

27. Agroalimentos

Evaluación del efecto de diferentes métodos de concentración sobre los compuestos bioactivos de jugo de arándanos

Segovia, Sebastián; Mongelat, Sandra

segovias@fcal.uner.edu.ar; mongelats@fcal.uner.edu.ar

Orientadora: Davies, Cristina; daviesc@fcal.uner.edu.ar

Facultad de Ciencias de la Alimentación

Universidad Nacional de Entre Ríos

Resumen

Los arándanos (*Vaccinium corymbosum*) son considerados como las bayas que poseen mayor actividad antioxidante debido a su alto contenido de compuestos fenólicos, característicos por sus efectos beneficiosos para la salud. A pesar de las ventajas de conservación y facilidad en el manejo de los concentrados, los métodos tradicionales de concentración de jugos presentan ciertos efectos adversos, como cambios en la calidad nutricional por degradación de los compuestos fenólicos, y requieren de mucho tiempo. Por ello se ha puesto especial interés en el estudio de alternativas innovadoras de concentración. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de tres métodos de concentración, evaporador rotatorio (RV), microondas convencional (MO) y microondas bajo vacío (MOV), sobre la retención de antocianinas totales (AT) y fenoles totales (FT) en el producto concentrado. El jugo de arándanos fue obtenido a partir de bayas de la región y concentrado hasta 42-49 °Brix. El tiempo requerido para obtener esta concentración fue de 60 min en MO, 65 min en RV y 90 min en MOV. La mayor retención de AT (2164,30±49,60 mg cianidina-3-glucósido/L) y de FT (813,42±64,57 mg GAE/100 mL) se produjo en el tratamiento RV. Si bien, el menor tiempo de proceso se logró en MO (60 min), las elevadas temperaturas alcanzadas (75±1 °C) en el concentrado probablemente provocaron una mayor degradación de AT y FT. Mientras que en MOV la temperatura del concentrado (49±1 °C) fue similar a la del obtenido en RV (48±1 °C), el mayor tiempo de proceso pudo haber afectado la estabilidad de esos compuestos bioactivos. Por lo tanto, el método de concentración de jugo de arándanos más eficiente para conservar la mayor concentración de compuestos bioactivos resultó ser el evaporador rotatorio.

Palabras clave: concentración de jugos, arándanos, antocianinas, fenoles totales.

Introducción

Los arándanos (*Vaccinium corymbosum*) son considerados como las bayas que poseen mayor actividad antioxidante (Eichholz, Huyskens-Keil y Rohn, 2015). Este efecto es debido a su alto contenido de compuestos fenólicos, los cuales tienen efectos beneficiosos para la salud (Xu, Ma y Chen, 2014; Liu et al., 2015), entre ellos protección contra enfermedades coronarias, procesos inflamatorios, cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares y Alzheimer (Mohideen et al., 2015).

Entre los fenoles presentes en el arándano se encuentran las antocianinas que son los pigmentos responsables de los tonos rojos, azules y morados (Miguel, 2011). Son glucósidos de antocianidinas (aglicona), cuya estructura básica está formada por un núcleo de benzopirilio y un anillo fenólico, que en conjunto se denominan ión flavilio. Las diferentes sustituciones en el anillo fenólico originan las diversas antocianidinas conocidas (Garzón, 2008).

Desde hace tiempo se está prestando atención a los cambios que experimentan las antocianinas y compuestos fenólicos en general, durante el procesamiento y almacenamiento de productos obtenidos con diferentes bayas. Los principales factores que gobiernan la degradación de las antocianinas son el pH, la temperatura

y la concentración de oxígeno (Damodaran, Parkin y Fennema, 2010). Los aumentos de temperatura provocan un efecto adverso sobre la estructura de las antocianinas, especialmente durante el tratamiento térmico o el almacenamiento (Su y Chen, 2007).

A pesar de las ventajas referidas a la conservación y facilidad en el manejo de los concentrados, el proceso de concentración de jugos también acarrea ciertos efectos adversos, como cambios en la calidad nutricional por degradación de los compuestos fenólicos (Yousefi, Emam-Djomeh, Mousavi y Askari, 2012). En efecto, las antocianinas son altamente sensibles a la degradación durante la concentración de jugos de frutas (Barba et al., 2012).

