificación de carotenos se realizó de acuerdo al método descrito por Pettersson y Jonsson (1990).

La medición de la capacidad antioxidante se realizó con el método de la capacidad de absorbancia de radicales de oxígeno (ORAC). 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 µM fueron usadas como estándares. Las muestras fueron diluidas con buffer de fosfato de 75 mM. Se colocó 180 µL de agua en las celdas exteriores de la placa y 160 µL de Fluoresceína y 20 µL de la muestra diluida en las celdas interiores. Las muestras y los estándares fueron analizados por duplicado. 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.

Para el análisis de los compuestos fenólicos se utilizó un HPLC con detector de arreglo de diodos y una columna lichrospher 5 CD2 4,6 x 250 mm; para la elusión de los polifenoles se utilizó la solución A (2 % de ácido fórmico y 98 % de agua) y la solución B (80 % acetonitrilo, 2 % ácido fórmico y 2 % agua) el gradiente 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 elusión fue 65 min y el flujo fue de 0.5 mL/min.

3. Resultados

Los resultados de ultrafiltración de las muestras del mesocarpio se presentan en la *Figura 1*, en todos los ensayos se utilizó la membrana del fabricante Rhodia. Como se puede observar no existe una influencia importante del diámetro de poro de la membrana en el flujo de permeado, debido probablemente a que las muestras utilizadas en el equipo piloto de laboratorio son jugos clarificados, y por lo tanto el colmataje de la membrana es mínimo.

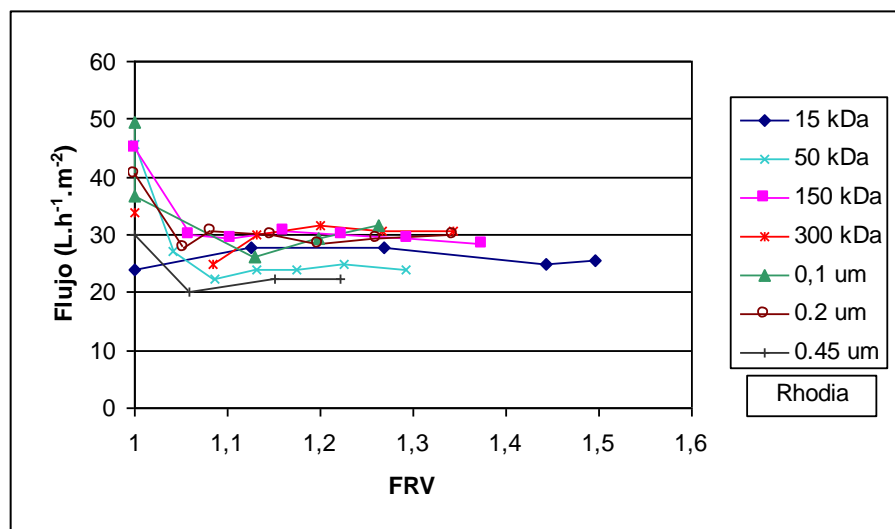


Figura 1. Variación del flujo y el Factor de retención volumétrico (FRV) en la ultrafiltración del clarificado del mesocarpio (3 bar, 20°C, equipo de laboratorio)

En la *Figura 2*, equipo de laboratorio, se observa que los flujos de permeado se incrementan con el tamaño de poro de la membrana, y 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.

En la filtración para la separación de los polifenoles de la cáscara del tomate de árbol, se encontró ciertos problemas debido a la formación de espuma. Sin embargo, luego de realizar la primera filtración con la membrana de 0,2 µm, el clarificado obtenido es fácil de manejar. En efecto, se

pudo observar que el flujo obtenido al tratar el clarificado en microfiltración con tamaño de poro inferior a 0,2 μm , este era igual o superior que el obtenido con la membrana de 0,2 μm .

