

## INACTIVACIÓN ENZIMÁTICA Y MEJORAMIENTO DE LAS PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DEL JUGO DE ZARZAMORA POR TERMOULTRASONIDO

Cervantes Elizarrarás A. <sup>a\*</sup>; Cruz Cansino N. del S. <sup>b</sup>; Piloni Martini J. <sup>a</sup>; Alanís García E. <sup>b</sup>; Zafra Rojas Q.Y. <sup>a</sup>

<sup>a</sup>Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Área Académica de Ingeniería Agroindustrial, Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México.

<sup>b</sup>Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias de la Salud, Área Académica de Nutrición, San Agustín Tlaxiaca, México. \* [elizarraras.alice@yahoo.com.mx](mailto:elizarraras.alice@yahoo.com.mx)

### RESUMEN:

El jugo de zarzamora es una bebida que presenta compuestos bioactivos con capacidad antioxidante, entre los que destacan los compuestos fenólicos como las antocianinas, sin embargo durante el procesamiento térmico hay pérdida de dichos compuestos, por lo que en el presente estudio se evaluó la actividad de la polifenol oxidasa y pectin metilesterasa, la capacidad antioxidante, contenido de fenoles totales y el contenido de antocianinas del jugo de zarzamora termoultrasonificado y se comparó con jugo pasteurizado (90 °C/15 s) y jugo fresco. Previamente se utilizó el diseño de superficie de respuesta para obtener la condición óptima de termoultrasonido (50±1 °C/17±1 min), posteriormente se realizó la comparación de medias (termoultrasonificado, pasteurizado y control) con la prueba de Tukey ( $p<0.05$ ). El jugo termoultrasonificado comparado con el pasteurizado, logró mayor reducción de la polifenol oxidasa (98.3 %) y de la pectin metilesterasa (63.7 %) con aumento de actividad antioxidante (13,964.96 µmol ET/L), compuestos fenólicos (3,311.3 mg EAG/L) y contenido de antocianinas (922.55 mg Cy-3-GI). La metodología de superficie de respuesta permitió definir las condiciones óptimas de termoultrasonido. Esta tecnología resulta mejor que la tecnología convencional en cuanto a la inactivación enzimática y mejoramiento de las propiedades antioxidantes del jugo de zarzamora.

### ABSTRACT:

Blackberry juice is a beverage with bioactive compounds which present antioxidant capacity, among them phenolic compounds like anthocyanins, nevertheless during the thermal processing there are a loss of this compounds, therefore in this study the objective was to investigate the polifenol oxidase and pectin metylesterase activity, antioxidant capacity, total phenolic compounds and the anthocyanins content of the thermoultrasonicated blackberry juice and was compared with the pasteurized juice (90 °C/ 15 s). The response surface methodology was employed to obtain the optimum conditions of thermoultrasonication (50±1 °C/17±1 min) and significant differences between mean values (thermoultrasonicated, pasteurized and control) were determined by Tukey pairwise comparison test at a significance level of  $p<0.05$ . Thermoultrasonication treatment, compared with pasteurization, showed higher reduction of polyphenol oxidase (>98 %) and pectin metylesterase (63.7 %) activity, higher antioxidant activity as well as greater phenolic compounds and anthocyanin content (13,964.96 µmol ET/L and 922.55 mg Cy-3-GI respectively). The response surface methodology allows obtain the optimum conditions of thermoultrasonication for blackberry juice. This technology is better than conventional in terms of enzymatic inactivation and improvement of the antioxidant properties of blackberry juice.