Los métodos tradicionales de concentración resultan en grandes pérdidas de los parámetros de calidad y requieren de mucho tiempo, por lo que se ha puesto especial interés en el estudio de alternativas innovadoras de concentración (Cassano, Jiao y Drioli, 2004). Una de ellas es la aplicación de microondas ya que presenta muchos beneficios cuando se la compara con los métodos tradicionales debido a que el tiempo de proceso es menor y se logra una mejora en las propiedades organolépticas del producto obtenido (Elik, Yanık, Maskan y Göğüş, 2016).

La combinación de microondas con vacío durante la concentración permite una alta velocidad de transferencia de masa y energía a bajas temperaturas por cortos tiempos. Este sistema mejora la calidad del producto (preserva el color, contenido de fenoles totales, antioxidantes, antocianinas y actividad antioxidante) y usa la energía de manera más eficiente (Assawarchan y Noomhorm, 2011).

Objetivos

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de tres métodos de concentración de jugos de arándanos, evaporador rotatorio (rotavapor), microondas convencional y microondas bajo vacío, sobre la retención de antocianinas totales y fenoles totales en el producto concentrado, para su posterior uso como mosto en la elaboración de vinagre balsámico de arándanos.

Materiales y Métodos

Obtención de jugo de arándanos

Se utilizó como materia prima arándanos maduros pertenecientes al género *Vaccinium corymbosum* (Highbush o arándano alto) suministrados por productores del departamento Concordia. Las bayas se congelaron para evitar su deterioro microbiano, sensorial y nutricional, hasta el momento de su utilización en el que se descongelaron hasta 5°C aproximadamente (Lee, Durst, y Wrolstad, 2002; Rossi et al., 2003;

Brambilla, Lo Scalzo, Bertolo, Torreggiani, 2008), lavaron y escurrieron. Previo a la trituración de la fruta, se realizó un escaldado para favorecer la inactivación de enzimas, principalmente de la polifenoloxidasas, causantes de la destrucción de antocianinas y otros compuestos fenólicos de importancia para la calidad y valor nutricional del producto. El escaldado se realizó en baño de agua a 95°C durante 2 min y posterior enfriamiento rápido en agua fría hasta 38°C (Lee et al., 2002).

A continuación, se llevó a cabo el triturado de la fruta con una procesadora manual marca PEABODY, modelo PE-LM327B (Argentina) a fin de obtener una mezcla homogénea. Una vez realizada la reducción del tamaño de las bayas se realizó la despectinización adicionando enzimas comerciales. El tiempo y temperatura de proceso fue de 1 h a 50 °C y se utilizó una concentración enzimática de 0,08 mg/L de enzima. Para verificar que el proceso de despectinizado se haya completado, se realizó la prueba de precipitación con alcohol.

Una vez finalizada la despectinización, se procedió a la extracción del jugo mediante un prensado manual utilizando filtros de telas. La concentración de sólidos solubles fue de 11,7±0,4 °Bx, determinada mediante un refractómetro HANNA INSTRUMENTS, modelo 96801. El volumen de jugo de arándanos obtenido se fraccionó y conservó en congelación (-

18°C) hasta su posterior tratamiento con distintos métodos de concentración.

Concentración del jugo

El jugo de arándanos fue concentrado hasta 42-49 °Bx. mediante los siguientes tres métodos de concentración a escala laboratorio:

- Microondas: se utilizó un horno microondas marca TCL, modelo 20P10M (Argentina), de 700 W de potencia máxima. La muestra se colocó en un envase de polietileno (apto para microondas) de 15 cm de diámetro y se trabajó a una potencia de 250 W.
- Microondas bajo vacío: se utilizó un horno microondas marca TOP HOUSE modelo MM820CTM (China) modificado de manera que se pueda regular la potencia continua de forma manual y con el agregado de un sistema de vacío (Figura 1). La muestra se colocó en un envase de polietileno (apto para microondas) de 15 cm de diámetro.
- Evaporador rotatorio: se utilizó un rotavapor a vacío marca YAMATO modelo RE-46 (Japón), con baño de agua a $60\pm 2^\circ\text{C}$ (Figura 2).

Dado que el máximo volumen de muestra estaba limitado por el volumen del balón del rotavapor, en los tres casos se trabajó con 180 mL cada vez. Para evitar la formación de espuma se debió utilizar antiespumante de silicona AETN 22, al 0,1

%. Los ensayos se realizaron por duplicado.