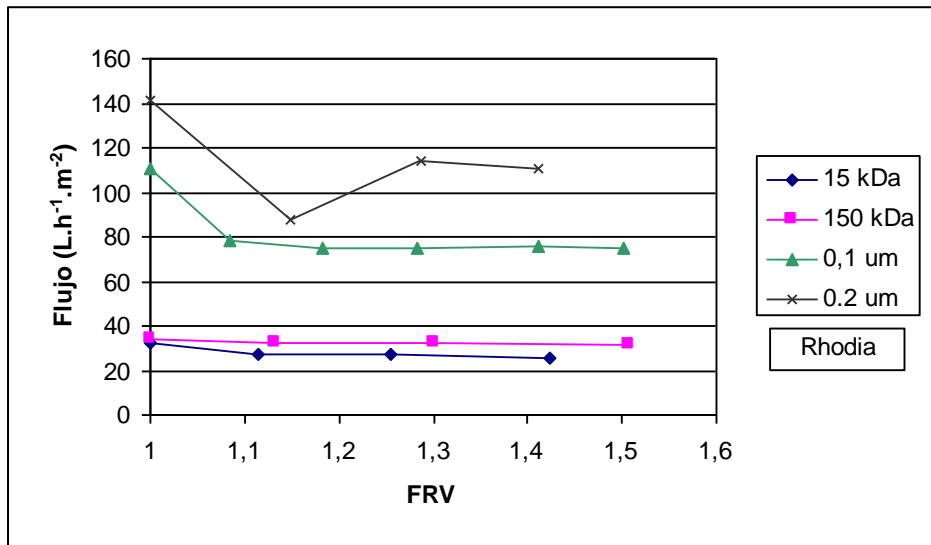


Figura 2. Variación del flujo y el Factor de retención volumétrico (FRV) en la ultrafiltración del clarificado de la placenta (3 bar, 20 °C, equipo de laboratorio)

En la *Figura 3*, se observa que el uso de etanol para extraer polifenoles en la cáscara, presentó ventajas en el proceso de filtración. El flujo de permeado medido en el equipo piloto, fue varias veces superior al tratamiento del jugo que contiene solamente agua.

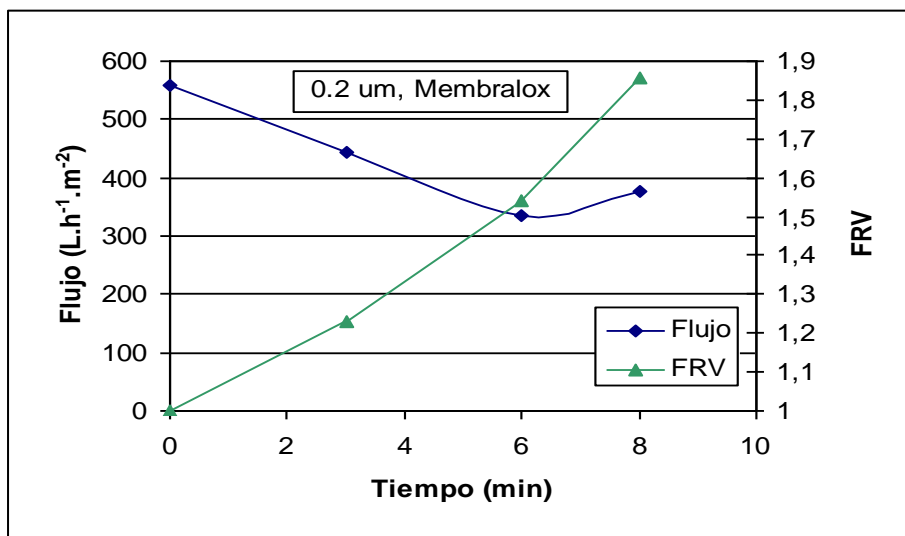


Figura 3. Variación del flujo y Factor de retención volumétrico en la microfiltración del jugo de la cáscara con etanol (3 bar, 32 °C, equipo piloto)

En las tablas 1 y 2 se presenta la caracterización de las muestras de tomate de árbol sometidas a micro y ultrafiltración.

Como podría esperarse, se observa que el pH, los grados Brix y la acidez titulable permanecen constantes en todas las fracciones y en todos los tratamientos. Esto se debe a que las moléculas de los azúcares y ácidos orgánicos, compuestos responsables de dichas propiedades, tienen un tamaño inferior al tamaño del poro de las membranas utilizadas. En efecto se conoce que estas moléculas son solo retenidas por nanofiltración o en ósmosis reversa (Scott, 1995).

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

Membrana		Alimentación	Retenido	Permeado
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. LND = Límite No Detectable

La alimentación de todos los procesos de microfiltración contiene β -carotenos, sin embargo en el permeado la concentración de estos se encuentran 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 .

De los resultados presentados en la *Tabla 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.

En la *Tabla 2* Se observa que las alimentaciones de los diferentes procesos de ultrafiltración para la placenta (0,1 μm , 150 kDa y 15 kDa) 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 el proceso deterioró esta vitamina.

Tabla 2. Propiedades de las fracciones obtenidas en la ultrafiltración de la pulpa de la placenta (piloto de laboratorio).

Membrana		Pulpa de la placenta			Jugo de la cáscara			Jugo con etanol de la cáscara		
		A	R	P	A	R	P	A	R	P
0,2 μm	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
0,1 μm	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
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
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.

