

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

**Concentración de Antocianinas en Jugo de Cranberries
(*Vaccinium macrocarpon* Ait.) mediante Nanofiltración**

Tesis presentada como parte de los
requisitos para optar al grado de
Licenciado en Ciencias de los Alimentos

Susan Mercedes Poo Barrera

VALDIVIA – CHILE

2005

PROFESOR PATROCINANTE:

MARCIA COSTA L.

Ingeniero Civil Bioquímico, Diploma Ingeniería
Industrial

Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

PROFESOR COPATROCINANTE:

VIVIANA SOTO

Ingeniero en Alimentos
Agrícola Cranchile

PROFESOR INFORMANTE:

KONG SHUN AH-HEN

Ingeniero en Alimentos, Doctor en Ingeniería
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

A mis padres, por su amor incondicional

A mis hermanos, por su apoyo

A Rodrigo, contigo aprendí
a ver la luz del otro lado de la luna.

AGRADECIMIENTOS

A mi profesora patrocinante, Sra. Marcia Costa por su constante apoyo en el desarrollo de esta tesis.

A mi profesor informante, Dr. Ing. Kong Shun Ah-Hen, por su apoyo y buena disposición.

A mi profesora copatrocinante, Viviana Soto, Ingeniero en Alimentos de *Cran Chile* por su importante colaboración.

A todo el personal del Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, y en especial a la Sra. Marcia Rojas.

A todos quienes de alguna u otra manera contribuyeron a la realización de esta tesis.

ÍNDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
1	INTRODUCCIÓN	1
2	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1	Cranberry	3
2.1.1	Jugo de cranberries	5
2.1.2	Composición química del jugo de cranberries	5
2.2	Antocianinas	5
2.2.1	Estabilidad de las antocianinas	8
2.2.2	Efecto del pH sobre el color de las antocianinas	9
2.2.3	Antocianinas como colorantes alimenticios	11
2.3	Tecnologías de filtración por membrana	13
2.3.1	Proceso de separación por membranas	14
2.3.2	Principales aplicaciones de las tecnologías de membrana	16
2.3.3	Clasificación de las membranas	17
2.3.4	Polarización de concentración	18
2.3.5	Nanofiltración	19
2.3.6	Cálculos para procesos de nanofiltración	21
2.3.7	Factores que afectan al flujo de permeado	22
2.4	Concentración de pigmentos por tecnologías de membrana en jugos de frutas	24
3	MATERIAL Y MÉTODO	26
3.1	Ubicación del ensayo	26
3.2	Material	26

3.2.1	Materia prima	26
3.2.2	Equipos	27
3.3	Metodología	27
3.3.1	Diseño experimental	27
3.3.2	Preparación del jugo a filtrar	28
3.3.3	Análisis del jugo de filtrar (alimentación)	28
3.3.4	Nanofiltración a nivel de laboratorio	29
3.3.5	Caracterización de muestras de permeado y concentrado	31
3.3.6	Evaluación del proceso	31
3.3.6.1	Variables que afectan al flujo de permeado	32
3.3.6.2	Capacidad de separación de la membrana	33
4	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	34
4.1	Caracterización de muestras de alimentación, permeado y concentrado	35
4.2	Efecto del flujo volumétrico de alimentación y la presión transmembrana sobre el flujo de permeado	39
4.3	Capacidad de retención de antocianinas de la membrana utilizada	43
5	CONCLUSIONES	47
6	RESUMEN	48
	SUMMARY	49
7	BIBLIOGRAFÍA	50
	ANEXOS	53

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Composición química del fruto de cranberry	4
2	Análisis nutricional de jugo de cranberry concentrado (50 °Brix)	7
3	Características del jugo concentrado de cranberry utilizado como materia prima	26
4	Matriz de ensayos para un diseño experimental 3^2 con 3 repeticiones	28
5	Características de las membranas para nanofiltración HC-50P <i>DDS Filtration</i> y límites de operación recomendados por el fabricante	30
6	Procedimiento de lavado de membranas de nanofiltración	32
7	Resumen de ensayos realizados	35
8	Caracterización de muestras de alimentación, permeado y concentrado	36
9	Capacidad de retención de antocianinas de jugo de cranberries de la membrana HC-50P (<i>DDS Filtration</i>) en cada ensayo de nanofiltración	44
10	Contenido de antocianinas de las muestras de concentrado obtenidas en el ensayo 5	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Línea de flujo jugo concentrado de cranberry	6
2	Estructura básica de las antocianinas	8
3	Reacciones de la transformación estructural de malvidina-3-glicósido en el intervalo de pH de 1 a 7	10
4	Espectro de absorción de cianidina-3-ramnoglicósido a distintos valores de pH	11
5	Espectro de aplicación de los procesos de separación por membranas	16
6	Selectividad de las membranas de nanofiltración versus otras tecnologías de filtración por membrana	20
7	Equipo de membranas planas <i>DDS Lab</i> (module 20-0 36 Lab)	30
8	Acidez titulable de las muestras de alimentación, permeado y concentrado para cada ensayo	37
9	Sólidos solubles de las muestras de alimentación, permeado y concentrado para cada ensayo	38
10	Contenido de antocianinas de las muestras de alimentación, permeado y concentrado para cada ensayo	38
11	Efecto del flujo volumétrico de alimentación sobre los flujos instantáneos de permeado a diferentes F_c	40
12	Efecto de la presión transmembrana sobre los flujos instantáneos de permeado a diferentes F_c	42
13	Cálculo del coeficiente de retención de antocianinas para el ensayo 5	45
14	Muestras de concentrado y permeado	46

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Determinación del contenido de antocianinas	54
2	Factor de concentración del retenido en función del tiempo de proceso	57
3	Flujo instantáneo de permeado en función del tiempo de proceso	58
4	Análisis estadístico realizado en <i>Statgraphics Plus 5.1</i> para estudiar el efecto de condiciones de operación sobre el flujo de permeado	59
5	Análisis estadístico realizado en <i>Statgraphics Plus 5.1</i> para estudiar el efecto de condiciones de operación sobre el coeficiente de retención de antocianinas	61

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, los pigmentos de zumo de fruta han adquirido gran importancia como “colorantes naturales”, sustituyendo así a los colorantes sintéticos. Dentro de ellos se encuentran las antocianinas, pigmentos solubles en agua responsables de los colores anaranjados, rojos y púrpuras de flores y frutas. Pese a que las antocianinas abundan en la naturaleza, estos pigmentos son difíciles de purificar para ser empleados como aditivo en alimentos.

Por otro lado, la aplicación de tecnologías de membrana en la industria alimentaria se ha diversificado ampliamente desde sus comienzos a principios de los años sesenta, debido a las ventajas que presentan en relación a otras tecnologías como la evaporación. El rango de aplicaciones se extiende desde la microfiltración a la osmosis inversa, incluyendo varios sectores de la industria, como el sector lácteo, de frutas y hortalizas, de bebidas, de procesado de granos y de azúcar; siendo la industria láctea una de las principales utilizadoras de la separación por membrana. La nanofiltración es un proceso con un rango de selectividad de moléculas entre la ultrafiltración y la osmosis inversa, con un alto potencial de uso en la industria alimentaria, principalmente en la industria de bebidas, donde constituye una buena alternativa para fraccionar o concentrar, recuperar aromas y purificar antocianinas en jugos de frutas. La utilización de nanofiltración en lugar de osmosis inversa para la concentración de jugos puede mejorar la eficiencia del proceso, disminuyendo los requerimientos de energía.

Si bien es cierto, existe investigación relacionada con la concentración de antocianinas en jugos de frutas por sistemas de membrana, resulta interesante para la industria de alimentos, estudiar la aplicación de estas tecnologías a jugo de cranberries elaborado en la X Región.

Hipótesis:

Si se aplica la tecnología de nanofiltración a jugo de cranberries, entonces es posible concentrar los pigmentos antocianos con una mínima pérdida de éstos en el permeado.

Objetivo general:

Obtener un concentrado de antocianinas mediante la aplicación de la tecnología de nanofiltración a jugo de cranberries.

Objetivos específicos:

- Aplicar el proceso de nanofiltración a jugo de cranberries para la obtención de un concentrado de antocianinas a presiones y flujos de operación constantes.
- Caracterizar muestras de permeado y concentrado obtenidas bajo distintas condiciones de proceso.
- Evaluar la capacidad de retención de antocianinas de la membrana de nanofiltración.
- Determinar el efecto de dos parámetros de operación, presión aplicada y flujo volumétrico de alimentación, sobre el flujo de permeado.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cranberry

El cranberry americano, *Vaccinium macrocarpon* Ait., también conocido como cranberry de fruto grande, es una especie que crece en forma silvestre en los EE.UU.; su cultivo industrial comienza a principios del siglo XIX en el sudeste de Massachussets, donde el bajo pH de los terrenos y la abundancia de arena crearon las condiciones ideales para un óptimo crecimiento del cranberry. En 1889 se estableció la primera empresa comercial e industrial de cranberry. Actualmente, EE.UU. es el principal país productor de cranberries en cuanto a superficie plantada, seguido por Canadá y Chile, que ocupan el segundo y tercer lugar, respectivamente (BUZETA, 1997).

El cranberry americano pertenece a la familia Ericaceae y al género *Vaccinium*. La planta del cranberry americano es leñosa y perenne, de 15 a 25 cm de altura, con aspecto de enredadera y rastrera, que llega a cubrir el 100% del suelo formando un grueso “colchón” de ramas y ramillas a ras de suelo. Los frutos corresponden a una baya, de color rojo cuando madura, de un diámetro de 1 a 2 cm. En su interior es hueca, factor que le imprime su facilidad para flotar y así poder ser cosechada por flotación. Un índice de madurez muy utilizado es el color de las semillas, las que se tornan café cuando el fruto está maduro. Su duración después de cosechada puede ser de hasta un mes a temperaturas frescas y hasta dos meses en el caso de fruta cosechada en seco (BUZETA, 1997).

Los frutos cultivados de cranberry satisfacen los requerimientos alimenticios del consumidor, por su bajo aporte en calorías, alto contenido de vitaminas, minerales y buen porcentaje de fibras (BUZETA, 1997); su composición química se presenta en el CUADRO 1. Por otro lado, los cranberries son una rica fuente

CUADRO 1. Composición química del fruto de cranberry.

	Por cada 100 g de fruta
Azúcares reductores (g)	4,2
Fibra dietética (g)	1,6
Proteínas (g)	0,2
Grasa total (g)	0,4
Humedad (g)	88,0
Cenizas (g)	1,6
Vitamina C (mg)	10,5 – 7,5
Vitamina A (UI)	40
Ácido nicotínico (µg)	33,0
Ácido pantoténico (µg)	25,0
Tiamina (µg)	13,5
Calcio (mg)	13
Fósforo (mg)	8
Potasio (mg)	53

FUENTE: BUZETA (1997).

de flavonoides y otros compuestos que pueden proporcionar importantes beneficios para la salud, como la prevención de enfermedades al tracto urinario, enfermedades cardiovasculares, úlceras estomacales e incluso cáncer¹. Los flavonoides del cranberry incluyen las antocianinas, flavonoles y las proantocianidinas (PACs); siendo estas últimas de particular interés para los investigadores, debido al efecto de anti-adhesión que poseen sobre ciertas bacterias, mecanismo por el cual ayudan a mantener la salud del tracto urinario y previenen la formación de úlceras².

Entre los principales productos procesados a partir de cranberries se encuentran el jugo concentrado y las salsas enlatadas, desarrollándose en los

1. Disponible en <http://www.cranberryinstitute.org/news/Nutritional.pdf>. Acceso: 05/09/04

2. Disponible en: <http://www.cranberryinstitute.org/news/Heart.pdf>. Acceso: 05/09/04

últimos años en forma importante el consumo de cranberry deshidratado (BUZETA, 1997).

2.1.1 Jugo de cranberries. El jugo concentrado de cranberries se obtiene de un jugo despectinizado y filtrado elaborado a partir de cranberries maduros, que luego es concentrado a bajas temperaturas y vacío¹. La línea de flujo de elaboración de concentrado de cranberries se presenta en la FIGURA 1.

Dentro de las características sensoriales de este jugo se encuentran su alta acidez y astringencia, por lo cual se comercializa principalmente diluido y endulzado, listo para el consumo (HARKINS, 2000).

Dados los componentes de este jugo y las características propias del cranberry, es recomendado su consumo para la prevención de ciertas enfermedades, no habiéndose reportado efectos adversos al ser consumido en forma moderada (HARKINS, 2000).

2.1.2 Composición química del jugo de cranberries. En el CUADRO 2 se presenta la composición química de un jugo concentrado de cranberries (50 °Brix) elaborado por la empresa norteamericana *OceanSpray*.

2.2 Antocianinas

Las antocianinas son un grupo de pigmentos de color rojo, hidrosolubles, ampliamente distribuidos en el reino vegetal (FENNEMA, 1993).

Químicamente las antocianinas son glicósidos de las antocianidinas (WONG, 1995), es decir, están constituidas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace β -glucosídico. La estructura química básica de estas agliconas es el ión flavilio (BADUI, 1999), también llamado 2-fenil-benzopirilio (WONG, 1995) que consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio (A) y un anillo fenólico (B); el flavilio normalmente funciona como un catión (BADUI, 1999).

1. Disponible en: <http://www.oceansprayitg.com/products/specs/UPC%2094040,%2094041.pdf>. Acceso: 10/09/04.

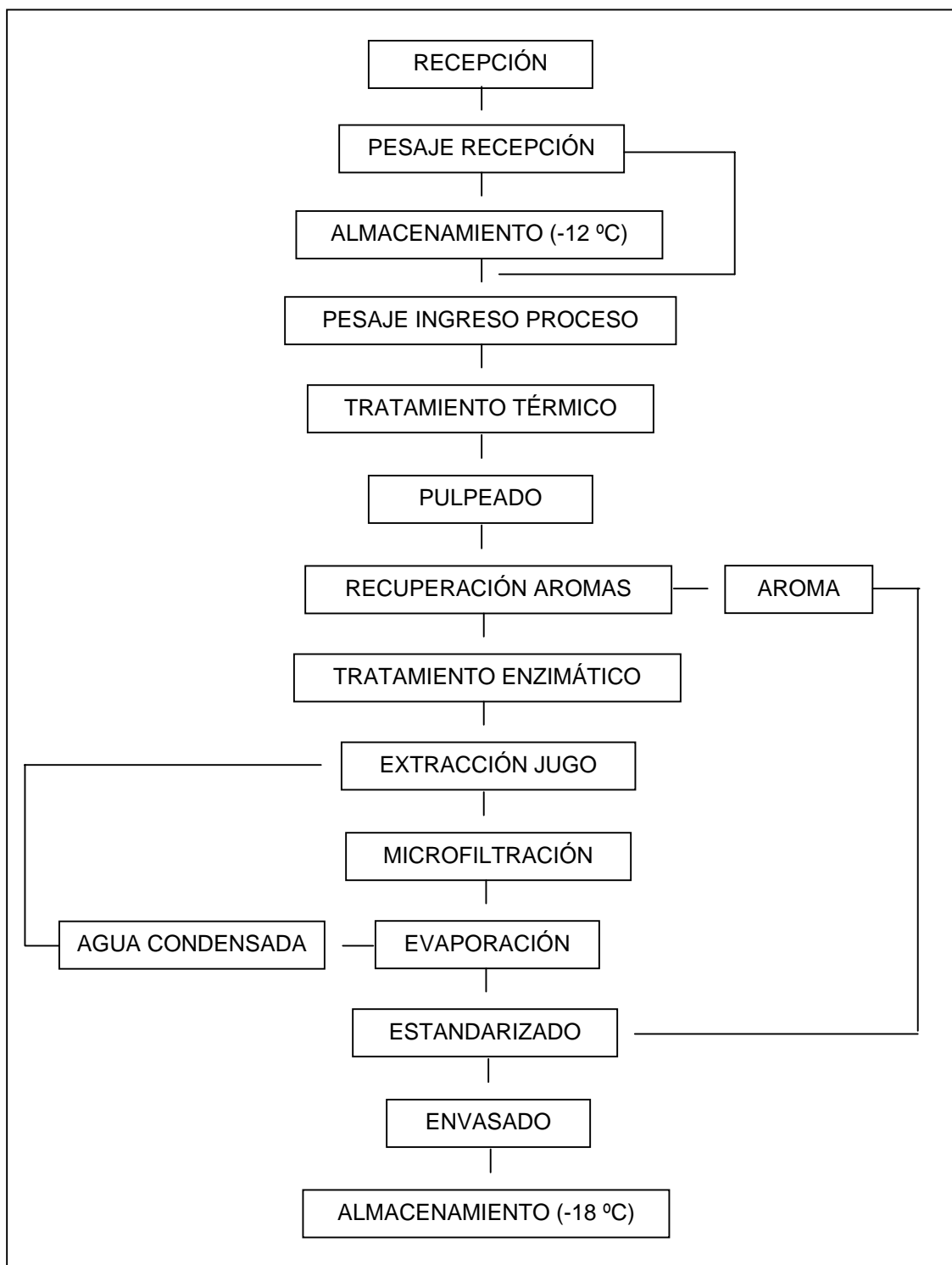


FIGURA 1. Línea de flujo jugo concentrado de cranberry.