### Palabras clave:

Termoultrasonido, compuestos antioxidantes, actividad enzimática residual

### Keyword:

Thermoultrasound, antioxidants compounds, enzymatic residual activity

**Área:** Alimentos funcionales

## INTRODUCCIÓN

El jugo de zarzamora es una bebida que presenta compuestos bioactivos con capacidad antioxidante, tales como los compuestos fenólicos, entre los que destacan las antocianinas, las cuales han demostrado grandes beneficios a la salud humana (Acosta-Montoya *et al.*, 2010; Cuevas-Rodríguez, 2011 y Lee *et al.*, 2012). Sin embargo, uno de los problemas que se presentan en la producción y almacenamiento de este producto, son los relacionados con la actividad de algunas enzimas, como la polifenol oxidasa (PPO) y la pectin metilesterasa (PME), ya que generan oxidación de los polifenoles y precipitados en el jugo, respectivamente, afectando la calidad y aceptación del producto (Abid *et al.*, 2014).

Actualmente el procesamiento de jugo de zarzamora es mediante pasteurización, sin embargo este método genera pérdida de compuestos biocactivos, por lo que han surgido tecnologías emergentes como el termoultrasonido, que combina el tratamiento de ultrasonido con temperaturas suaves (< 60 °C), el cual disminuye la pérdida de estos compuestos e inactiva eficazmente microorganismos y enzimas (Tiwari *et al.*, 2010; Adekunte *et al.*, 2010; Vidal-Fonteles *et al.*, 2012; Ercan y Soysal, 2013). Por lo que el objetivo de esta investigación fue evaluar la inactivación enzimática, capacidad antioxidante, contenido de fenoles totales y antocianinas del jugo de zarzamora termoultrasonificado comparado con una tecnología convencional.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La zarzamora se obtuvo de Atotonilco el Grande, Hidalgo. La obtención del jugo fue mediante licuefacción y centrifugación (10,000 rpm/ 30 min/ 4 °C) y se dividió en tres porciones. Una porción fue termoultrasonificada (VCX-1500, Sonics & Materials, USA), otra pasteurizada (90 °C/ 15 s) y la otra sin tratamiento (control). Para la optimización del jugo termoultrasonificado, basado en una elevada inactivación enzimática y alto contenido de antioxidantes (fenoles y antocianinas) y actividad antioxidante (DPPH), se utilizó la Metodología de Superficie de Respuesta (RSM) con un diseño compuesto, central (5 puntos), rotatable de 2 niveles: tiempo (t) y temperatura (T°). Al jugo termoultrasonificado (optimizado), pasteurizado y control se les evaluó la actividad enzimática de la PME por el método de Askar y Treptow (1993) y de la PPO de acuerdo a lo descrito por Cano *et al.*, (1997). La actividad antioxidante se midió por el método del atrapamiento del radical DPPH• (Morales y Jiménez-Pérez, 2001) y los resultados se expresaron como  $\mu\text{mol}$  equivalentes de trolox ( $\mu\text{mol ET/L}$ ). El contenido de fenoles totales se determinó con el método del Folin-Ciocalteu (Stintzing *et al.*, 2005) y el contenido de antocianinas por el método de diferencias de pH (Giusti y Wrolstad, 2001) y los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (mg EAG/L) y cianidin-3-glucósido (mg Cy-3-Gl/L) respectivamente. Se realizó una comparación de medias con la prueba de Tukey con un nivel de significancia de  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los principales criterios para establecer el área óptima fue la reducción de la actividad enzimática de la PPO y la PME para evitar deterioros en la calidad del jugo, así como una alta capacidad antioxidante, un elevado contenido de fenoles totales y un alto contenido de antocianinas.

Como se puede apreciar en la figura 1, el área óptima de termoultrasonido se encontró a  $50 \pm 1$  °C y  $17 \pm 1$  min, obteniendo una inhibición mayor al 90 % de la actividad de la PPO y 45 % de la PME, así como una alta capacidad antioxidante (16, 425  $\mu\text{mol ET/L}$ ), un elevado contenido de fenoles totales (3,500 mg EAG/L) y una alta concentración de antocianinas (940 mg Cy-3-Gl/L).