Se puede observar en tablas 1 y 2 que las membranas de 10 μm a 0,2 μm no producen ningún cambio para todos los jugos 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 las membranas de 0,1 μm hasta la de 15 kDa se observa una disminución de la concentración 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 diferentes tamaños moleculares.

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 es 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 tecnología de membranas es muy versátil y si bien no se pudo modificar la distribución de polifenoles en el permeado y retenido de los procesos de ultrafiltración con membranas de tamaño de poro de hasta 15 KDa; la osmosis inversa es una alternativa para concentrar los compuestos antioxidantes de interés.

En la concentración de jugo clarificado de placenta de tomate de árbol el flujo de permeado decrece durante el proceso (*Figura 4*). La concentración de los jugos clarificados se realizó en una configuración 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. 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 (Marcillo *et al.*, 2007; Matta, Moretti, & Cabral, 2004).

El flujo medio del permeado fue de 39 y 42 $L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$ 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 procesado a las mismas condiciones fue de 22,8 $L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$, esta diferencia puede deberse a que el jugo clarificado utilizado tiene sustancias del mesocarpio que dificultan el paso de permeado a través de la membrana, lo que no sucede con el jugo clarificado de placenta ni de cáscara. La concentración alcanzada en los procesos no llegó hasta el límite de la presión osmótica debido al sistema de procesamiento por lotes que redujo rápidamente el volumen de alimentación.

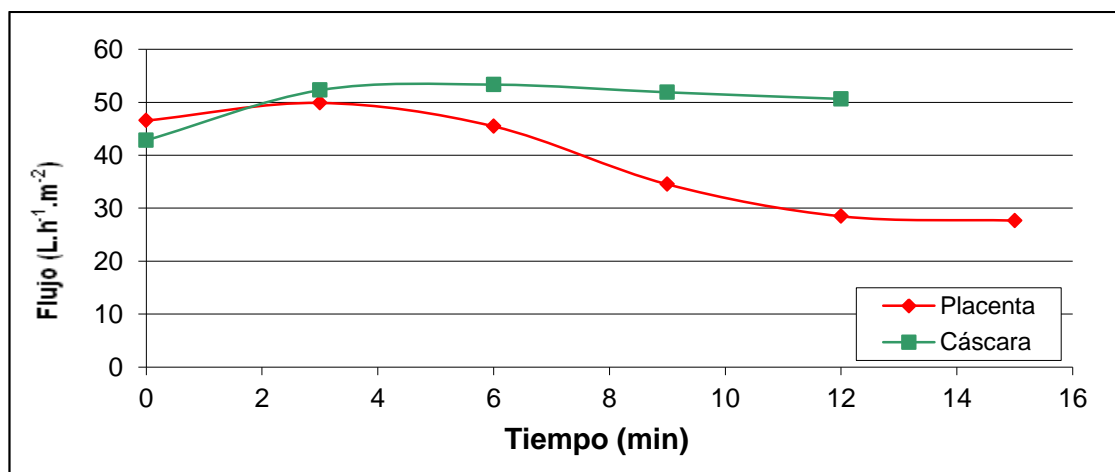


Figura 4. Comportamiento del flujo de permeado durante el proceso de ósmosis inversa del jugo clarificado de placenta y cáscara de tomate de árbol.

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. Sin embargo no se alcanza el límite de la presión osmótica que impediría el paso del permeado obteniendo flujos cercanos a cero debido al modo de operación por lotes, con valores de flujo de permeado altos. El factor de concentración volumétrica para la placenta fue de 2,0 y para la cáscara de 2,2

El contenido de sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix) se incrementa durante el proceso de concentración de los jugos clarificados desde un valor de 5,2 y 2 $^{\circ}$ Brix hasta alcanzar 13,6 y 4,8 $^{\circ}$ Brix en los jugos concentrados de placenta y cáscara respectivamente, obteniéndose las curvas típicas del proceso (Figura 5). Los factores de concentración obtenidos fueron 2,6 y 2,5 veces para placenta y cáscara son semejantes al obtenido por Marcillo (2010) para el jugo de tomate de árbol morado que fue de 2,8 (Marcillo et al., 2007).