FUENTE: *Agrícola Cran Chile.*

CUADRO 2. Análisis nutricional de jugo de cranberry concentrado (50 °Brix).

	Por cada 100 g de jugo concentrado
Energía (kcal)	198,0
Carbohidratos totales (g)	49,3
Azúcares (g)	22,02
Fibra dietética (g)	<0,5
Proteínas (g)	0,27
Grasa total (g)	<0,25
Humedad (g)	49,24
Cenizas (g)	1,21
Vitamina C (mg)	58,0
Niacina (mg)	0,57
Riboflavina (mg)	0,05
Tiamina (mg)	0,04
Calcio (mg)	39,0
Magnesio (mg)	24,0
Fósforo (mg)	28,0
Potasio (mg)	500,0

FUENTE: <http://www.oceansprayitg.com/products/nutritionals/UPC%2094040.%2094041.pdf>

La estructura básica de las antocianinas se presenta en la FIGURA 2.

Las agliconas libres raramente existen en los alimentos, excepto posiblemente como componentes traza de las reacciones de degradación (FENNEMA, 1993). De todas las antocianidinas que actualmente se conocen (aproximadamente 20), las más importantes son la pelargonidina, la delphinidina, la cianidina, la petunidina, la peonidina y la malvidina, nombres que derivan de la fuente

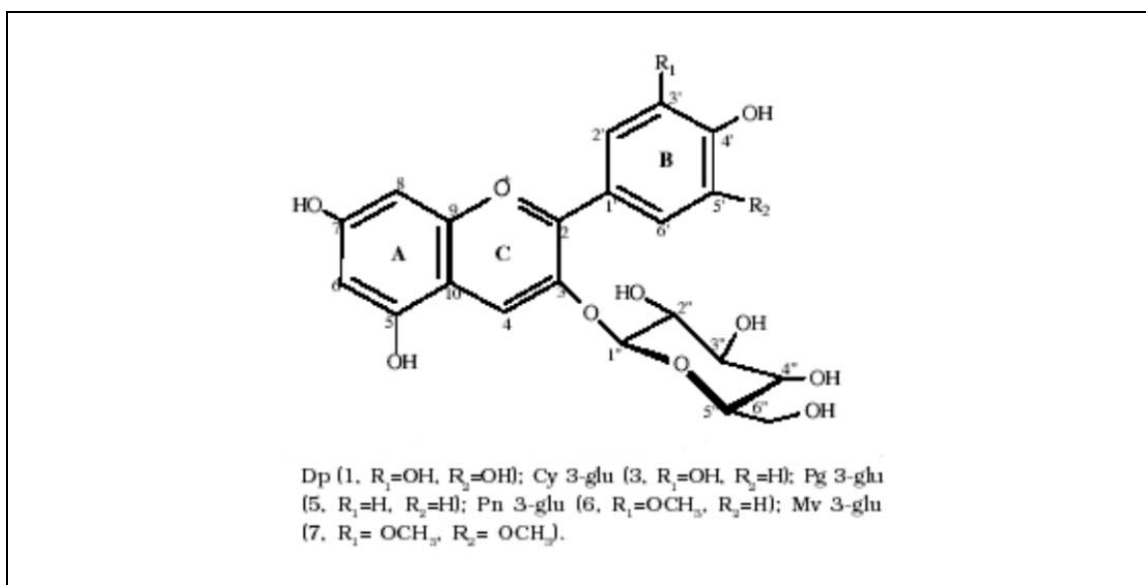


FIGURA 2. Estructura básica de las antocianinas.

FUENTE: KUSKOSKI *et al.* (2004).

vegetal de donde se aislaron por primera vez; la combinación de éstas con los diferentes azúcares genera aproximadamente 150 antocianinas (BADUI, 1999). Los hidratos de carbono que comúnmente se encuentran son la glucosa y la ramnosa, seguidos de la galactosa, la xilosa y la arabinosa y, ocasionalmente, la gentiobiosa, la rutinosa y la sofrorosa (BADUI, 1999).

El color de las antocianinas depende de varios factores intrínsecos, como son los sustituyentes químicos que contenga y la posición de los mismos en el grupo flavilio; por ejemplo, si se aumentan los hidroxilos del anillo fenólico se intensifica el color azul, mientras que la introducción de metoxilos provoca la formación de los rojos (BADUI, 1999).

2.2.1 Estabilidad de las antocianinas. Según FENNEMA (1993), el núcleo flavilio de los pigmentos de antocianina es deficiente en electrones y, por tanto, muy reactivo. Las reacciones ordinariamente comprenden la decoloración de los pigmentos y son casi siempre no deseables en el procesado de frutas y hortalizas.

Los tratamientos térmicos influyen significativamente en la destrucción de las antocianinas; es así como se ha visto que en las fresas se presenta una relación logarítmica entre la pérdida de color y la temperatura (BADUI, 1999).

Las antocianinas cambian de color cuando forman complejos, quelatos o sales con iones de sodio, potasio, calcio, magnesio, estaño, hierro o aluminio; por esta razón, se recomienda que las latas que se empleen para los alimentos que contengan antocianinas, sean recubiertas por una laca protectora que evite el desprendimiento de los metales indeseables (BADUI, 1999).

Dada su alta hidrosolubilidad, estos pigmentos se pueden perder fácilmente por lixiviación en el agua que se utiliza en los diferentes tratamientos; a medida que aumenta la temperatura se acelera la decoloración de la fruta, ya que se favorece tanto la extracción que incluso se puede llegar a obtener productos prácticamente incoloros (BADUI, 1999).

Las antocianinas también cambian de color cuando forman complejos con otros compuestos fenólicos (proantocianidinas, catequinas, taninos y flavonoides) o con algunos polisacáridos, ya que se favorece un desplazamiento de la absorción a longitudes de onda mayores (BADUI, 1999).

2.2.2 Efecto del pH sobre el color de las antocianinas. Las antocianinas son muy sensibles a los cambios de pH (WONG, 1995).

Debido a una deficiencia del núcleo del flavilio, estos pigmentos funcionan como verdaderos indicadores de pH; es decir, su color depende de las condiciones de acidez o alcalinidad del sistema en que se encuentran: a pH ácido adquiere una estructura estable del catión flavilio rojo, representado por la fórmula (AH^+), FIGURA 3; cuando se incrementa el pH, la distribución electrónica se modifica hasta llegar a la forma quinoidea azul (A) o base anhidra; tanto la sal del flavilio como la base anhidra pueden convertirse a la base de carbinol (B) incolora, que predomina en el intervalo de pH de 4 a 5 (BADUI, 1999), que después se

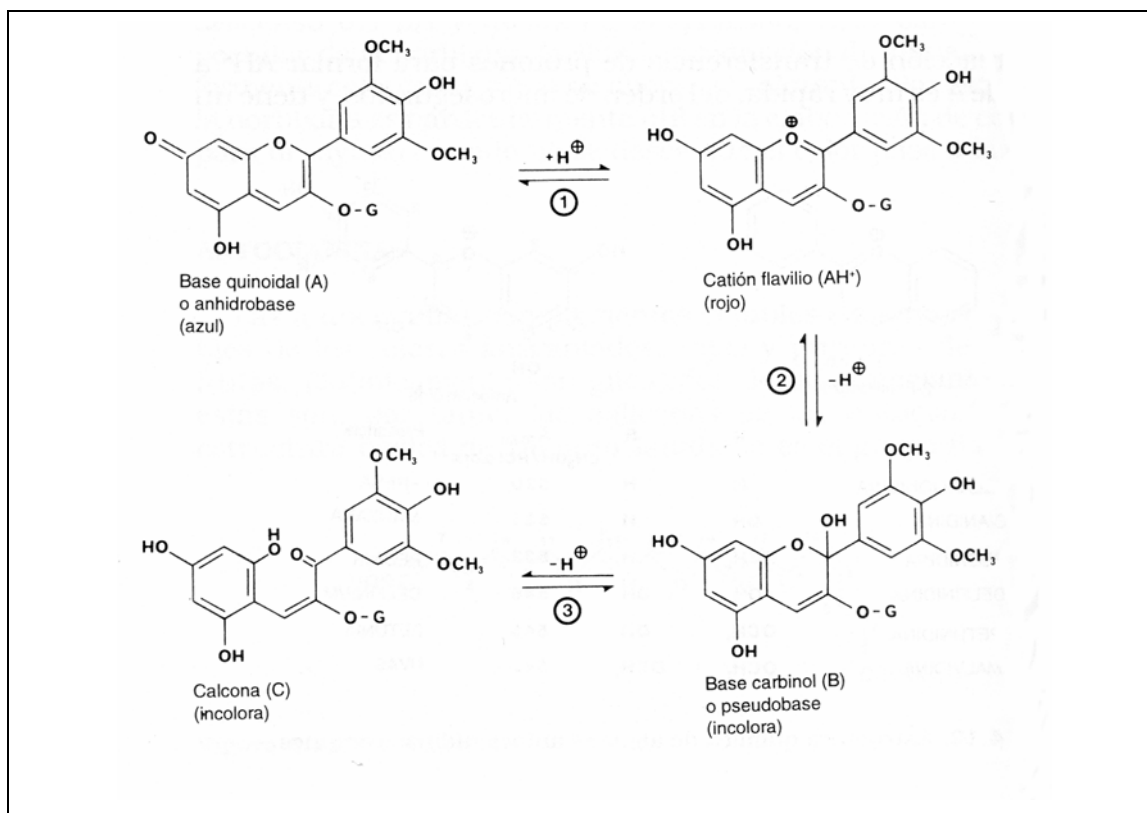


FIGURA 3. Reacciones de la transformación estructural de malvidina-3-glicósido en el intervalo de pH de 1 a 7.

FUENTE: WONG (1995).

tautomeriza a una calcona (C) (WONG, 1995).

El porcentaje presente en forma de base quinoidal (A) es muy pequeño en la mezcla en equilibrio a cualquier pH. En soluciones muy ácidas (pH = 0,5) la especie AH⁺, de color rojo, es la única que se encuentra en solución (WONG, 1995).

La pérdida de color a medida que el pH aumenta, puede ser monitoreada midiendo el espectro de absorción del pigmento con un espectrofotómetro. En la FIGURA 4 se observa una disminución en el peak a 510 nm a medida que el pH aumenta, lo que indica que hay una pérdida del color rojo, existiendo un equilibrio entre las dos formas de la antocianina (catión flavilio y base carbinol)¹.

1. Disponible en: http://www.agsci.ubc.ca/courses/fnh/410/colour/3_22.htm. Acceso: 30/04/04

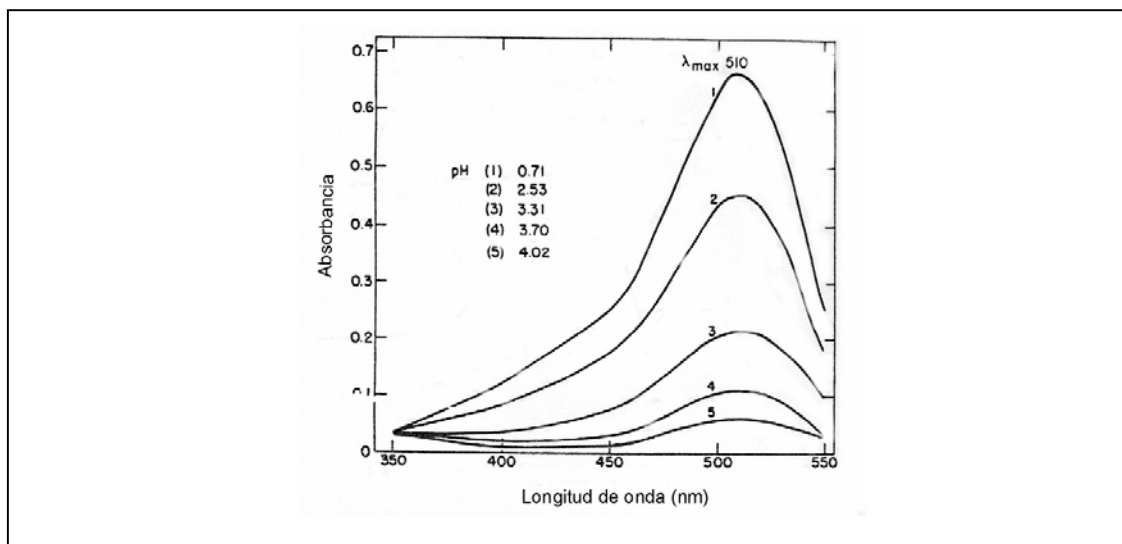


FIGURA 4. Espectro de absorción de cianidina-3-ramnoglucósido a distintos valores de pH.

FUENTE: FRANCIS (1989).

2.2.3 Antocianinas como colorantes alimenticios. Las antocianinas se encuentran dentro de los colorantes naturales más conocidos, por ser responsables de los colores rojos y azules de gran cantidad de frutas y vegetales, proporcionando un gran atractivo en jugos de frutas, mermeladas y conservas (FRANCIS, 1975), por lo que constituyen una buena alternativa como colorantes alimenticios (FRANCIS, 1989). Sin embargo, son poco utilizadas como colorantes en alimentos debido a que son poco estables y difíciles de purificar. Debido a su sensibilidad a los cambios de pH, el uso práctico de estos pigmentos como colorantes naturales se limita a alimentos ácidos con pH inferior a 3,5 (FRANCIS, 1975).

SCHEFFELDT y HRAZDINA (1978) realizaron un estudio para ver el efecto de la co-pigmentación de antocianinas, es decir, la formación de complejos de antocianinas con otros compuestos como por ejemplo los flavonoides, presentes en forma natural en productos alimenticios. Una de las consecuencias de la co-pigmentación es la intensificación del color, lo que mejora las perspectivas de la utilización de antocianinas como colorantes

naturales en alimentos.

Dentro de las posibles fuentes de antocianinas para su utilización como colorantes, se encuentran las uvas, arándanos, cranberries y algunas plantas como perilla (FRANCIS, 1989).

Las principales antocianinas presentes en cranberries son glucósidos de la cianidina y peonidina (FRANCIS, 1975). Investigadores han estudiado la toxicidad de las antocianinas y compuestos relacionados concluyendo que estos compuestos son inocuos para la salud en las cantidades consumidas normalmente (CHIRIBOGA y FRANCIS, 1973).

En relación a la extracción de estos pigmentos, RODRÍGUEZ y WOLSTRAD (2001) señalan que el carácter polar de la molécula de antocianina permite su solubilidad en variados solventes, tales como alcoholes, acetona y agua. La elección del método de extracción debe maximizar la recuperación de pigmentos con una mínima cantidad de adjuntos y una degradación o alteración mínima del estado natural. Dentro de los métodos más utilizados están la extracción con metanol y la extracción con acetona y cloroformo.