Con el objeto de evaluar el proceso de concentración en el tiempo, en cada uno de los métodos, se tomaron muestras de jugo a intervalos de 20-30 min y se realizaron determinaciones de sólidos solubles. Con los datos obtenidos se construyeron las curvas de concentración en función del tiempo.

De cada jugo concentrado obtenido se reservó una muestra para la determinación de las concentraciones de los principales componentes antioxidantes, fenoles totales y antocianinas totales.



Figura 1. Microondas bajo vacío.



Figura 2. Evaporador rotatorio (rotavapor).

Determinación del contenido de fenoles totales

El contenido de fenoles totales del jugo de arándanos se determinó con el método basado en la reducción del reactivo de Folin-Ciocalteu (Saura-Calixto, 1998). Este reactivo consiste en una mezcla de ácidos fosfowolfrámico y fosfomolibdico en medio básico, que se reducen al oxidar los compuestos fenólicos presentes en la muestra, originando óxidos azules de wolframio (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}). Para la cuantificación se mezcló un volumen de muestra con otro del reactivo y se agregó solución de carbonato de sodio al 20 % y agua ultra pura. Luego de agitar esta mezcla se incubó a temperatura ambiente (25 ± 1 °C) durante 30 minutos en la oscuridad. Por último, se midió la absorbancia de estas muestras a 760 nm en espectrofotómetro UV-visible SHIMADZU, modelo UV 1603 (Japón). Todas las lecturas se realizaron contra un blanco compuesto de agua ultra pura, solución de carbonato de sodio al 20 % y Reactivo de Folin-Ciocalteu (Zapata, 2014). Se utilizó ácido gálico como fenol de referencia, por lo que los resultados se expresaron como mg equivalente de ácido gálico (GAE)/100 mL de muestra.

Determinación del contenido de antocianinas totales

Se determinaron a través del método diferencial de pH (Giusti y Wrolstad, 2001). Para la cuantificación se preparó una solución buffer de cloruro de potasio

0,025 M ajustado con ácido clorhídrico a pH 1,0 y otra de acetato de sodio 0,4 M ajustado con ácido acético a pH 4,5. Un volumen de muestra fue adicionada de la solución buffer de cloruro de potasio (pH 1,0) y se midió la absorbancia a 510 nm (longitud de onda de máxima absorción de antocianinas) con un espectrofotómetro UV-visible SHIMADZU, modelo UV 1603 (Japan). Posteriormente, y con el propósito de efectuar la corrección de la medida debida a la presencia de compuestos degradados o sustancias interferentes, se midió la absorbancia a 700 nm. La misma dilución y procedimiento se realizó utilizando solución buffer de acetato de sodio (pH 4,5) con el fin de eliminar la absorbancia debida a la intensidad de color de pigmentos poliméricos amarrados y antocianinas degradadas. Las mediciones se realizaron contra un blanco de agua ultra pura (Zapata, 2014). La diferencia en las absorbancias a la longitud de onda de máxima absorción es proporcional al contenido de antocianinas (Wrolstad, 1993). La concentración de estos compuestos presentes en muestras líquidas se expresa como mg cianidina-3-glucosido/L de muestra.

Tratamiento estadístico

Cada una de las determinaciones analíticas se efectuó por triplicado. Se analizaron los resultados mediante análisis de varianza y, cuando fue necesario ($p < 0,05$), se aplicó el

procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. En todos los casos se utilizó un nivel de confianza del 95 %. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statgraphics Centurión XV Corporate.

Resultados y Discusión

Evolución del proceso de concentración

La evolución del proceso de concentración del jugo de arándanos para los tres métodos ensayados se observa en la Figura 3, en la que se graficaron los valores medios de los sólidos solubles en diferentes períodos durante el tratamiento. El tiempo requerido para obtener una concentración de 42-49 °Bx fue de 60 min en microondas (MO), 65 min en rotavapor con vacío (RV) y 90 min en microondas con vacío (MOV). Debido a que la temperatura es uno de los principales factores que determinan la estabilidad y, a su vez, la degradación de las antocianinas (Damodaran *et. al.*, 2010), se registraron las temperaturas alcanzadas durante cada proceso de concentración. Mientras que en ambos tratamientos realizados bajo vacío, MOV y RV, las temperaturas del producto concentrado llegaron a 49 ± 1 °C y 48 ± 1 °C respectivamente, el concentrado en microondas tradicional alcanzó valores de 75 ± 1 °C. De hecho, el tratamiento por microondas permite aumentar la velocidad de concentración del jugo en comparación con los demás métodos mencionados, ya

que, el calor se genera dentro del alimento por reorientación de los dipolos que a su vez causa la fricción molecular del agua y genera calor (Drouzas, Tsami, Saravacos, 1999).