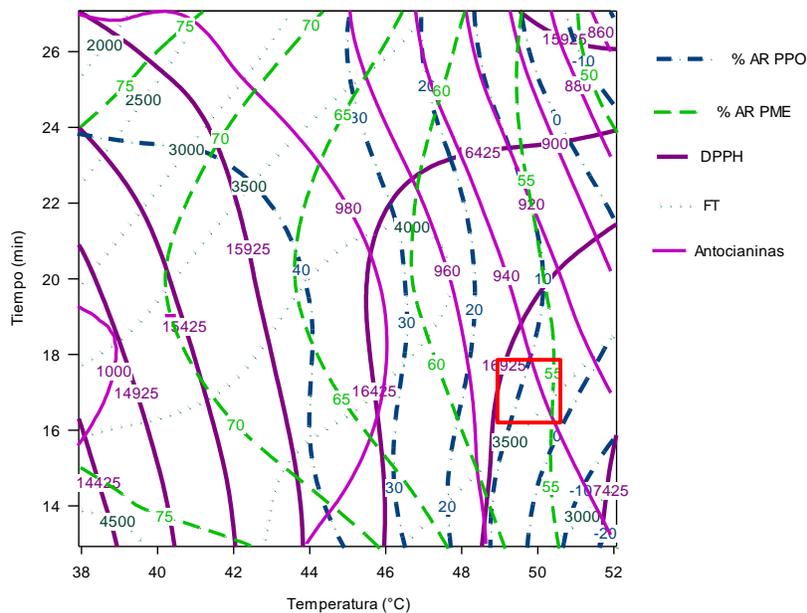


Figura 1. Optimización de las condiciones de termoultrasonido por Superposición de superficies de respuesta

Basado en estos datos, se elaboró un jugo termoultrasonificado bajo la condición óptima obtenida para comprobar la reproducibilidad y se comparó con el jugo pasteurizado.

### Comparación de la condición óptima de termoultrasonido con el jugo pasteurizado

#### Actividad enzimática.

La actividad enzimática de la PME y PPO mostraron una disminución estadísticamente significativa en el tratamiento por termoultrasonido (63.71 de la PME, 98.28 % de la PPO) con respecto a la pasteurización (14.67 y 89.75% respectivamente) (figura 2). La disminución de la actividad enzimática depende de las condiciones de tratamiento, así como de la concentración inicial de la enzima, el pH y la composición del jugo (O'Donnell *et al.*, 2010). La alta inactivación enzimática por termoultrasonido es debida a la sinergia entre la temperatura aplicada y las ondas ultrasónicas, ya que estas últimas provocan mayor vulnerabilidad de las

enzimas al calor, generando desnaturalización proteica, lo que no ocurre con el tratamiento térmico por sí solo (Abid *et al.*, 2014).