Se han realizado diversos estudios en los cuales se aplican las denominadas *tecnologías de membrana* tanto para la purificación, como para la concentración de antocianinas. CHUNG *et al.* (1986) estudiaron la extracción de antocianinas a partir de hojas de perilla (*Perilla ocymoides*) con una solución al 10% de ácido cítrico seguida por la aplicación de ultrafiltración, logrando una recuperación de antocianinas de 60%. WOO *et al.* (1980) estudiaron la extracción de antocianinas a partir de los desechos del proceso de elaboración de jugo de cranberries, realizando una extracción con alcohol y ácido, una purificación parcial por medio de ultrafiltración, y una concentración posterior con aplicación de osmosis inversa; concluyendo que es posible la obtención de un colorante a partir de los desechos de la industria de jugos de cranberries mediante la aplicación de tecnologías de membrana.

2.3 Tecnologías de filtración por membrana

Una membrana es una película delgada que separa dos fases y actúa como una barrera selectiva al transporte de materia (CUARTAS, 1999).

Las membranas de permeabilidad selectiva, que sólo dejan pasar a su través ciertas moléculas, presentan un gran interés en la industria agroalimentaria (CASP y ABRIL, 1999). Estas membranas pueden ser utilizadas en procesos de concentración o fraccionamiento para producir dos corrientes líquidas de diferente composición (JELEN, 1991).

El proceso de filtración por membrana consiste en bombear una solución (alimentación) bajo presión sobre la superficie de una membrana de naturaleza química y configuración física apropiadas. De la filtración por membrana se obtienen dos corrientes; la corriente retenida, denominada “retenido” o “concentrado” y la corriente que pasa a través de la membrana, denominada “permeado” (CHERYAN, 1998).

Los rangos de separación se basan en las propiedades de las membranas utilizadas, determinando qué partículas serán retenidas y cuáles pasarán a través de la membrana (JELEN, 1991).

Los procesos de membrana presentan muchas ventajas sobre otras técnicas de concentración. La ventaja principal es que la calidad del producto generalmente se mantiene, puesto que se trabaja a bajas temperaturas y no hay interfase vapor-líquido que cause pérdida de aromas. Además, las separaciones por membrana generalmente presentan exigencias energéticas reducidas, bajos costos de trabajo, pocas exigencias de espacio y una amplia flexibilidad de operación. Sin embargo, las membranas tienden a ensuciarse a medida que el producto se concentra y se incrementa la viscosidad, lo cual limita las concentraciones que se pueden alcanzar. Generalmente, con los procesos de membrana sólo pueden conseguirse concentraciones entre 40-45%, comparado con el 80% que puede obtenerse con la evaporación (CASP y ABRIL, 1999).

2.3.1 Proceso de separación por membranas. La filtración en flujo cruzado es un proceso que se conduce bajo presión, una mezcla de líquido y sólidos se pone en contacto con una membrana y se fuerza al líquido a pasar a través de la misma. Los sólidos retenidos, son barridos a lo largo de la superficie de la membrana por el flujo de la mezcla sólido-líquido. Una pequeña cantidad de sólidos pasan también a través de la membrana. El flujo de líquido a través de la membrana es conducido por el gradiente de presión hidráulica. Estas diferencias de presión y de concentración hacen que el agua y moléculas pequeñas pasen a través de la membrana (filtrado o permeado), mientras que las moléculas grandes permanecen en el lado de la alimentación (retenido) (CASP y ABRIL, 1999).

El comportamiento de un sistema de filtración por membrana se mide en términos de su capacidad para producir grandes volúmenes de filtrado en un corto período de tiempo y el grado de pureza del filtrado con respecto a la concentración de soluto. El *flujo de permeado* y la *retención de soluto* son los dos parámetros utilizados universalmente para este fin (CASP y ABRIL, 1999).

Según CASP y ABRIL (1999), el flujo de permeado (J) se define como el volumen de permeado que fluye a través de una unidad de superficie de membrana en un período de tiempo unitario¹.

$$J = \frac{V_P}{A_M \cdot t} \quad (2.1)$$

donde V_P es el volumen de permeado en L, A_M la superficie de membrana en m^2 y t el tiempo en h.

El parámetro de retención del soluto (R), ha sido definido por CASP y ABRIL (1999) como la relación entre la cantidad de soluto que pasa a través de la membrana dividido por la concentración en la alimentación inicial. La retención de soluto se define como:

¹ El flujo de permeado también se conoce como "Flux"

$$R = \frac{C_A - C_P}{C_A} \quad (2.2)$$

Donde C_A y C_P son las concentraciones de soluto en la alimentación y permeado, respectivamente.

El incremento del flujo de permeado a través de la membrana se consigue con la aplicación de presiones mayores a través de la membrana, menor presión osmótica en la alimentación y una membrana más permeable (CASP y ABRIL, 1999).

Las técnicas más utilizadas para filtración por membrana son descritas a continuación, de acuerdo a lo señalado por CASP y ABRIL (1999).

- Osmosis inversa (OI): se usa para concentrar soluciones por eliminación de agua. Utiliza las membranas más finas, que son capaces de separar las moléculas más pequeñas de soluto. Se requieren altas presiones, entre 4 a 8 MPa para vencer la elevada presión osmótica de las soluciones de pequeñas moléculas.
- Nanofiltración (NF): se utiliza para la concentración de componentes orgánicos por eliminación de parte de iones monovalentes como el sodio y cloruros (desmineralización parcial). Las membranas de nanofiltración retienen moléculas de soluto de peso molecular entre 100 y 1000 dalton, se clasifican por el peso molecular de corte, que se define como el peso molecular de la molécula más pequeña de la cual el 90% es retenido por la membrana, o por el porcentaje de cloruro sódico rechazado. El rango de presiones a las que opera la nanofiltración es de 700-3500 kPa.
- Ultrafiltración (UF): se aplica para concentración de macromoléculas, tales como proteínas y almidones. La ultrafiltración se extiende desde pesos moleculares de corte de 1000 a 500000 dalton. Requiere presiones de

operación entre 35 y 1000 kPa.

- Microfiltración (MF): se utiliza para eliminación de bacterias y separación de macromoléculas; sus aplicaciones se refieren a la separación de pequeñas partículas suspendidas en líquidos. El diámetro de poro de corte típicamente oscila entre 0,1 y 10 μm . La microfiltración requiere las presiones de operación más bajas de todas las técnicas citadas, normalmente entre 70 y 350 kPa.

En la FIGURA 5 se muestra el rango de aplicación de la filtración en la industria alimentaria.

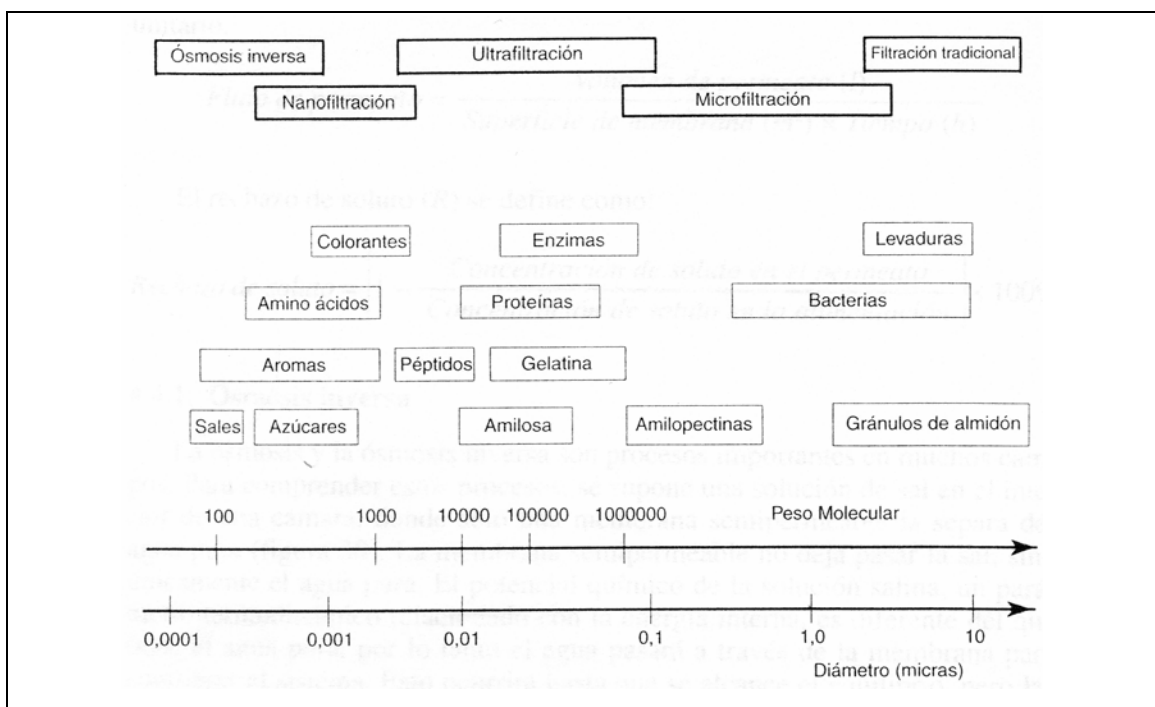


FIGURA 5. Espectro de aplicación de los procesos de separación por membranas.

FUENTE: CASP y ABRIL (1999).

2.3.2 Principales aplicaciones de las tecnologías de membrana.

Operaciones tales como la Ultrafiltración (UF) y la Osmosis Inversa (OI) han

atraído a la Industria de Alimentos como técnicas para concentrar alimentos líquidos. Estos procesos son especialmente beneficiosos para productos afectados adversamente por temperaturas elevadas. Además, los procesos de UF y OI permiten ahorrar energía. Se ha estimado que el costo de electricidad para remover agua por OI es de aproximadamente una décima parte que el utilizado por técnicas de evaporación tradicionales. Las aplicaciones de UF y OI para concentrar alimentos líquidos fueron iniciados y generalizados en la Industria Láctea en los años '60. En 1968 comenzaron los estudios para la concentración de los sólidos de suero de queso cottage por OI como un método alternativo de disposición del suero, mientras que en 1974 se reportaron aplicaciones a escala industrial de UF y OI para concentrar sólidos de suero y leche descremada en varios países europeos. Otros estudios de la utilización de las técnicas de concentración UF y OI en diversos alimentos líquidos tales como jarabe de arce, huevo, jugos de vegetales y frutas y pigmentos de plantas tales como antocianinas, han sido reportados. Todos los investigadores concluyeron que sus técnicas modificadas podrían ser aplicadas a la Industria de Alimentos (LEE *et al.*, 1982). Dentro de las principales limitaciones de los procesos de separación por membrana se encuentran el hecho de que la alimentación no debe tener un porcentaje de sólidos totales superior al 30% y al ensuciamiento de las membranas o "fouling" que provoca una disminución irreversible del flujo de permeado¹.

2.3.3 Clasificación de las membranas. Las membranas se clasifican de acuerdo a (CUARTAS, 1999):

- Mecanismo de separación: se clasifican en membranas porosas, utilizadas en las operaciones de Microfiltración (MF), Ultrafiltración (UF), Nanofiltración (NF); y membranas no porosas (estructura densa), utilizadas Osmosis Inversa (OI).
- Geometría: Pueden ser planas o cilíndricas.
- Naturaleza química: Pueden ser orgánicas (polímeros), como las de celulosa y

1. Disponible en: <http://www.carc-crac.ca/common/CARC%20Survey-October%202022-2003.pdf>
Acceso: 20/11/04

sus derivados (Ej. acetato de celulosa, poliamida) o inorgánicas (metales, cerámicas, vidrio, etc.). Estas últimas poseen mayor estabilidad química, mecánica y térmica en comparación con las orgánicas.

Las membranas pueden ser empacadas de muchas formas para proporcionar diferentes opciones para la separación. De acuerdo a lo señalado por CASP y ABRIL (1999), las configuraciones que habitualmente se utilizan son:

- **Diseño de placas y bastidor:** Las membranas se encuentran empaquetadas entre placas soporte, que se disponen en paquetes.
- **Diseño tubular a base de polímeros:** La membrana cilíndrica y el sistema de soporte se colocan en el interior de un tubo más largo.
- **Diseño enrollado en espiral:** Un elemento enrollado en espiral contiene una o más membranas, cada una de las cuales tiene dos capas de membrana separadas por un material poroso que conduce al permeado.
- **Diseño de fibra hueca:** Los módulos de fibra hueca son cartuchos que contienen haces de 45 a más de 3000 elementos de fibra hueca. Las fibras se orientan en paralelo. Todas tienen sus extremos empotrados en una resina y están encerradas en el tubo colector de permeado.

2.3.4 Polarización de concentración. Una de las consecuencias de la permeabilidad selectiva de las membranas, es que las moléculas que no pasan a través de ellas comienzan a acumularse en el lado de la alimentación. El soluto que es rechazado se acumula en una capa límite delgada en la superficie de la membrana (CASP y ABRIL, 1999).

Las consecuencias de esta polarización de concentración son, entre otras, el incremento de la diferencia de presión osmótica efectiva a través de la membrana lo que influye negativamente sobre el flujo de solvente a través de la membrana; por otro lado, aumenta el flujo de soluto, lo que lleva con frecuencia

a la formación de incrustaciones en la superficie de la membrana. El principal efecto de la concentración de polarización es la reducción del flujo de permeado efectivo a través de la membrana, disminuyendo la eficiencia de la operación (CASP y ABRIL, 1999).

Las técnicas para reducir esta polarización son, con frecuencia, críticas para el éxito de la operación de separación por membrana. Como primera medida, el líquido de alimentación debe estar lo más limpio posible de sólidos insolubles (CASP y ABRIL, 1999).

El ensuciamiento de la membrana o "fouling" se refiere a un fenómeno que sufre la membrana, irreversible durante el proceso, y que se caracteriza por una declinación en los flujos de permeado (KUNSTMANN, 1994). Este fenómeno se debe al depósito y acumulación de solutos de la alimentación sobre la superficie de la membrana y/o dentro de los poros de la membrana. Esto trae como consecuencia una disminución en el flujo de permeado promedio y alteraciones en el rechazo de soluto, entre otros efectos negativos (CHERYAN, 1998).

2.3.5 Nanofiltración. La nanofiltración, también conocida como ultraosmosis (JELEN, 1991), es un proceso de filtración por membranas operadas bajo presión en la que solutos de bajo peso molecular (1000 daltons) son retenidos, pero las sales pasan, total o parcialmente, a través de la membrana con el filtrado¹. El término nanofiltración está referido al tamaño de las moléculas que retienen las membranas utilizadas en este proceso ($1 \cdot 10^{-9}$ m) (JELEN, 1991).

La nanofiltración es un proceso relativamente nuevo que utiliza membranas con un tamaño de poros mayor que las membranas de OI, pero demasiado pequeño para permitir el permeado de muchos compuestos orgánicos tales como azúcares (CHERYAN, 1998). Esto provee un rango de selectividad entre las membranas de Ultrafiltración y Osmosis Inversa, permitiendo simultáneamente concentración y desalado de solutos orgánicos. En otras palabras la membrana de NF retiene solutos que la UF dejaría pasar, y deja pasar sales que la OI

1. D'SOUZA, N. y WILEY, D. Whey ultrafiltration: Effect of operating parameters on flux and rejection. Disponible en: <http://www.membrane.unsw.edu.au/imstec03/content/papers/PDMS/imstec036.pdf>. Acceso: 02/06/2005

retendría. En algunas aplicaciones, su selectividad entre moléculas de tamaños similares es la clave del éxito del proceso de separación con membrana¹.

En la FIGURA 6 se observa la selectividad que presentan las membranas de nanofiltración en comparación con las de MF, UF y OI.