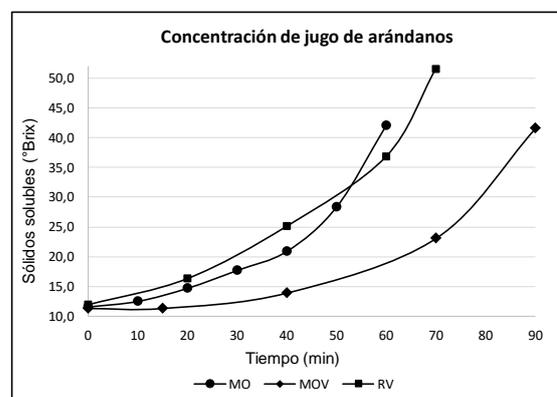


Figura 3. Evolución de la concentración del jugo de arándanos en función del tiempo. Microondas: MO, microondas con vacío: MOV, rotavapor: RV. Volumen de muestra: 180 mL.

Contenido de fenoles y antocianinas totales

El contenido de antocianinas totales en el jugo de arándanos recién obtenido resultó de $527,52\pm 9,66$ mg cianidina-3-glucósido/L y el de fenoles totales, $255,85\pm 7,03$ mg GAE/100 mL. El análisis estadístico de la concentración de AT y FT en función del método de concentración utilizado indicó diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre las muestras finales concentradas (Tabla 1). Específicamente, la mayor concentración tanto de AT como de FT fue determinada en las muestras tratadas en rotavapor, probablemente por el mantenimiento de la temperatura a niveles

(48±1 °C) en los que se favorece la estabilidad o se disminuye la degradación de estos compuestos bioactivos. Si bien en las muestras tratadas con MOV se registraron temperaturas similares (49±1 °C), los valores inferiores de AT y FT podrían deberse al mayor tiempo de tratamiento (90 min) respecto de MO y RV (60-65 min), tal como fue reportado por Kirka y Cemeroglu (2003).

Tabla 1. Concentración de antocianinas totales (AT) y fenoles totales (FT) en jugo de arándanos concentrado según el método empleado.

Muestra	AT (mg cianidina-3- glucósido/L)	FT (mg GAE/100 mL)
RV	2164,30 ± 49,60 ^a	813,42 ± 64,57 ^a
MO	1299,14 ± 81,42 ^c	724,40 ± 14,40 ^b
MOV	1561,80 ± 79,34 ^b	545,94 ± 14,43 ^c

MO: Microondas, MOV: microondas con vacío, RV: rotavapor. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según test LSD (P<0,05).

No obstante, en un trabajo publicado por Elik y colaboradores (2016), la preservación de FT fue mayor en muestras tratadas con microondas (200 y 250 W) que en aquellas concentradas con rotavapor, aduciendo que este resultado fue debido al menor tiempo de proceso requerido en los primeros. Sin embargo, el volumen informado de muestra fue de 75 mL (sensiblemente inferior al empleado en el presente trabajo de investigación) y con ello también los tiempos de concentración

resultan inferiores, lo que podría estar afectando la diferencia con los resultados de este trabajo.

Conclusiones

La mayor retención de antocianinas totales y fenoles totales se logró mediante la concentración del jugo de arándanos con evaporador rotatorio. Si bien, el menor tiempo de proceso se logró con el tratamiento en microondas convencional, las elevadas temperaturas alcanzadas en el producto concentrado probablemente provocaron una mayor degradación de los compuestos bioactivos analizados.

Bibliografía

- Assawarchan, R. y Noomhorm, A. (2011). Mathematical models for vacuum-microwave concentration behavior of pineapple juice. *Journal of Food Process Engineering*, 34, 1485–1505.
- Barba, F.J., Jäger, H., Meneses, N., Esteve, M.J., Frígola, A. y Knorr, D. (2012) Evaluation of quality changes of blueberry juice during refrigerated storage after high-pressure and pulsed electric fields processing. *Innovative Food Science and Emergency Technology*, 14:18–24.
- Brambilla, A., Lo Scalzo, R., Bertolo, G. y Torreggiani, D. (2008). Steam-blanching highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) juice: Phenolic profile and antioxidant capacity in relation to cultivar selection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 2643-2648.