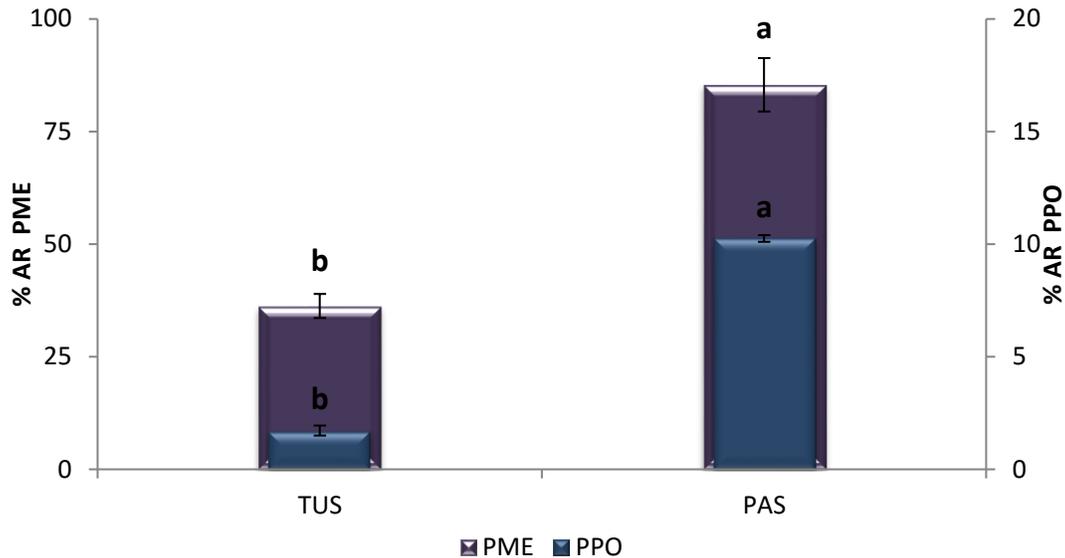


Figura 2. Comparación de la actividad residual (%AR) de las enzimas pectin metilesterasa (PME) y polifenol oxidasa (PPO) del jugo termoultrasonicado (TUS) y pasteurizado (PAS). <sup>a,b,c</sup>Diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Tukey

#### Actividad antioxidante.

Se puede observar en la figura 3, que el jugo de zarzamora termoultrasonicado presentó valores de 13,964.96  $\mu\text{mol ET/L}$  por DPPH, contenido fenoles totales con 3,311.3 mg EAG/L y de antocianinas con 922.55 mg Cy-3-GI/L, mayores significativamente ( $p < 0.05$ ) con respecto al jugo pasteurizado (11,935.04  $\mu\text{mol ET/L}$ , 2,736.6 mg EAG/L y 604.56 mg Cy-3-GI/L). Comparando con el jugo fresco, el jugo termoultrasonicado no presentó diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en la capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales, sin embargo éste presentó mayor concentración de antocianinas. Esto se debe a que el ultrasonido permite mayor liberación de los compuestos antioxidantes, al romper los enlaces que forman con algunos polisacáridos, además durante la sonicación, se elimina el oxígeno del medio tratado, favoreciendo la estabilidad de dichos compuestos (Solomon *et al.*, 1995; Knorr *et al.*, 2004; Abid *et al.*, 2014). Y el aumento de la actividad antioxidante del jugo termoultrasonicado podría estar relacionado con el aumento de las antocianinas, ya que en la técnica, el DPPH reacciona con los fenoles que tienen uno o más grupos  $-\text{OH}$  en el anillo B (Roginsky y Lissi, 2005), como es el caso de las antocianinas.

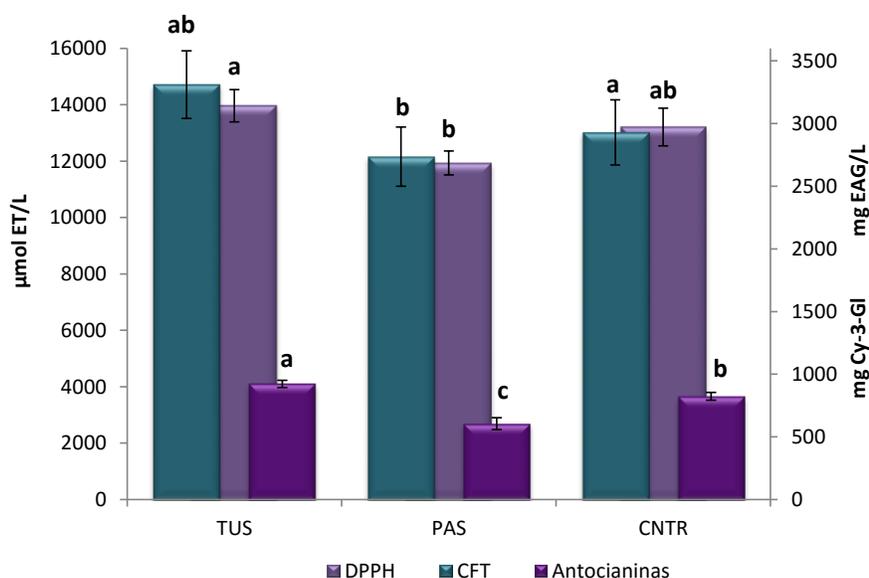


Figura 3. Comparación de la actividad antioxidante, contenido de fenoles totales (CFT) y antocianinas del jugo termoultrasonificado (TUS), pasteurizado (PAS) y control (CNTR). <sup>a,b,c</sup>Diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Tukey