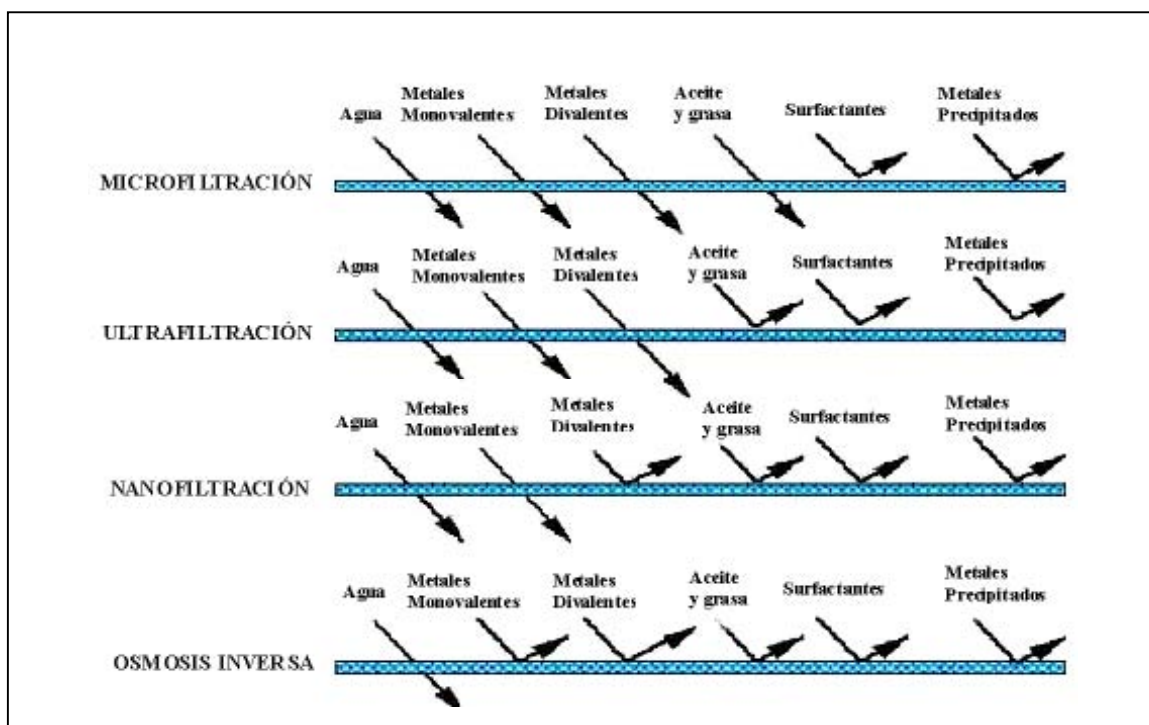


FIGURA 6. Selectividad de las membranas de nanofiltración versus otras tecnologías de filtración por membrana.

FUENTE: CHERYAN (1998).

El mecanismo de transporte de masa del proceso de NF aún está en discusión. En experimentos modelo con soluciones simples, el paso del NaCl a través de la membrana parece estar gobernado por la difusión a través del material de la membrana (como se postula el permeado ideal en el proceso de OI) y por el flujo convectivo a través del poro (como se acepta para los procesos de UF) (JELEN, 1991).

Con respecto a las presiones de operación, se han reportado presiones tan

1. D'SOUZA, N. y WILEY, D. Whey ultrafiltration: Effect of operating parameters on flux and rejection. Disponible en: <http://www.membrane.unsw.edu.au/imstec03/content/papers/PDMS/imstec036.pdf>. Acceso: 02/06/2005

bajas como 2,5 bar, dentro del rango de la UF tradicional. Sin embargo, en la mayoría de los casos, se recomiendan presiones de operación intermedias entre UF y OI (15 – 30 bar) (JELEN, 1991).

Dentro de las principales aplicaciones de la nanofiltración se encuentran la desmineralización parcial del suero de quesería, desalinización de agua (JELEN, 1991), pudiendo también utilizarse para reciclado de agua de lavados en alimentos, desmineralización de jugo, decolorado de jugo, y recuperación de azúcares (CHERYAN, 1998).

2.3.6 Cálculos para procesos de nanofiltración. El modelo a utilizar es el descrito por CHERYAN (1998) para un sistema *batch* y sólo presupone que la probabilidad de que una partícula atraviese la membrana es constante durante todo el proceso.

Se define como “factor de concentración” (F_c) a:

$$F_c = \frac{V_0}{V_r} \quad (2.4)$$

Donde: V_0 = Volumen inicial de alimentación; V_r = Volumen del concentrado

Asumiendo que el tamaño del error de medición potencial es proporcional al tamaño de la observación y la probabilidad es constante a lo largo de todo el proceso, se llega a la siguiente expresión:

$$C_R = C_0 (F_c)^R \quad (2.5)$$

donde C_0 es la concentración inicial de un soluto en el volumen inicial V_0 y C_R es la concentración del mismo soluto a cualquier otro volumen V_R .

Esta ecuación muestra que la concentración de un soluto en cualquier instante del proceso está en función de la reducción de volumen del coeficiente de retención R (ecuación (2.2)). En otras palabras, si la probabilidad de que un

soluto pase a través de la membrana es 1, esto implica que el soluto no será retenido por la membrana y su concentración a ambos lados de la membrana será la misma y el coeficiente de retención será cero (ecuación (2.2)). Por otro lado, si la probabilidad es cero, el soluto no pasará a través de la membrana y el coeficiente de retención será igual a 1. Por otro lado la variación del flujo de permeado en función del tiempo se define:

$$J = J_1 \cdot t^{-b} \quad (2.6)$$

donde t = tiempo (min); J = Flujo de permeado a tiempo t ; J_1 = Flujo de permeado a $t = 1$ min; b = índice de ensuciamiento

Otro parámetro importante es la recuperación (Y) de un componente, que es la fracción del componente en la alimentación original que es recuperado en el concentrado final:

$$Y = \frac{C_R V_R}{C_0 V_0} \quad (2.7)$$

donde: C_R concentración de antocianinas en el concentrado, V_R volumen de concentrado, C_0 concentración en la alimentación y V_0 volumen de alimentación

2.3.7 Factores que afectan al flujo de permeado. Los factores que influyen sobre la velocidad a la cual pasa un material a través de la membrana, según CASP y ABRIL (1999), son los siguientes: presión transmembrana, tipo de material de alimentación, temperatura, concentración de la alimentación y velocidad de flujo de alimentación.

El flujo de permeado aumenta con la presión transmembrana, pero la relación entre ellos sólo es lineal cuando la alimentación es agua pura. Si la alimentación es otro fluido, el flujo pasa a ser independiente de la presión cuando ésta aumenta sobre el nivel en que la capa de polarización de concentración alcanza una concentración límite (DOBÓN y BAGGER-JORGENSEN, 2000).

Temperaturas altas generan un flujo de permeado mayor debido a la disminución de la viscosidad del fluido de alimentación. Sin embargo, es esencial no sobrepasar ciertos límites para evitar pérdida de nutrientes y desarrollo de microorganismos (DOBÓN y BAGGER-JORGENSEN, 2000).

A medida que la concentración de solutos en la alimentación aumenta, la viscosidad y densidad de la solución aumentan y la difusividad de un soluto dado disminuye. Estos cambios tienden a disminuir el flujo y favorecen el ensuciamiento de la membrana¹.

Una velocidad de flujo de alimentación alta tiende a remover el material depositado sobre la superficie de la membrana y, consecuentemente, reduce la resistencia hidráulica a través de la membrana y, de esta manera, el flujo de permeado será mayor (DOBÓN y BAGGER-JORGENSEN, 2000).

D'SOUZA y WILEY¹ estudiaron el efecto de los parámetros de operación temperatura, presión transmembrana, velocidad de flujo de alimentación, concentración de la alimentación y pH sobre el flujo de permeado y los coeficientes de retención en la ultrafiltración de suero, mediante un diseño experimental factorial. Los ensayos mostraron que los 5 parámetros tuvieron un efecto significativo sobre el flujo de permeado y la retención de sólidos totales. Los experimentos mostraron un aumento en el flujo al aumentar la presión transmembrana, la temperatura, el pH y la velocidad de flujo de alimentación. Al aumentar la concentración de alimentación se produjo una disminución del flujo de permeado.

De Brujin *et al.*, citado por WARCZOK *et al.* (2004), concluyeron que las condiciones óptimas para minimizar el ensuciamiento de la membrana durante la ultrafiltración de jugo de manzana incluyen una velocidad de flujo de alimentación alta y una baja presión transmembrana; asimismo una velocidad de flujo baja y una presión transmembrana alta aumentan el flujo de permeado.

1. D'SOUZA, N. y WILEY, D. Whey ultrafiltration: Effect of operating parameters on flux and rejection. Disponible en: <http://www.membrane.unsw.edu.au/imstec03/content/papers/PDMS/imstec036.pdf>
Acceso: 02/06/2005

2.4 Concentración de pigmentos por tecnologías de membrana en jugos de frutas

GIL-MARTINEZ (1998) estudió la aplicación de procesos de UF, NF y OI a jugo de granada a diferentes presiones de operación y velocidades de flujo para obtener un concentrado de alta calidad que contenga colorantes que puedan ser separados de la mayoría de los sólidos solubles y puedan ser usados como colorante natural. Se utilizó una unidad de filtración a escala de laboratorio con un área de membrana efectiva de $0,0155 \text{ m}^2$ y una presión máxima de 6900 kPa. El jugo fue filtrado a $20 \text{ }^\circ\text{C}$ y su pH previamente ajustado a 3,1 con una solución de ácido cítrico al 1% para aumentar la formación de complejos copigmentados que sean más fácilmente retenidos por la membrana de UF. La membrana de osmosis inversa MX07 retuvo cerca del 100% de las antocianinas y el 85% de los sólidos suspendidos a 2758 kPa, pero con un flujo de $0,18 \text{ L/min}\cdot\text{m}^2$. Se encontró que la tecnología de UF, seguida por la de osmosis inversa, es un buen método para obtener un concentrado de antocianinas con un 75% de retención respecto al contenido inicial.

WARCZOK *et al.* (2004) estudiaron la concentración de jugos de pera y manzana por nanofiltración en un sistema batch a bajas presiones, utilizando diferentes membranas con el objetivo de determinar cuál de ellas permite alcanzar el mayor grado de concentración de los jugos; trabajaron con presiones entre 8 y 12 bar y temperaturas entre $25 - 35 \text{ }^\circ\text{C}$.

Por otro lado, FERRARINI *et al.* (2001), compararon membranas de NF y OI utilizando jugo de uvas como alimentación, evaluando el efecto de la temperatura de trabajo y la presión sobre una membrana de NF. La permeabilidad de la membrana de NF utilizada se duplicó al aumentar la presión de 32 a 45 bar. Se encontró una relación lineal entre el flujo de permeado y la presión transmembrana. Por otro lado, el flujo de permeado aumentó en aproximadamente un 3% por cada grado de aumento en la

temperatura.

REKTOR *et al.* (2004) aplicaron MF y OI a mosto de uva para preservar y concentrar el mosto. Uno de los parámetros considerados fue el grado de retención de antocianinas, trabajando con OI a 50 bar de presión, 35 °C y 300 L/h. Se encontró un contenido de antocianinas muy bajo en el permeado, lo que prueba una excelente retención de la membrana de OI utilizada, que fue de 99,5%.

Con respecto a la aplicación industrial de estos procesos, la empresa *MMS Ibérica*, especializada en el diseño e implementación de sistemas de membrana, ha desarrollado un sistema para la recuperación de colorantes basado en la filtración por membranas que permite el enriquecimiento selectivo de las moléculas de color (antocianinas, taninos). El sistema genera dos corrientes: el concentrado se utiliza como colorante natural de alto valor y el jugo de fruta decolorado se puede utilizar como base para la producción de jugos energéticos multi-fruta, debido a que moléculas más pequeñas como azúcares, ácidos de la fruta, vitaminas, minerales y sales se obtienen como corriente filtrada¹.

1. Disponible en: <http://www.mmsiberica.com/alimentaria.htm>. Acceso: 05/09/04

3. MATERIAL Y MÉTODO

3.1 Ubicación del ensayo

Las experiencias prácticas fueron realizadas en dependencias del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICYTAL), Universidad Austral de Chile.

3.2 Material

3.2.1 Materia prima. Se utilizó jugo concentrado de cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.), elaborado y proporcionado por la empresa *Agrícola Cran Chile*, X Región. Las características de la materia prima se presentan en el CUADRO 3.

CUADRO 3. Características del jugo concentrado de cranberry utilizado como materia prima.

Característica	Valor
% Sólidos solubles (°Brix)	49,8
Intensidad de color (A520 · FD)	11,06
Acidez (% ácido cítrico)	11,18
pH	2,53

FUENTE: *Agrícola Cran Chile*

NOTA:

FD: Factor de dilución de la muestra

A520: Absorbancia a 520 nm

Este jugo fue diluido para poder utilizarlo como alimentación, siendo preparado en cada ensayo de acuerdo a las condiciones definidas posteriormente.

3.2.2 Equipos. Para los ensayos se utilizaron los siguientes equipos:

- Equipo de membranas planas *DDS Lab* (module 20-0, 36 Lab), montado con 20 membranas planas HC-50P *DDS Filtration* para nanofiltración
- Potenciómetro, *Radiometer Copenhagen*
- Refractómetro *Abbé*
- Espectrofotómetro, *Spectronic*
- Balanza analítica, precisión 0,0001g
- Utensilios de laboratorio, tales como: picnómetro, material volumétrico, cubetas, termómetro, cronómetro, cucharón y frascos para toma de muestras.
- Reactivos como: NaOH 0,1N; HCl 1N y KCl 0,2N

3.3 Metodología

En todo proceso de separación por membrana se busca optimizar tanto el flujo de permeado como el grado de separación de las especies moleculares. Para ello se estudió el efecto de dos factores sobre el flujo de permeado y, por otro lado, la capacidad de separación de la membrana, con respecto a las antocianinas presentes en el jugo de alimentación.

3.3.1 Diseño experimental. Para evaluar la influencia de las variables independientes sobre el flujo de permeado (variable respuesta), se aplicó un diseño experimental factorial 3^2 con 3 repeticiones, considerando 2 factores, la presión aplicada y el flujo volumétrico de alimentación, cada uno a 3 niveles. Los factores y sus niveles se presentan a continuación.

Factor *Presión aplicada*: a tres niveles; 20 bar (2026 kPa), 30 bar (3039 kPa) y 40 bar (4052 kPa)

Factor *Flujo volumétrico de alimentación*: a tres niveles; 1 L/min (0,02 L/s), 6 L/min (0,1 L/s) y 12 L/min (0,2 L/s)

La matriz de ensayos se obtuvo mediante el software estadístico *Statgraphics Plus 5.1* y se presenta en el CUADRO 4.

CUADRO 4. Matriz de ensayos para un diseño experimental 3^2 con 3 repeticiones.

ENSAYO	Presión transmembrana (bar)	Flujo volumétrico alimentación (L/min)	Repeticiones
1	20	1	3
2	20	6	3
3	20	12	3
4	30	1	3
5	30	6	3
6	30	12	3
7	40	1	3
8	40	6	3
9	40	12	3

3.3.2 Preparación del jugo a filtrar. Para poder realizar el proceso de nanofiltración el jugo concentrado fue diluido con agua deionizada hasta alcanzar una concentración de sólidos solubles de aproximadamente 12,5 °Brix y un volumen de 10 litros (volumen alimentación). Posteriormente se llevó a la temperatura de trabajo (20 °C).

3.3.3 Análisis del jugo a filtrar (alimentación). El jugo de alimentación fue sometido a diversos análisis a modo de caracterizarlo y determinar su contenido de antocianinas. Estos análisis son descritos a continuación.

- **pH.** El pH se debe medir directamente en la muestra; para ello se utilizó un potenciómetro previamente calibrado a 25 °C.
- **Sólidos solubles.** Para determinar el contenido de sólidos solubles se utilizó un refractómetro tipo Abbé, obteniendo el porcentaje de sólidos solubles, expresado en °Brix.
- **Acidez titulable.** Para medir la acidez titulable de las muestras se utilizó el Método del Electrodo de Vidrio, Método Oficial 942.15 de la *Association of Official Analytical Chemists* AOAC, “Acidez (Titulable) de Productos de Fruta” (Association of Official Analytical Chemists, 2000).
- **Densidad.** Para este análisis se utilizó un picnómetro (de volumen conocido); la masa se determinó con una balanza analítica.
- **Contenido total de antocianinas.** Para determinar el contenido total de antocianinas se utilizó un método basado en el diferencial de pH, descrito por WOLSTRAD (1976). Ver ANEXO 1.