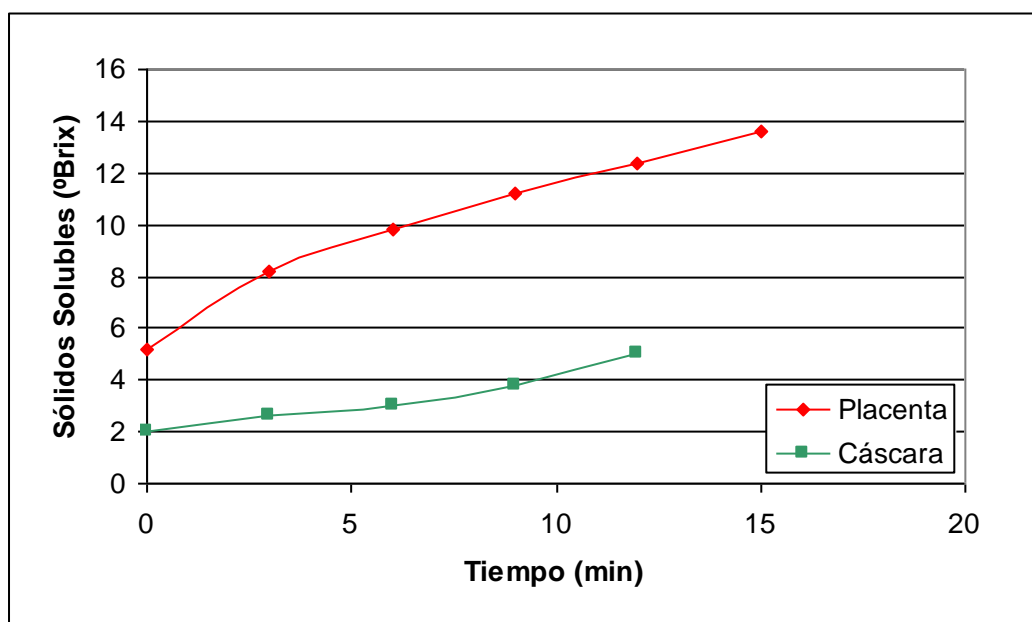


Figura 5. Variación de los sólidos solubles durante la concentración por ósmosis inversa de jugo clarificado de placenta y cáscara de tomate de árbol.

En la *Tabla 3* se observa que la mayor parte de las moléculas de los jugos clarificados fueron retenidas por la membrana, la concentración de los polifenoles del jugo clarificado de placenta se incrementa en un 54 %, mientras que la concentración de antocianinas y la capacidad antioxidante lo hacen en un 160 % y 143 % respectivamente, 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 indicaría 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. Resultados similares fueron obtenidos por Marcillo (2010) en la concentración por osmosis inversa de jugo de tomate de árbol morado, naranjilla y mora (Marcillo, 2010).

Para el jugo clarificado de cáscara de tomate de árbol gigante se puede observar que el factor de concentración de polifenoles fue de 2,4; al igual que el factor de la capacidad antioxidante, por lo que podemos deducir que tienen una relación proporcional, ya que en permeado no se detectaron estos compuestos ni presentó capacidad antioxidante. Marcillo (2010) reportó resultados similares a los obtenidos en este estudio para los demás compuestos concentrados (Marcillo, 2010).

Tabla 3. Caracterización de jugos clarificados y concentrados por osmosis 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
Ácido 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.

En la concentración de los polifenoles utilizando la resina XA 5071 FG, tanto para el mesocarpio, placenta y cáscara en segundo eluato se obtuvo la mayor concentración de polifenoles. Como se puede observar en la *Figura 6* la fracción dos concentró el 42 % de los polifenoles de la pulpa; mientras que para la placenta esta fracción retuvo el 56 % y 60 % de polifenoles de la cáscara.

Los análisis se realizaron en mezcla de los eluatos dos y tres, ya que contienen el mayor porcentaje de polifenoles y se le llamó eluato de mayor concentración.

La capacidad antioxidante medida según el método ORAC de los eluatos de mayor concentración tanto de la placenta como de la cáscara tienen valores similares a los reportados por Ou (2001) para jugo de arándano y uva de 34659 y 31441 μ M equivalentes de trolox /L de muestra, respectivamente (Ou, Hampsch-Woodill, & Prior, 2001).