### CONCLUSIONES

El diseño de superficie de respuesta permite obtener las condiciones óptimas para el procesamiento del jugo de zarzamora por termoultrasonido. Con respecto a la comparación de la tecnología convencional (pasteurización) con el termoultrasonido, éste resulta ser mejor en cuanto al mejoramiento de las propiedades antioxidantes y la inactivación enzimática del jugo de zarzamora, por lo que este producto termoultrasonificado brindaría beneficios a la salud de los consumidores.

### BIBLIOGRAFÍA

- Abid M, Jabbar S, Hua B, Hashim MM, Wua T, Lei S, Khan MA y Zeng X. 2014. Ultrasonics Sonochemistry 21: 984–990
- Acosta-Montoya O, Vaillant F, Cozzano S, Mertz C, Perez AM y Castro MV. 2010. Phenolic content and antioxidant capacity of tropical highland blackberry (*Rubus adenotrichus* Schltdl.) during three edible maturity stages. Food Chemistry, 119: 1497–1501
- Adekunte A, Tiwari BK, Scannell A, Cullen PJ y O'Donnell C. 2010. Modelling of yeast inactivation in sonicated tomato juice. Int J Food Mic, 137: 116–120
- Askar A y Treptow H. 1993. Determination of pectinesterase activity. En Quality assurance in tropical fruit processing (pp. 41–45). Berlin, Germany: Springer-Verlag
- Cano MP, De Ancos B y Lobo MB. 1997. Mejoramiento del color de los bananos congelados (*"Musa cavendishii"* cv. 'Enana') mediante blanqueo: relación entre el

- pardeamiento, los fenoles y las actividades de la polifenoloxidasas y la peroxidada. *Zeitschrift fuer Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 60-65
- Cuevas-Rodríguez E. 2011. Evaluación del potencial nutracéutico de zarzamoras silvestres y mejoradas. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Querétaro, México
- Ercan SS. y Soysal C. 2013. Use of ultrasound in food preservation. *Natural Science*, 5 (8A2): 5-13
- Giusti MM y Wrolstad RE. 2001. Characterization and measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. En Ronald E. Wrolstad, *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* (pp )NY: John Wiley & Sons
- Knorr D, Zenker M, Heinz V y Lee DU. 2004. Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends Food Sci. Technol.*, 15: 261–266
- Lee J, Dossett M y Finn E. 2012. Rubus fruit phenolic research: The good, the bad, and the confusing. *Food Chemistry*, 130: 785–796
- Morales FJ y Jiménez-Pérez S. 2001. Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and fluorescence. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 72: 119-125
- O'Donnell CP, Tiwari BK, Bourke P y Cullen PJ. 2010. Effect of ultrasonic processing on food enzymes of industrial importance. *Trends in Food Science & Technology*, 21: 358-367
- Roginsky y Lissi. 2005. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*, 92: 235-254.
- Solomon O, Svanberg U y Sahlström A. 1995. Effect of oxygen and fluorescent light on the quality of orange juice during storage at 8 °C. *Food Chem*. 53:n363–368
- Tiwari BK, Patras A, Brunton N, Cullen PJ y O'Donnell CP. 2010. Effect of ultrasound processing on anthocyanins and color of red grape juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17: 598–604
- Vidal –Fonteles T, Maia-Costa MG, Tibério- de Jesus AL, Alcântara-de Miranda MR, Narciso- Fernandes FA y Rodrigues S. 2012. Power ultrasound processing of cantaloupe melon juice: Effects on quality parameters. *Food Research International* , 48: 41–48