Principio del método: A pH 1,0 las antocianinas existen en la forma altamente coloreada y a pH 4,5 están predominantemente en forma incolora. Una alícuota de una solución acuosa de antocianinas es ajustada a pH 1,0 y otra a pH 4,5. La diferencia en la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción será proporcional al contenido de antocianinas.

3.3.4 Nanofiltración a nivel de laboratorio. La alimentación se mantuvo durante todo el proceso a una temperatura de trabajo constante (20 °C), por medio de un baño de agua.

Se trabajó con un equipo de membranas planas *DDS Lab* (module 20-0, 36 Lab), montado con 20 membranas planas HC-50P *DDS Filtration* para nanofiltración, con recirculación del concentrado (FIGURA 7). La superficie efectiva de membranas fue de 0,36 m².

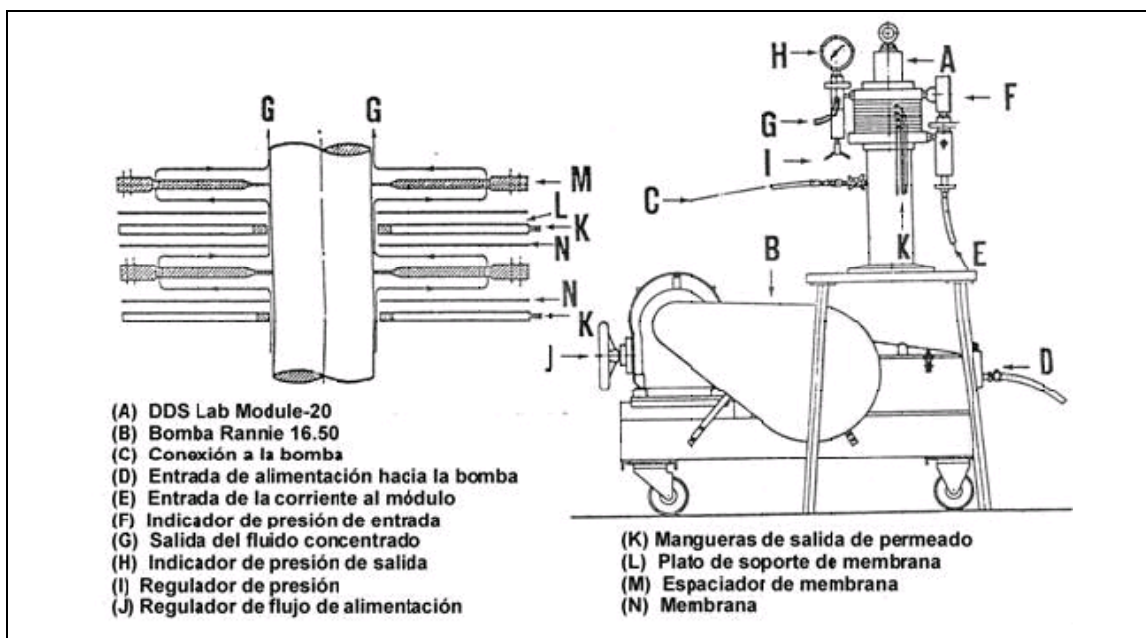


FIGURA 7. Equipo de membranas planas *DDS Lab* (module 20-0, 36 Lab).

FUENTE: LEE *et al.* (1982).

Las características de las membranas y los límites de operación recomendados por el fabricante se muestran en el CUADRO 5.

Antes de comenzar el proceso de nanofiltración se humectaron las membranas con agua deionizada durante 15 minutos a una temperatura de 30 °C y 8 bar de presión.

CUADRO 5. Características de las membranas para nanofiltración HC-50P *DDS Filtration* y límites de operación recomendados por el fabricante.

Características	Permeabilidad (%NaCl): 40 – 60 Flujo agua (L / (m ² · h)): >100
Límites de operación recomendados	pH: 2 – 10 Temperatura (°C): 0 – 60 Presión (bar): 0 – 60

Previa regulación de la velocidad de la bomba, se hace pasar el líquido de alimentación, aumentando gradualmente la presión aplicada, hasta alcanzar el valor deseado.

Se tomaron muestras cada 20 minutos, tanto al permeado como al concentrado, para su posterior análisis y caracterización. El volumen de permeado fue registrado constantemente a lo largo del ensayo para el posterior cálculo de los parámetros del proceso.

El proceso se detiene cuando el volumen de alimentación se reduce a un nivel que permite alcanzar un *factor de concentración* cercano a 3,0 (ver ecuación (2.4)).

Después de cada tratamiento de nanofiltración, las membranas fueron sometidas a un ciclo de limpieza, el que se detalla en el CUADRO 6.

Es muy importante realizar esta limpieza luego de cada ensayo, para alcanzar el mismo flujo de permeado en cada experiencia, el cual se mide con agua deionizada a una temperatura, presión de operación y velocidad de flujo de alimentación constantes. Luego de cada ciclo de lavado las membranas fueron sometidas a una prueba de permeabilidad con agua deionizada a 20 °C, 20 bar de presión y flujo volumétrico de alimentación 1 L/min.

3.3.5 Caracterización de muestras de permeado y concentrado. Tanto para las muestras de permeado como de concentrado se aplicaron los análisis detallados en 3.3.3, con el propósito de caracterizar estas muestras con respecto a pH, densidad, porcentaje de sólidos solubles, acidez titulable y contenido de antocianinas. Este último análisis permite además calcular el coeficiente de retención de antocianinas y así determinar la capacidad de la membrana para retener estos pigmentos.

3.3.6 Evaluación del proceso. Para evaluar el proceso se consideró la

CUADRO 6. Procedimiento de lavado de membranas de nanofiltración.

Etapas	Solución de limpieza	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Presión de entrada (bar)
1. Primer Enjuague	Agua deionizada	40	15	4
2. Primer Lavado cáustico	Solución A	75	60	4
3. Segundo Enjuague	Agua deionizada	40	10	4
4. Lavado ácido	Solución B	55	20	4
5. Tercer enjuague	Agua deionizada	55	10	4
6. Segundo Lavado cáustico	Solución C	75	30	4
7. Enjuague final	Agua deionizada	30	10	4

Solución A = 0,5% NaOH; 0,5% EDTA; pH 12,6.

Solución B = 0,3% HNO₃; pH 2,3.

Solución C = NaOH 1,0%; pH 12,9.

capacidad de separación de la membrana y los factores que afectan al flujo de permeado.

3.3.6.1 Variables que afectan al flujo de permeado. Las variables estudiadas son la presión aplicada y el flujo volumétrico de alimentación. El efecto de estos factores sobre el flujo de permeado, se determinó estadísticamente utilizando el software *Statgraphics Plus 5.1* para determinar si aportan diferencias significativas a la variable respuesta (flujo de permeado), con el diseño experimental detallado en 3.3.1.

3.3.6.2 Capacidad de separación de la membrana. Para estudiar esta característica se calcularon los parámetros de coeficiente de retención y porcentaje de recuperación de soluto para las antocianinas totales. Para ello se utilizaron las ecuaciones (2.5) y (2.7), respectivamente. Para calcular el coeficiente de retención se hizo un gráfico logarítmico de C_R / C_0 versus F_c con los datos de contenido de antocianinas medido a las muestras y el factor de concentración correspondiente; la pendiente de la recta resultante es el coeficiente de retención.

4. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En general, el desarrollo de los experimentos de nanofiltración no presentó mayores dificultades, excepto por la excesiva formación de espuma que se produjo en las experiencias realizadas a 40 bar y 12 L/min (ensayo 9), lo cual dificultaba la toma de muestras. Además, en estas condiciones de operación se producía un aumento en la vibración de la manguera de conexión de la bomba al equipo.

Por otro lado, si no se regula la temperatura de trabajo, ésta se eleva rápidamente, sobretodo a flujos volumétricos de alimentación altos, lo cual se comprobó en la práctica, teniendo como resultado un aumento en el flujo de permeado, debido a la disminución de la viscosidad. En consecuencia, es esencial mantener la temperatura de la alimentación constante.

En el CUADRO 7 se presenta un resumen de los ensayos realizados, en cuanto a duración y flujos de permeado obtenidos. La duración del ensayo se refiere al tiempo requerido para alcanzar un factor de concentración de 3. El flujo máximo de permeado fue de 41,31 L/h·m², el cual se logró al combinar una presión de 40 bar con un flujo volumétrico de alimentación de 12 L/min. Flujos de permeado superiores a 30 L/h·m² fueron alcanzados en los ensayos 5, 6, 8 y 9, en los cuales se aplicaron presiones de 30 y 40 bar y flujos de alimentación de 6 y 12 L/min.

Como se observa en el CUADRO 7, al aumentar la presión transmembrana y el flujo volumétrico de alimentación se produce un aumento en el flujo de permeado, lo que coincide con los resultados obtenidos por D'SOUZA y WILEY¹. En consecuencia, los ensayos realizados a 20 bar requieren mayores

1. D'SOUZA, N. y WILEY, D. Whey ultrafiltration: Effect of operating parameters on flux and rejection. Disponible en: <http://www.membrane.unsw.edu.au/imstec03/content/papers/PDMS/imstec036.pdf>
Acceso: 02/06/2005

CUADRO 7. Resumen de ensayos realizados.

Ensayo	Condiciones de operación		Duración ensayo (min)	Flujo de permeado máximo (Fc=1) (L/h·m ²)	Flujo de permeado mínimo (Fc=3) (L/h·m ²)
	Presión transmembrana (bar)	Flujo volumétrico alimentación (L/min)			
1	20	1	260	20,48	3,14
2	20	6	240	24,44	3,24
3	20	12	220	26,96	3,48
4	30	1	200	24,97	3,95
5	30	6	180	31,62	4,13
6	30	12	160	36,30	4,64
7	40	1	180	25,25	4,52
8	40	6	140	37,78	5,83
9	40	12	120	41,31	7,11

tiempos de proceso para alcanzar el factor de concentración deseado si se comparan con aquellos realizados a 30 y 40 bar de presión transmembrana. Asimismo, un flujo volumétrico de alimentación más bajo significó tiempos de proceso mayores, lo que en la práctica y al considerar la aplicación industrial de esta tecnología, se traduce en una menor productividad.

4.1 Caracterización de muestras de alimentación, permeado y concentrado

Los resultados de los análisis de pH, densidad, porcentaje de sólidos solubles, acidez titulable y contenido de antocianinas realizados a las muestras de jugo de alimentación, permeado y concentrado obtenidas en cada ensayo se detallan en el CUADRO 8. Los valores presentados corresponden al promedio de 3 repeticiones más menos la desviación estándar.

CUADRO 8. Caracterización de muestras de alimentación, permeado y concentrado.

ANÁLISIS	Flujo alim. (L/min)	Presión = 20 bar			Presión = 30 bar			Presión = 40 bar		
		A	P	C	A	P	C	A	P	C
pH	1	2,7±0,0	2,9±0,1	2,6±0,0	2,6±0,1	2,8±0,0	2,6±0,0	2,5±0,0	2,9±0,1	2,6±0,0
	6	2,6±0,1	2,8±0,1	2,6±0,0	2,7±0,1	2,8±0,1	2,5±0,0	2,7±0,1	2,8±0,0	2,6±0,0
	12	2,6±0,1	2,8±0,0	2,6±0,0	2,7±0,1	2,9±0,0	2,6±0,1	2,6±0,1	2,8±0,1	2,5±0,0
Sólidos solubles (°Brix)	1	12,5±0,0	7,0±0,5	29,5±1,0	12,5±0,0	7,5±0,0	27,5±0,0	12,5±0,0	7,0±0,9	29,0±1,3
	6	12,5±0,0	7,5±0,0	27,5±0,9	12,5±0,0	7,0±0,5	30,0±0,9	12,5±0,0	7,0±0,0	29,0±0,5
	12	12,5±0,0	6,5±0,5	28,0±1,0	12,5±0,0	7,5±0,0	29,5±0,5	12,5±0,0	6,5±0,9	29,0±1,3
Acidez titulable %	1	2,8±0,8	1,8±0,2	4,8±0,3	2,8±0,4	1,7±0,1	4,7±0,3	3,4±0,5	1,8±0,1	5,1±0,3
	6	2,9±0,6	1,6±0,1	5,2±0,1	3,0±0,8	1,8±0,1	5,0±0,4	2,8±0,6	1,5±0,1	5,0±0,2
	12	2,4±0,5	1,5±0,0	4,9±0,2	2,8±0,5	1,9±0,1	4,8±0,3	2,6±0,5	1,7±0,1	4,9±0,1
Densidad (g/mL)	1	1,02±0,03	1,04±0,01	1,06±0,02	1,01±0,04	1,04±0,02	1,07±0,02	0,97±0,01	1,03±0,01	1,05±0,02
	6	0,99±0,01	1,03±0,01	1,04±0,02	1,03±0,03	1,04±0,02	1,06±0,02	1,01±0,03	1,03±0,01	1,05±0,01
	12	1,04±0,01	1,05±0,01	1,07±0,01	0,98±0,01	1,04±0,01	1,06±0,01	1,09±0,01	1,08±0,02	1,11±0,03
Contenido antocianinas totales (mg/L)	1	82±4	5±1	237±14	97±2	1±0	288±15	93±3	3±1	274±14
	6	85±2	1±0	254±6	97±1	4±1	284±23	88±2	2±0	259±16
	12	90±3	2±1	267±14	92±4	4±0	271±24	83±5	8±1	233±16

A = alimentación; P = permeado; C = concentrado

Iniciando el proceso de nanofiltración con un jugo cuyo contenido de antocianinas varió entre 80 y 100 mg/L, sólidos solubles de 12,5 °Brix, pH entre 2,5 y 2,7, acidez de 2,4 a 3,4% y densidad de 0,97 a 1,09 g/mL se obtuvo:

- Un concentrado con 230 a 290 mg/L de antocianinas totales, pH levemente inferior, sólidos solubles entre 27 y 29 °Brix, acidez titulable de aproximadamente 5% y densidad entre 1,04 y 1,11 g/mL.
- Un permeado con 1 a 8 mg/L de antocianinas totales; pH entre 2,8 y 2,9, sólidos solubles entre 6,5 y 7,5 °Brix, acidez titulable entre 1,5 y 1,9% y densidad de 1,03 y 1,02 g/mL.

En las FIGURAS 8, 9 y 10 se pueden apreciar claramente las diferencias entre las muestras para 3 de los análisis realizados. Estas diferencias se acentúan en el análisis de contenido de antocianinas totales, observándose que la concentración de estos pigmentos es mínima en el permeado, lo que indica que la membrana retiene gran parte de estos pigmentos.