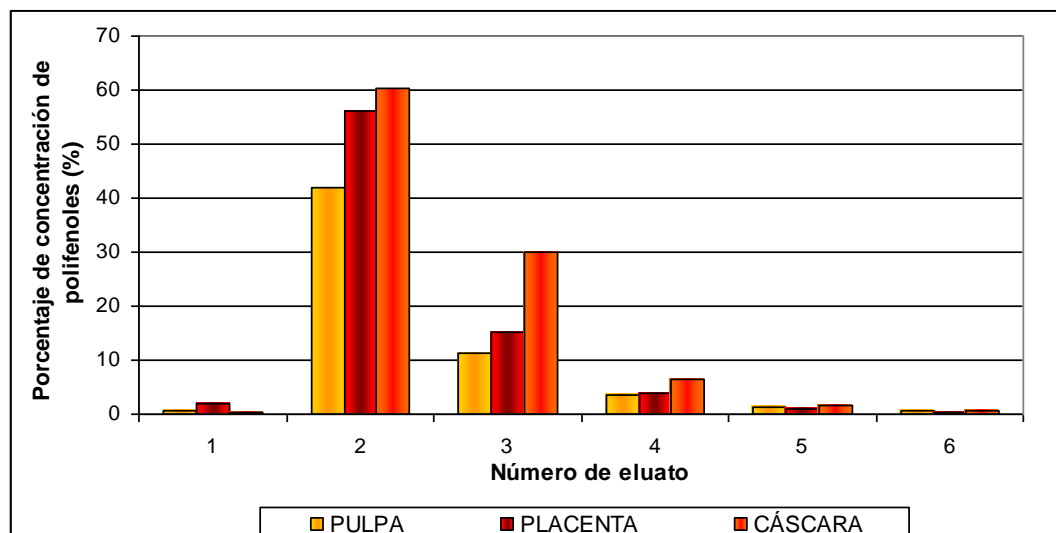


Figura 6. Evolución del porcentaje de concentración de la cantidad de polifenoles por orden creciente de las fracciones eluidas sobre la resina XA 5071 FG.

Los resultados de la *Tabla 4* 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, 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.

Los resultados de los cromatogramas de las muestras estudiadas se expresan como ácido clorogénico para la longitud de onda de 320 nm mientras que para la longitud de onda de 520 nm se expresan como cianidina-3-glucósido. La concentración de polifenoles determinados como ácido clorogénico es mayor en el eluato de mayor concentración que en los jugos clarificados. Para el mesocarpio la concentración se duplicó, para la cáscara se triplicó, mientras que para la placenta el eluato de mayor concentración contiene 16 veces la cantidad de polifenoles que la contenida en el jugo clarificado. 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.

Los eluatos de mayor concentración presentan mayor capacidad antioxidante que los jugos clarificados. Para el mesocarpio la capacidad antioxidante se intensifica en 3,7 veces, mientras que para la placenta la capacidad antioxidante se cuadruplica y para la cáscara la capacidad antioxidante en 5,5 veces.

En el proceso de concentración del jugo clarificado de placenta utilizando resina 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 osmosis 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 siguieron 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 osmosis inversa que fueron de 2,5.

Tabla 4. Caracterización del jugo clarificado y el eluato de mayor concentración de 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; ^c expresado 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; LND: Límite No Detectable.

4. Conclusiones y Recomendaciones

La utilización de la resina XA 5071 FG permitió obtener los mejores resultados para concentrar polifenoles de jugos clarificados de mesocarpio, placenta y cáscara de tomate de árbol morado. 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 osmosis inversa.

La osmosis inversa permitió concentrar los compuestos antioxidantes de interés pero debido al modo de operación, no se alcanzó el límite de la presión osmótica que impediría el paso del permeado obteniendo flujos cercanos a cero y la concentración máxima de los compuestos de interés.

Bibliografía

- Abdulla, M. (1986). Inorganic elements in prepared meals in Sweden. Ph D Tesis, Department of Clinical chemistry, University of Lund, Lund Sweden.
- 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.
- Chile, Instituto Nacional de Normalización (INN). (2007). Norma chilena. Miel de abejas- Determinación del contenido de fructosa, glucosa, sacarosa, turanosa y maltosa- Método HPLC con detector IR. NCh574.cR2006. Santiago, Chile.
- Coronel, M. (2012). Microfiltración tangencial. *Enfoque UTE*, 3(1), 01–07.
- 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. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 4581-4589.
- Horwitz, W. (2000). *Official Methods of Analysis of AOAC international* (17 ed.). Maryland: AOAC INTERNATIONAL.
- Lichtenthäler, R., & Marx, F. (2005). Total oxidant scavenging capacities of common european fruit and vegetables juices. *J. Agric. Food Chem.*, 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*, 2nd edition, Academic Press, Great Britain.
- 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*. Escuela Politécnica Nacional, Quito.

- Marcillo, V., Cruz, A. P. G., Cabral, L. M. C., Matta, V. M., 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. *J. Agric. Food Chem*, 49, 4619-4626.
- 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.
- 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.
- Vasco, C. (2005). *Qualitative and quantitative analysis of phenolic compounds with antioxidant capacity in a selection of fruits and vegetables cultivated in Ecuador*. M. Sc. thesis, Escuela Politécnica Nacional, Quito-Ecuador, Chalmers University of Technology, Gothenburg-Sweden.