- Cassano, A., Jiao, B. y Drioli, E. (2004). Production of concentrated kiwifruit juice by integrated membrane process. *Food Research International*, 37, 139–148.
- Damodaran, S., Parkin, K. L. y Fennema, O. R. (2010). Fennema. Química de los alimentos. (3ª edición.). Zaragoza, España.: Editorial Acribia S.A.
- Drouzas, A.E., Tsami, E. y Saravacos, G.D. (1999). Microwave/vacuum drying of model fruit gels. *Journal of Food Engineering*, 39 (2), 117-122.
- Eichholz, I., Huyskens-Keil, S. y Rohn, S. (2015). Blueberry phenolic compounds: fruit maturation, ripening and post-harvest effects. En: V. R. Preedy (Ed.), Processing and impact on active components in food. (1 st., pp. 173–180). United States of America: Academic Press, Elsevier.
- Elik, A., Yanık, D. K., Maskan, M. y Göğüş, F. (2016). Influence of three different concentration techniques on evaporation rate, color and phenolics content of blueberry juice. *Journal of Food Science and Technology*, 53(5), 2389-2395.
- Garzón, G. A. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. *Acta Biológica Colombiana*, 13(3): 27-36.
- Giusti, M. M. y Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, Unit F1.2, 1–13.
- Kirca, A. y Cemeroğlu, B. (2003). Degradation kinetics of anthocyanins in blood orange juice and concentrate. *Food Chemistry*, 81 (4): 583-587.
- Lee, J., Durst, R. W. y Wrolstad, R. E. (2002). Impact of juice processing on blueberry anthocyanins and polyphenolics: comparison of two pretreatments. *Journal of Food Science*, 67: 1660-1667.
- Liu, J., Gao, F., Ji, B., Wang, R., Yang, J., Liu, H. y Zhou, F. (2015) Anthocyanins rich extract of wild chinese blueberry protects glucolipotoxicity induced INS832/13 β -cell against dysfunction and death. *Journal of Food Science and Technology*, 52 (5):3022–3029
- Miguel, M. G. (2011). Anthocyanins: Antioxidant and/or anti-inflammatory activities. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 01(06): 07-15.
- Mohideen, F.W., Solval, K.M., Li, J., Zhang, J, Chouljenko, A., Chotiko, A. y Sathivel, S. (2015) Effect of continuous ultra-sonication on microbial counts and physico-chemical properties of blueberry (*Vaccinium corymbosum*) juice. *Food Science and Technology*, 60(1):563–570.
- Rossi, M., Giussani, E., Morelli, R., Lo Scalzo, R., Nani, R.C. y Torreggiani, D. (2003). Effect of fruit blanching on phenolics and radical scavenging activity of highbush blueberry juice.

- Food Research International*, 36, 999-1005.
- Saura-Calixto, F. (1998). Antioxidant dietary fiber product: a new concept and a potential food ingredient. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4303–4306.
- Su, M.S. y Chien, P.J. (2007). Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) fluid products as affected by fermentation. *Food Chemistry*, 104 (1), 182–187.
- Wrolstad, R. E. (1993). *Color and pigment analyses in fruit products*. Oregon.
- Xu, C., Ma, Y. y Chen, H. (2014) Technique of grafting with Wufanshu (*Vaccinium bracteatum* Thunb.) and the effects on blueberry plant growth and development, fruit yield and quality. *Scientiae Horticulturae*, 176: 290–296
- Yousefi, S., Emam-Djomeh, Z., Mousavi, S.M.A. y Askari, G.R. (2012) Comparing the effects of microwave and conventional heating methods on the evaporation rate and quality attributes of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice concentrate. *Food Bioprocess Technology*, 5 (4):1328–1339.
- Zapata, L. M. (2014). Obtención de extracto de antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria. Universitat Politècnica de València.

Financiamiento

Este trabajo es parte del proyecto de investigación PID N° 8088 “Obtención de vinagre tipo balsámico y crema balsámica a partir de vino de arándanos”, financiado por la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Entre Ríos.