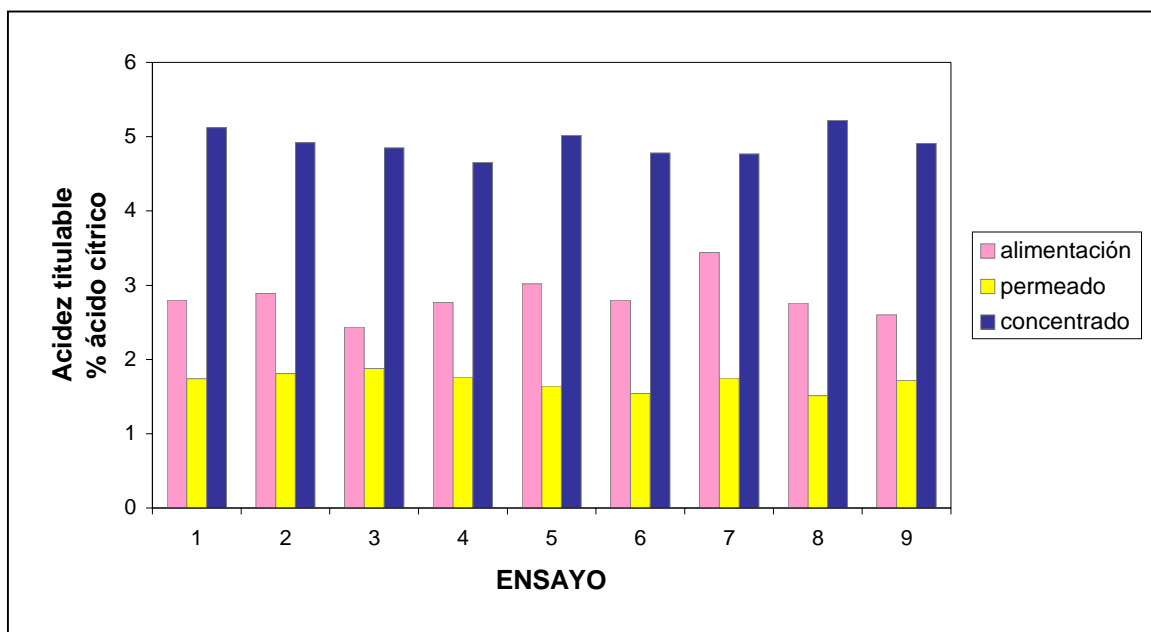


FIGURA 8. Acidez titulable de las muestras de alimentación, permeado y concentrado para cada ensayo.

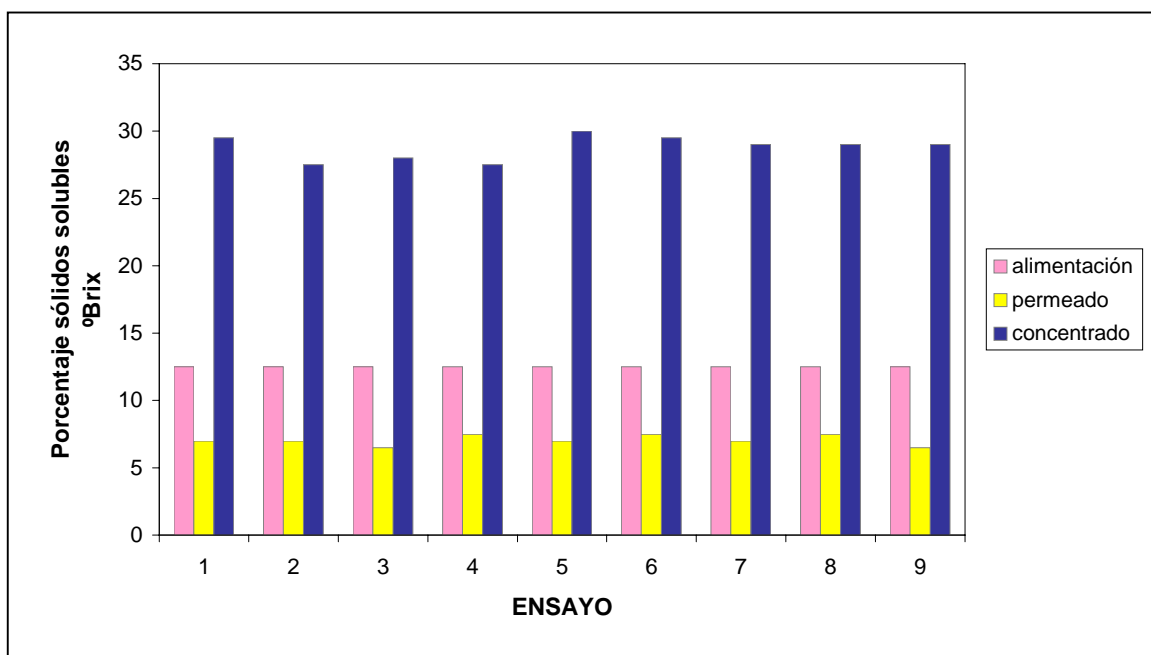


FIGURA 9. Sólidos solubles de las muestras de alimentación, permeado y concentrado para cada ensayo.

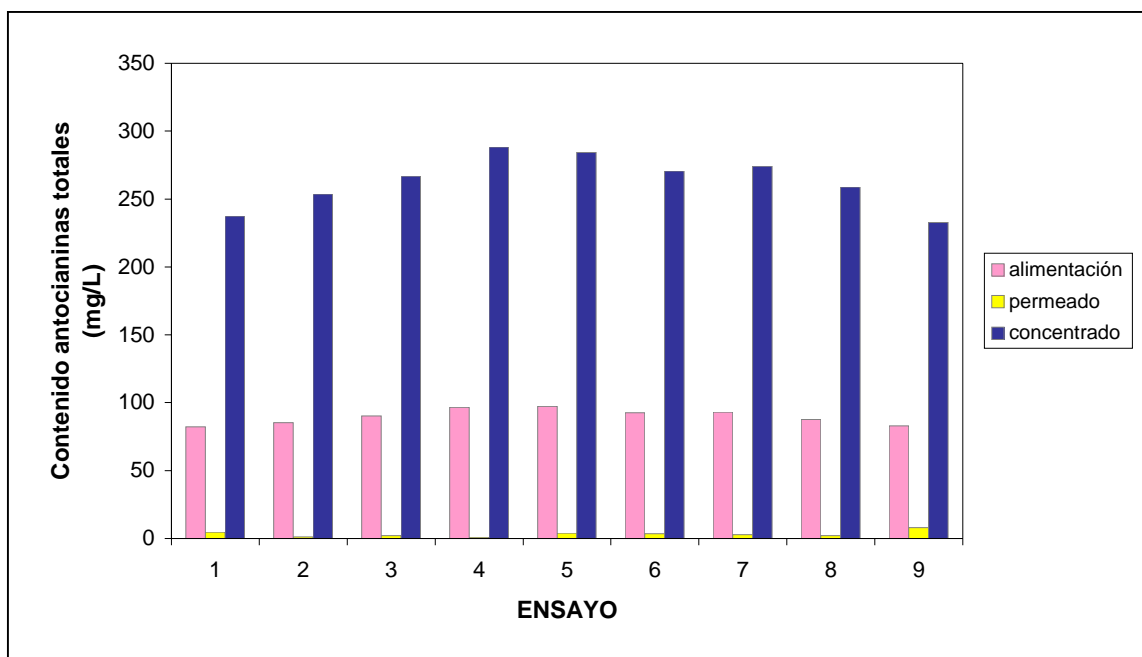


FIGURA 10. Contenido de antocianinas de las muestras de alimentación, permeado y concentrado para cada ensayo.

El permeado obtenido posee un muy bajo contenido de antocianinas, pero sus características de acidez y contenido de azúcares difieren de las del jugo original, por lo que no podría considerarse un “jugo decolorado”, puesto que el concentrado retiene parte importante de los componentes del jugo original.

Esto se comprueba mediante el análisis estadístico de los resultados, el cual arroja que existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de las muestras de alimentación, permeado y concentrado con un 95% de confianza obteniéndose un valor p inferior a 0,05. Esto es válido para todos los análisis; sin embargo, en la determinación de densidad para las muestras de permeado y concentrado, no se observaron diferencias significativas, pero sí entre ellas y las muestras de alimentación.

4.2 Efecto del flujo volumétrico de alimentación y la presión transmembrana sobre el flujo de permeado

A lo largo del proceso se determinó el volumen de permeado acumulado en intervalos de tiempo definidos, con lo cual se obtuvo el flujo de permeado y los factores de concentración a distintos tiempos de iniciado el proceso. Los resultados de factor de concentración y flujo de permeado para cada ensayo se presentan en los ANEXOS 2 y 3, respectivamente.

En la FIGURA 11, se puede apreciar la influencia del flujo volumétrico de alimentación sobre el flujo de permeado (a presión constante), observándose un incremento en este último al aumentar el flujo volumétrico, principalmente en los flujos de permeado iniciales. Esto es válido para las tres presiones estudiadas, sin embargo, este aumento en los flujos de permeado se observa más claramente a 40 bar de presión transmembrana, como lo muestra la gráfica.

Esto puede explicarse según lo señalado por DOBÓN y BAGGER-JORGENSEN (2000), con respecto a que una velocidad de flujo de alimentación alta tiende a remover el material depositado sobre la superficie de

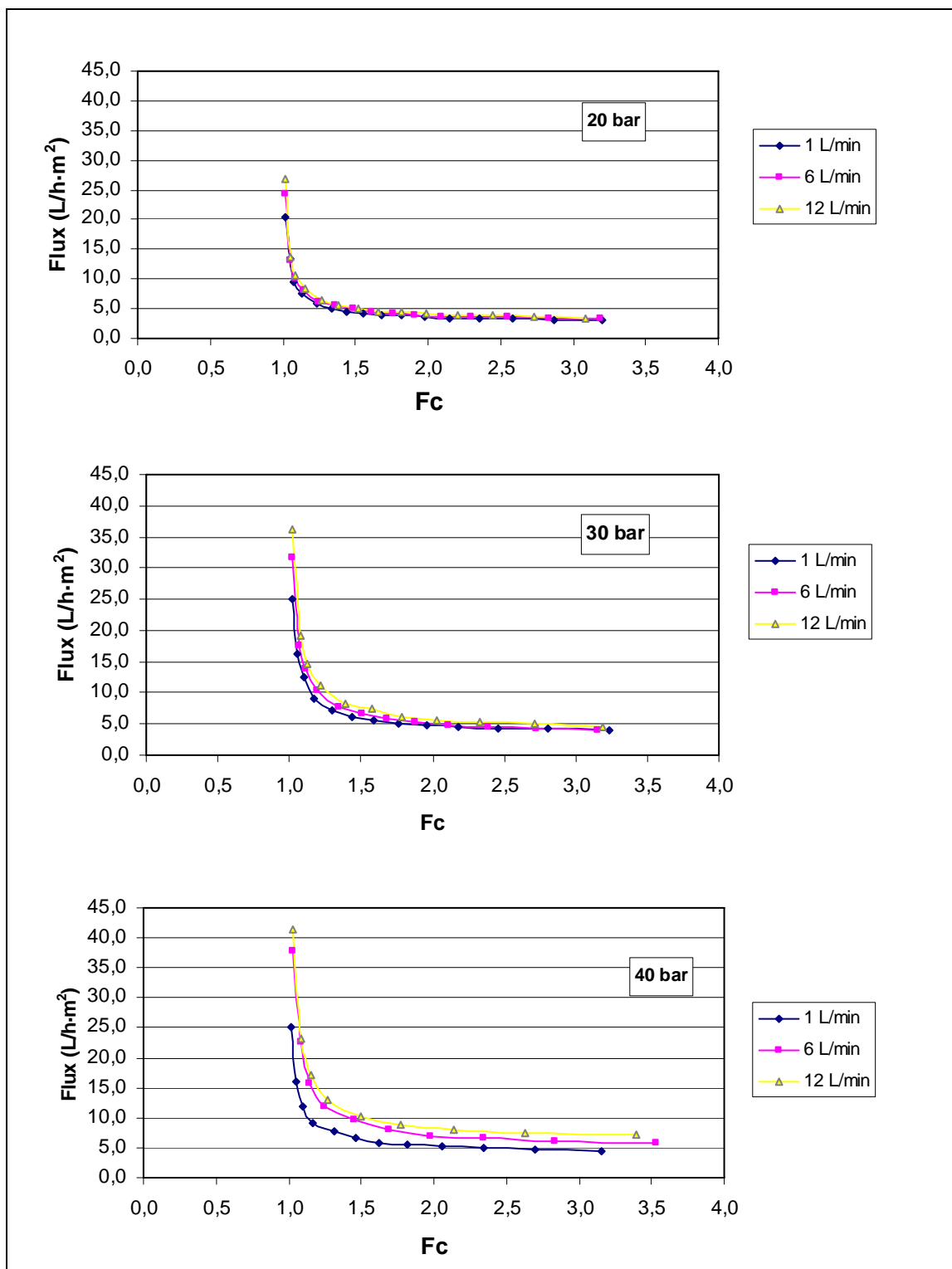


FIGURA 11. Efecto del flujo volumétrico de alimentación sobre los flujos instantáneos de permeado a diferentes Fc.

la membrana, aumentando el flujo de permeado.

Por otro lado, se puede observar que el flujo de permeado desciende rápidamente en la primera etapa del proceso de nanofiltración; luego este descenso se hace más lento, hasta alcanzar un F_c cercano a 2, luego de lo cual tiende a estabilizarse y alcanzar un valor constante en el tiempo. La curva de descenso de flujo de permeado en función de tiempo se ajusta al modelo descrito por CHERYAN (1998).

El efecto de la presión transmembrana (a flujo volumétrico constante) sobre el flujo de permeado se observa en la FIGURA 12. En este caso también se produce un aumento en el flujo de permeado al aumentar la presión, lo que puede observarse claramente en las tres gráficas, siendo este incremento levemente inferior a 1 L/min.

Como puede apreciarse en la FIGURA 12, en todos los ensayos realizados se presenta un descenso significativo en el flujo de permeado a medida que aumenta el F_c , y tiende a estabilizarse a partir de un factor de concentración igual a 2. El descenso en el flujo puede deberse a: aumento de la presión osmótica en el concentrado a medida que avanza el proceso; formación de una capa de polarización en la superficie de la membrana que incrementa la resistencia al flujo y al ensuciamiento progresivo e irreversible de la membrana.

El resumen estadístico del efecto de los factores presión transmembrana y flujo volumétrico de alimentación sobre el flujo de permeado, se presenta en el ANEXO 4.

El análisis de varianza ANDEVA muestra que ambos factores aportan diferencias estadísticamente significativas al flujo de permeado, con un nivel de confianza de 95%; lo que concuerda con lo obtenido por D'SOUZA y WILEY¹ al estudiar el efecto de los parámetros de operación en la ultrafiltración de suero. Esto indica que el efecto de estos factores puede suponerse similar para

1. D'SOUZA, N. y WILEY, D. Whey ultrafiltration: Effect of operating parameters on flux and rejection. Disponible en: <http://www.membrane.unsw.edu.au/imstec03/content/papers/PDMS/imstec036.pdf>
Acceso: 02/06/2005

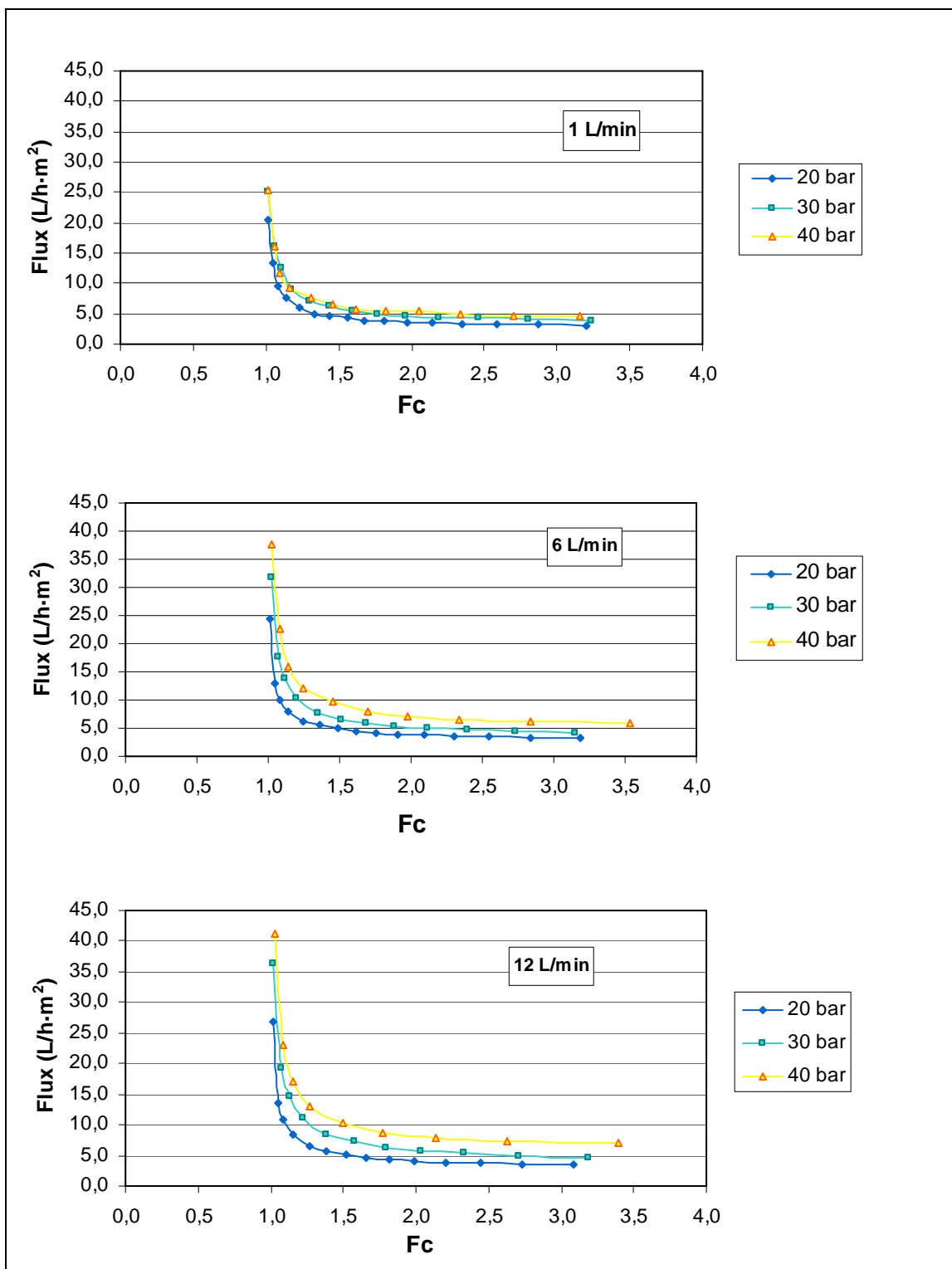


FIGURA 12. Efecto de la presión transmembrana sobre los flujos instantáneos de permeado a diferentes Fc.

cualquier tecnología de membrana, ya sea MF, UF, NF u OI. Por otro lado el test de contrastes múltiples LSD indica que existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los diferentes niveles utilizados en el diseño, tanto para la presión transmembrana como para el flujo volumétrico de alimentación.

Analizando los resultados obtenidos, se observa que las condiciones más adecuadas para lograr flujos de permeado altos y, por ende, menores tiempos de proceso están entre 30 y 40 bar de presión transmembrana y flujos volumétricos entre 6 y 12 L/min. Sin embargo, al trabajar con 40 bar de presión, y en las condiciones de operación descritas para este estudio, no sería recomendable utilizar flujos de 12 L/min, por los inconvenientes antes mencionados.

4.3 Capacidad de retención de antocianinas de la membrana utilizada

Los coeficientes de retención (R) y la recuperación (Y) de antocianinas en el concentrado calculados para cada ensayo se presentan en el CUADRO 9. A continuación se presenta un ejemplo de cálculo para la obtención de estos coeficientes. El ejemplo corresponde al ensayo 5 (30 bar y 6 L/min).

Mediante el análisis descrito en ANEXO 1, se determinó el contenido de antocianinas totales de las muestras de concentrado tomadas cada veinte minutos, durante el proceso de nanofiltración (CUADRO 10). Posteriormente se calculó la relación entre el contenido de antocianinas de la muestra de concentrado (Cr) y el contenido de antocianinas de la alimentación (Co).

Para calcular el coeficiente de retención se linealizó la ecuación (2.5), obteniendo lo siguiente:

$$\log\left(\frac{C_r}{C_0}\right) = R \cdot \log F_c \quad (4.1)$$

donde Fc es el factor de concentración del concentrado

CUADRO 9. Capacidad de retención de antocianinas de jugo de cranberries de la membrana HC-50P (DDS Filtration) en cada ensayo de nanofiltración.

Factor calculado	Retención de antocianinas totales								
	Presión = 20 bar			Presión = 30 bar			Presión = 40 bar		
	\dot{V}_1	\dot{V}_6	\dot{V}_{12}	\dot{V}_1	\dot{V}_6	\dot{V}_{12}	\dot{V}_1	\dot{V}_6	\dot{V}_{12}
Coefficiente de retención (R)	0,97	0,99	0,99	0,99	0,98	0,98	0,98	0,99	0,94
Recuperación en el concentrado (Y)	96%	99%	99%	99%	98%	98%	98%	98%	93%

$\dot{V}_1 = 1$ L/min; $\dot{V}_6 = 6$ L/min; $\dot{V}_{12} = 12$ L/min

CUADRO 10. Contenido de antocianinas de las muestras de concentrado obtenidas en el ensayo 5.

Muestra	Cr (mg/L)	Cr/Co	log (Cr/Co)	Fc	log Fc
t ₀	97,26	1,00	0,00	1,02	0,01
t ₂₀	113,55	1,17	0,07	1,2	0,08
t ₄₀	128,48	1,32	0,12	1,35	0,13
t ₆₀	146,66	1,51	0,18	1,51	0,18
t ₈₀	161,16	1,66	0,22	1,68	0,23
t ₁₀₀	177,27	1,82	0,26	1,88	0,27
t ₁₂₀	203,42	2,09	0,32	2,11	0,32
t ₁₄₀	231,94	2,38	0,38	2,39	0,38
t ₁₆₀	264,63	2,72	0,43	2,73	0,44
t ₁₈₀	284,19	2,92	0,47	3,16	0,50

Cr contenido de antocianinas en el concentrado, Co contenido antocianinas en la alimentación, Fc factor de concentración, t tiempo en min

Con los datos obtenidos se realizó un gráfico logarítmico de (Cr/Co) versus Fc, FIGURA 13, cuya pendiente corresponde al coeficiente de retención de antocianinas.

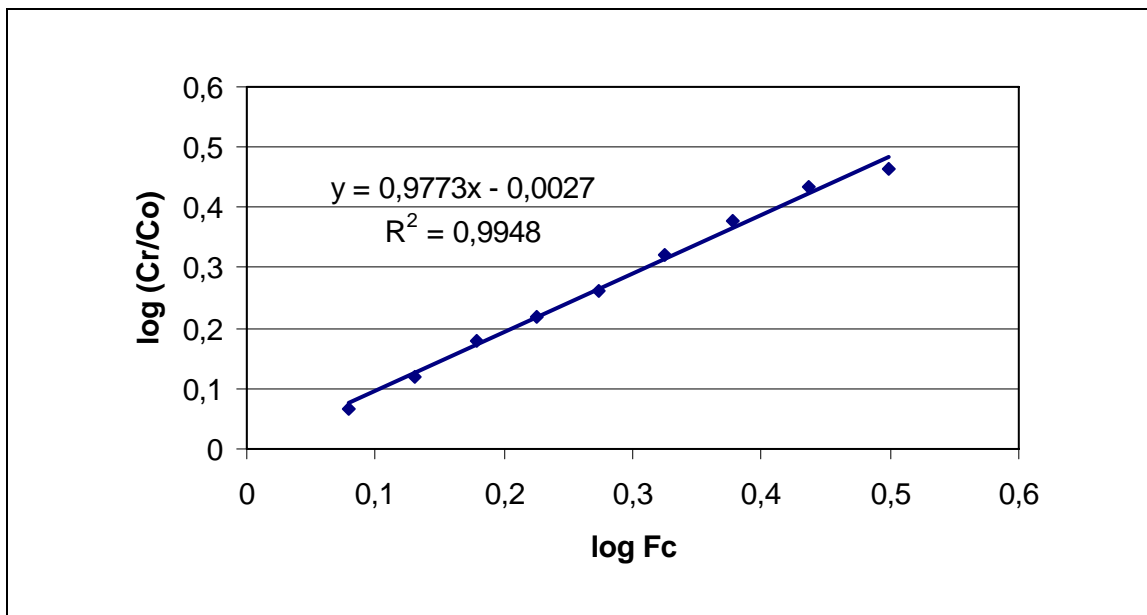


FIGURA 13. Cálculo del coeficiente de retención de antocianinas para el ensayo 5.

La recuperación de antocianinas en el concentrado se calculó utilizando la ecuación (2.7) y reemplazando los valores correspondientes.

Los resultados obtenidos para los coeficientes de retención de antocianinas totales varían entre 0,94 y 0,99, lo que indica que la membrana de nanofiltración HC-50P utilizada retiene un alto porcentaje de los antocianos presentes en la alimentación. Para todos los experimentos se obtuvo un porcentaje de recuperación de antocianinas en el concentrado sobre un 93%.

Esta retención es bastante alta, si se compara con lo obtenido por REKTOR *et al.* (2004) que utilizando OI lograron una retención de antocianinas de un 99,5 % para jugo de uva, con la desventaja de que la OI requiere presiones de operación más altas y, por lo tanto, un mayor consumo de energía.

En la FIGURA 14 se puede apreciar la diferencia de coloración entre las muestras de permeado y concentrado obtenidas.

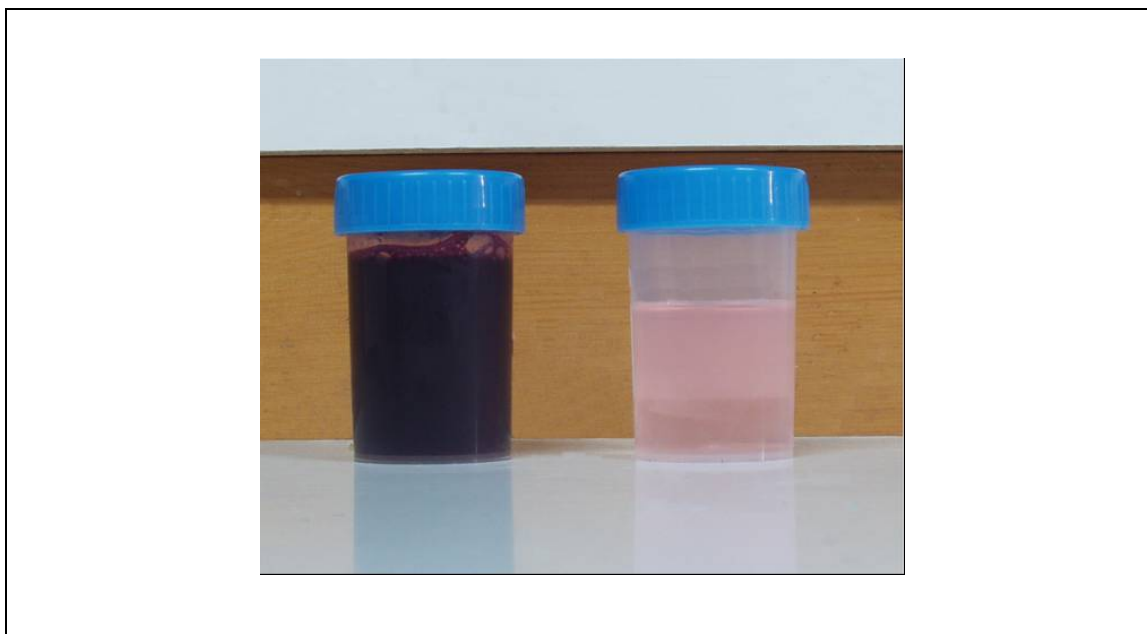


FIGURA 14. Muestras de concentrado y permeado.

El análisis estadístico (ANEXO 5) señala, con un 95% de confianza, que los factores presión transmembrana y flujo volumétrico de alimentación no aportan diferencias significativas al coeficiente de retención de antocianinas, en otras palabras, la capacidad de retención de la membrana de nanofiltración no se ve influenciada por los parámetros de operación estudiados.

5. CONCLUSIONES

Fue posible concentrar las antocianinas de un jugo de cranberries mediante la aplicación de nanofiltración a nivel de laboratorio.

El flujo de permeado es proporcional a la presión transmembrana y al flujo volumétrico de alimentación.

Las condiciones que permiten obtener flujos de permeado mayores son una presión entre 30 y 40 bar y un flujo volumétrico de alimentación entre 6 y 12 L/min. Sin embargo, el proceso se ve limitado por la excesiva formación de espuma que se produce en condiciones de operación de 40 bar y 12 L/min.

A través del proceso de nanofiltración, con la membrana HC-50P *DDS Filtration* es posible recuperar en el concentrado sobre un 93% de los pigmentos antocianos presentes en el jugo de cranberries utilizado como alimentación.

La capacidad de retención de antocianinas de la membrana de nanofiltración resultó independiente de la presión transmembrana y el flujo volumétrico de alimentación.

Los resultados obtenidos avalan el uso de la tecnología de nanofiltración como una variante de los métodos de concentración de jugos de fruta tradicionales que involucran altas temperaturas y pérdida de nutrientes.

6. RESUMEN

Se aplicó la tecnología de nanofiltración a jugo de cranberries (12,5 °Brix), para obtener un concentrado de antocianinas. El objetivo fue determinar el efecto de la presión transmembrana y el flujo volumétrico de alimentación sobre el flujo de permeado y la capacidad de retención de antocianinas de la membrana de nanofiltración HC-50P *DDS Filtration*.

Se utilizó un equipo de membranas planas (DDS Lab Module-20) con 0,36 m² de área efectiva de membrana. La temperatura de trabajo se mantuvo constante a 20 °C; se trabajó con presiones entre 20 y 40 bar y flujos volumétricos de alimentación entre 1 y 12 L/min, filtrando hasta alcanzar un factor de concentración de 3. Se realizaron análisis de pH, sólidos solubles, densidad, acidez titulable y contenido de antocianinas a muestras de alimentación, permeado y concentrado.

El flujo de permeado alcanzó un valor máximo de 41,3 L/h·m² a 40 bar de presión y 12 L/min. Al incrementar las presiones y los flujos volumétricos se observó un aumento en los flujos de permeado; ambos factores influyeron significativamente en este parámetro; no así en la retención de antocianinas. El coeficiente de retención de antocianinas varió entre 94 y 99%, obteniendo un concentrado con 290 mg/L de antocianinas y 29 °Brix.

Se concluyó que el proceso utilizado permite concentrar gran parte de las antocianinas del jugo de cranberries en el concentrado y obtener un permeado con un mínimo de pigmentos; ambos productos podrían ser utilizados como materia prima en la industria de alimentos.

SUMMARY

Cranberry juice (12.5 °Brix) was processed by nanofiltration to obtain an anthocyanin concentrate. The aim of the present study was to determine the effect of pressure and flow rate on the flux of permeate and the capacity of anthocyanin retention of the nanofiltration membrane, HC-50P *DDS Filtration*.

A *DDS* Lab Module-20 plate-and-frame system with an effective membrane area of 0,36 m² was used. Process temperature was held constant at 20 °C. Pressures between 20 and 40 bar and flow rates between 1 and 12 L/min were considered; the process was stopped when a concentration factor near to 3 was achieved. Measurements of pH, soluble solids, density, titrable acidity and anthocyanin content were performed on samples of feed solution, permeate and concentrate.

The maximum flux rate achieved was 41.3 L/h·m² at a pressure of 40 bar and a flow rate of 12 L/min. Experiments showed that flux would increase with pressure and flow rate; both parameters had a significant effect on permeate flux, however, none of them had a significant effect on anthocyanin retention, which varied between 94% and 99%, while a concentrate with 290 mg/L of anthocyanin and 29 °Brix was obtained.

Finally through the nanofiltration process used, it is possible to concentrate most of the anthocyanins of cranberry juice in the concentrate and to obtain a permeate with a low content of these pigments; both products could be used as ingredients in the food industry.

7. BIBLIOGRAFÍA

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. 17^a Edición. William Horwitz, Editor. Volumen II.
- BADUI, S. 1999. Química de los Alimentos. Longman de México Editores. México. 648 p.
- BUZETA, A. 1997. Chile: Berries para el 2000. Departamento Agroindustrial Fundación Chile. Santiago, Chile. 133 p.
- CASP, A. y ABRIL, J. 1999. Procesos de Conservación de Alimentos. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. 494 p.
- CHERYAN, M. 1998. Ultrafiltration and Microfiltration Handbook. Technomic Publishing Company, Inc. Lancaster, U.S.A. 527 p.
- CHIRIBOGA, C. y FRANCIS, J. 1973. Ion Exchange Purified Anthocyanin Pigments as a Colorant for Cranberry Juice Cocktail. Journal of Food Science. 38: 464 – 467.
- CHUNG, M.; HWANG, L. y CHIANG, B. 1986. Concentration of Perilla Anthocyanins by Ultrafiltration. Journal of Food Science. 51: 1494 – 1497.
- CUARTAS, B. 1999. Tecnologías de Membrana. Disponible en: <http://www.tecnologiaslimpias.org.co/html/archivos/catalogo/Catalogo%20ID34.doc>. Acceso: 12/09/04
- DOBÓN, S. y BAGGER-JØRGENSEN, R. 2000. Cross-flow Filtration of Fruit Juice. Danish Environmental Protection Agency. Working Report N° 13.

- FENNEMA, O. 1993. Química de los Alimentos. Ed. Acribia, S. A. Zaragoza, España. 1095 p.
- FERRARINI, R.; VERSARI, A. y GALASSI, S. 2001. A Preliminary Comparison between Nanofiltration and Reverse Osmosis Membranes for Grape Juice Treatment. *Journal of Food Engineering*. 50: 113 – 116.
- FRANCIS, F. 1975. Anthocyanins as Food Colors. *Food Technology*. 44: 66.
- FRANCIS, F. 1989. Food Colorants: Anthocyanins. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 28: 273 – 301.
- GIL-MARTINEZ, A. 1998. Concentration of Pomegranate Juice by Ultrafiltration and Reverse Osmosis. Biological and Agricultural Engineering Department, Davis, CA, University of California at Davis (Master thesis on the subject).
- GIUSTI, M. y WROLSTAD, R. 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. F1.2.1-F1.2.13
- HARKINS, K. 2000. Review: What's the Use of Cranberry Juice? Age and Ageing. 29: 9-12.
- JELEN, P. 1991. Pressure - Driven Membrane Processes: Principles and Definitions. In: *International Dairy Federation Special Issue N° 9201, New Applications of Membrane Processes*, Chapter 1. Bruselas.160 p.
- KUNSTMANN, M. 1994. Estudio de Desmineralización de Suero Salado por Nanofiltración. Tesis Lic. Bioquímica. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias. 59 p.

- KUSKOSKI, E.; ASUERO, A.; GARCÍA-PARILLA, M.; TRONCOSO, A. y FETT, R. 2004. Actividad Antioxidante de Pigmentos Antociánicos. *Cienc. Technol. Aliment.*, 24: 691-693.
- LEE, Y.; WILEY, R.; SEP, M. y SCHLIMME, D. 1982. Purification and Concentration of Betalaines by Ultrafiltration and Reverse Osmosis. *Journal of Food Science*. 47: 465-471.
- REKTOR, A.; PAP, N.; KÓKAI, Z.; SZABÓ, R.; VATAI, G. y BÉKÁSSY-MOLNÁR, E. 2004. Application of Membrane Filtration Methods for Must Processing and Preservation. *Desalination*. 162: 271 – 277.
- RODRIGUEZ, L. y WOLSTRAD, R. 2001. Extraction, Isolation, and Purification of Anthocyanins. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. F1.1.1.
- SCHEFFELDT, P. y HRAZDINA, G. 1978. Co-pigmentation of Anthocyanins under Physiological Conditions. *Journal of Food Science*. 43: 517-520.
- WARCZOK, J.; FERRANDO, M.; LÓPEZ, F. y GÜELL, C. 2004. Concentration of Apple and Pear Juices by Nanofiltration at Low Pressures. *Journal of Food Engineering*. 63: 63 – 70.
- WONG, D. 1995. *Química de los Alimentos: Mecanismos y Teoría*. Ed. Acribia, S. A. España. 476 p.
- WOO, A.; ELBE, J. y AMUNDSON, C. 1980. Anthocyanin Recovery from Cranberry Pulp Wastes by Membrane Technology. *Journal of Food Science*. 45: 875 – 879.
- WROLSTAD, R. 1976. *Color and Pigment Analyses in Fruit Products*. Oregon State University Agricultural Experiment Station Bulletin 624.

ANEXOS

ANEXO 1

Determinación del contenido de antocianinas

WROLSTAD, R. 1976. Color and Pigment Analyses in Fruit Products. Oregon State University Agricultural Experiment Station Bulletin 624.

Principio del método

A pH 1,0 las antocianinas existen en forma altamente coloreada y a pH 4,5 están predominantemente en forma incolora. Una alícuota de una solución acuosa de antocianinas es ajustada a pH 1,0 y otra a pH 4,5. La diferencia en la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción será proporcional al contenido de antocianinas.

Reactivos

- Buffer pH 4,5: 400 ml de acetato de sodio 1M
+ 240 ml de HCl 1N
+ 360 ml de agua destilada
- Buffer pH 1,0: 125 ml de KCl 0,2 N
+ 385 ml de HCl 0,2 N

El pH de los buffers debe ser ajustado a medida que se requiera para obtener valores de pH final de 1,0 y 4,5.

Materiales

- Pipetas 10 mL y 1 mL parciales
- Matraces 50 mL o 100 mL
- Probetas de 100 mL
- Cubetas para espectrofotómetro

Método

Para medir la absorbancia, el jugo debe ser diluido con buffer. La dilución debe ser tal que la muestra a pH 1,0 tenga una absorbancia menor a 1,0 y

(Continuación ANEXO 1)

preferentemente en el rango de 0,4 a 0,6. El factor de dilución debe ser el mismo para ambas muestras (pH 1,0 y pH 4,5). Por ejemplo, tomar 10 ml de jugo y diluir a 50 ml (factor de dilución 5). Las muestras diluidas deben estar claras, sin turbidez ni sedimento. Cualquier sedimento debería ser removido centrifugando o filtrando la muestra. Si la muestra está libre de turbidez, la absorbancia a 700 nm debería ser 0. La turbidez puede ser corregida midiendo la absorbancia a 700 nm y sustrayendo este valor de la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción (510-540).

Una vez diluidas las muestras se mide su absorbancia (pH 4,5 y pH 1,0) a la longitud de onda de máxima absorción (entre 510 y 540 nm).

La determinación del contenido de antocianinas está basada en la Ley de Lambert-Beer ($A = \epsilon \cdot C \cdot L$). A corresponde a la *absorbancia* que es medida con un espectrofotómetro. ϵ corresponde a la *absorbancia molar*, una constante física para especies moleculares en un solvente a una determinada longitud de onda. Se pueden utilizar los valores de absorbancia molar para pigmentos purificados tomados de la literatura, haciendo innecesario determinarlos. La absorbancia molar también se conoce como coeficiente de extinción molar. C es la concentración molar y al reestructurar la ecuación de Lambert-Beer esta sería

$$C = \frac{A}{\epsilon \cdot L}$$

L es la longitud de recorrido en cm y la mayoría de las cubetas para espectrofotómetro tienen una longitud de 1. La concentración en mg/L puede ser determinada multiplicando por el peso molecular (MW) del pigmento.

$$C_{(\text{mg/l})} = \frac{A}{\epsilon \cdot L} \cdot \text{MW} \cdot 10^3 \cdot \text{Factor de dilución}$$

(Continuación ANEXO 1)

Para el cálculo del contenido de antocianinas se utiliza el peso molecular y la absorbancia molar del pigmento antociano presente en mayor proporción. En el jugo de cranberry se encuentra principalmente cianidina-3-galactósido, cuyo peso molecular es 449,2 y su absorbancia molar 46230 (GIUSTI y WROLSTAD, 2001).

La absorbancia se obtiene sustrayendo el valor obtenido a pH 4,5 del valor obtenido a pH 1,0. Ejemplo:

$$A = (A_{515 \text{ nm pH } 1,0} - A_{700 \text{ nm pH } 1,0}) - (A_{515 \text{ nm pH } 4,5} - A_{700 \text{ nm pH } 4,5})$$

Debería enfatizarse que el método basado en el diferencial de pH es una medida de las antocianinas monoméricas y los resultados pueden parecer no relacionados con la intensidad de color de las muestras de jugo o vino, juzgando visualmente. Esto se debe a que las antocianinas poliméricas y los pigmentos pardos que surgen del pardeamiento enzimático, Reacción de Maillard y degradación de antocianinas también contribuyen a la intensidad del color. Algunos investigadores han reportado contenido de antocianinas donde la absorbancia fue medida sólo a pH 1,0, y no hubo sustracción de la absorbancia a pH 4,5. Los resultados determinados de esta manera deberían ser similares a aquellos con el método de diferencial de pH para productos frescos donde la presencia de pigmentos poliméricos pardos fuera insignificante. En productos donde ha ocurrido pardeamiento y degradación de antocianinas, debería obtenerse una mejor correlación con la intensidad del color, pero no sería una medición precisa del contenido de antocianinas, *per se*.

ANEXO 2

Factor de concentración del retenido en función del tiempo de proceso

Tiempo (min)	Factor de concentración retenido Fc								
	Presión = 20 bar			Presión = 30 bar			Presión = 40 bar		
	\dot{V}_1	\dot{V}_6	\dot{V}_{12}	\dot{V}_1	\dot{V}_6	\dot{V}_{12}	\dot{V}_1	\dot{V}_6	\dot{V}_{12}
1	1,01	1,01	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02	1,03
5	1,05	1,05	1,05	1,06	1,07	1,07	1,06	1,08	1,09
10	1,08	1,08	1,09	1,10	1,11	1,13	1,10	1,14	1,15
20	1,13	1,14	1,15	1,17	1,20	1,22	1,17	1,24	1,26
40	1,24	1,25	1,27	1,30	1,35	1,39	1,31	1,46	1,50
60	1,33	1,36	1,39	1,44	1,51	1,58	1,46	1,70	1,77
80	1,44	1,49	1,51	1,59	1,68	1,79	1,62	1,98	2,13
100	1,56	1,61	1,65	1,76	1,88	2,03	1,82	2,34	2,63
120	1,68	1,76	1,81	1,96	2,11	2,34	2,06	2,83	3,40
140	1,82	1,91	1,99	2,19	2,39	2,71	2,34	3,54	-
160	1,97	2,09	2,20	2,46	2,73	3,19	2,70	-	-
180	2,15	2,30	2,45	2,80	3,16	-	3,16	-	-
200	2,35	2,55	2,74	3,23	-	-	-	-	-
220	2,59	2,83	3,09	-	-	-	-	-	-
240	2,87	3,18	-	-	-	-	-	-	-
260	3,20	-	-	-	-	-	-	-	-

$\dot{V}_1 = 1 \text{ L/min}$; $\dot{V}_6 = 6 \text{ L/min}$; $\dot{V}_{12} = 12 \text{ L/min}$

ANEXO 3

Flujo instantáneo de permeado en función del tiempo de proceso

Tiempo (min)	Flujo de permeado (L/h·m ²)								
	Presión = 20 bar			Presión = 30 bar			Presión = 40 bar		
	\dot{V}_1	\dot{V}_6	\dot{V}_{12}	\dot{V}_1	\dot{V}_6	\dot{V}_{12}	\dot{V}_1	\dot{V}_6	\dot{V}_{12}
1	20,48	24,44	26,96	24,97	31,62	36,30	25,25	37,78	41,31
5	13,36	13,00	13,61	16,21	17,68	19,25	15,98	22,72	23,12
10	9,58	10,02	10,72	12,43	13,86	14,63	11,76	15,82	17,04
20	7,56	8,09	8,47	9,02	10,42	11,11	9,14	12,00	13,01
40	5,99	6,26	6,52	7,13	7,64	8,38	7,68	9,75	10,18
60	5,04	5,64	5,69	6,20	6,56	7,34	6,50	8,04	8,70
80	4,57	4,98	5,10	5,54	5,77	6,14	5,86	7,03	7,90
100	4,31	4,47	4,60	5,02	5,20	5,57	5,48	6,55	7,44
120	3,92	4,14	4,44	4,76	4,90	5,33	5,33	6,17	7,11
140	3,77	3,89	4,19	4,43	4,61	4,95	4,91	5,83	-
160	3,61	3,76	3,92	4,27	4,32	4,64	4,71	-	-
180	3,43	3,60	3,80	4,14	4,13	-	4,52	-	-
200	3,37	3,50	3,60	3,95	-	-	-	-	-
220	3,23	3,32	3,48	-	-	-	-	-	-
240	3,14	3,24	-	-	-	-	-	-	-
260	3,05	-	-	-	-	-	-	-	-

$\dot{V}_1 = 1$ L/min; $\dot{V}_6 = 6$ L/min; $\dot{V}_{12} = 12$ L/min

ANEXO 4

Análisis estadístico realizado en *Statgraphics Plus 5.1* para estudiar el efecto de condiciones de operación sobre el flujo de permeado

Análisis de Varianza para Flujo permeado - Sumas de Cuadrados de Tipo III					
Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Presión transmembrana	30,1257	2	15,0629	864,58	0,0000
B:Flujo volumétrico alimentación	6,88972	2	3,44486	197,73	0,0000
INTERACCIONES					
AB	4,26208	4	1,06552	61,16	0,0000
RESIDUOS	0,3136	18	0,0174222		
TOTAL (CORREGIDO)	41,5911	26			

Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

Contraste Múltiple de Rangos para Flujo permeado según Presión transmembrana				
Método: 95,0 porcentaje LSD				
Nivel	Recuento	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
20	9	3,25444	0,0439978	X
30	9	4,23889	0,0439978	X
40	9	5,81889	0,0439978	X
Contraste	Diferencias		+/- Límites	
20 - 30	*-0,984444		0,130724	
20 - 40	*-2,56444		0,130724	
30 - 40	*-1,58		0,130724	

* indica una diferencia significativa.

(Continuación ANEXO 4)

Contraste Múltiple de Rangos para Flujo permeado según Flujo volumétrico alimentación				

Método: 95,0 porcentaje LSD				
Nivel	Recuento	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos

1	9	3,83889	0,0439978	X
6	9	4,39889	0,0439978	X
12	9	5,07444	0,0439978	X

Contraste	Diferencias		+/- Límites	

1 - 12	*-1,23556		0,130724	
1 - 6	*-0,56		0,130724	
12 - 6	*0,675556		0,130724	

ANEXO 5

Análisis estadístico realizado en *Statgraphics Plus 5.1* para estudiar el efecto de condiciones de operación sobre el coeficiente de retención de antocianinas

Análisis de la Varianza para Coeficiente retención antocianinas - Sumas de Cuadrados de Tipo III					
Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Presión transmembrana	0,00125185	2	0,000625926	1,48	0,2535
B: Flujo volumétrico alimentación	0,00082963	2	0,000414815	0,98	0,3936
INTERACCIONES					
AB	0,00443704	4	0,00110926	2,63	0,0688
RESIDUOS	0,0076	18	0,000422222		
TOTAL (CORREGIDO)	0,0141185	26			
Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.					

Contraste Múltiple de Rangos para Coeficiente de retención de antocianinas según Presión transmembrana				
Método: 95,0 porcentaje LSD				
Factor_A	Recuento	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
40	9	0,967778	0,00684935	X
30	9	0,982222	0,00684935	X
20	9	0,982222	0,00684935	X
Contraste	Diferencias		+/- Límites	
20 - 30	0,0		0,0203505	
20 - 40	0,0144444		0,0203505	
30 - 40	0,0144444		0,0203505	
* indica una diferencia significativa.				

(Continuación ANEXO 5)

Contraste Múltiple de Rangos para Coeficiente de retención de antocianinas según Flujo volumétrico de alimentación				

Método: 95,0 porcentaje LSD				
Factor_B	Recuento	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos

12	9	0,97	0,00684935	X
1	9	0,978889	0,00684935	X
6	9	0,983333	0,00684935	X

Contraste	Diferencias		+/- Límites	

1 - 12	0,00888889		0,0203505	
1 - 6	-0,00444444		0,0203505	
12 - 6	-0,0133333		0,0203505	

* indica una diferencia significativa.				