

## Estudio comparativo de dos enzimas pectinolíticas en la licuefacción de la pulpa de copoazú (*Theobroma grandiflorum*) y extracción de fibra dietaria

AGROINDUSTRY ENGINEERING

## Comparative study of two pectinolytic enzymes in the liquefaction of copoazú pulp (*Theobroma grandiflorum*) and extraction of dietary fiber

Jenifer Criollo-Nuñez<sup>1§</sup>, Jorge D. Fonseca-Blanco<sup>2</sup>, Martha DP. Lopez-Hernandez<sup>1</sup>,  
Angelica P. Sandoval-Aldana<sup>3</sup>, Dagoberto Criollo-Cruz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria Agrosavia, C.I Nataima, Espinal, Colombia.*

<sup>2</sup>*Universidad Popular del Cesar, Facultad de Ingeniería y Tecnológicas, Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Valledupar, Colombia.*

<sup>3</sup>*Universidad del Tolima, facultad de ingeniería agronómica, departamento de ingeniería agroindustrial. Ibagué, Colombia.*

§ *jcriollo@agrosavia.co, jdfonseca@unicesar.edu.co, mlopezh@agrosavia.co, apsandovala@ut.edu.co, dcriollo@agrosavia.co*

**Recibido:** 7 de septiembre de 2021 – **Aceptado:** 15 de diciembre de 2021

### Abstract

Copoazú (*Theobroma grandiflorum*) is an Amazonian fruit with great economic potential, due to its high nutritional value, being an important source of ascorbic acid and phenolic compounds. Its pulp of high viscosity and acidity makes its industrial processing difficult. The present study aims to evaluate the effect of enzymatic liquefaction with two

### Cómo citar:

Criollo-Nuñez J, Fonseca-Blanco JD, Lopez-Hernandez M, Sandoval-Aldana AP, Criollo-Cruz D. Estudio comparativo de dos enzimas pectinolíticas en la licuefacción de la pulpa de copoazú (*Theobroma grandiflorum*) y extracción de fibra dietaria. *INGENIERÍA Y COMPETITIVIDAD*, 2022; e22011586. <https://doi.org/10.25100/iyc.v24i2.11586>



commercial pectinolytic enzymes (Rapidase® LIQ Plus and Rapidase® Citrus Cloudy) at different temperature conditions (15 to 45 °C) and incubation time (2 to 5 h) on the Physicochemical characteristics of the juice and the technological properties of the copoazú residue, under a response surface design. Juice yields of up to 87.96% were obtained with the Rapidase® LIQ Plus enzyme at 15 °C and during 2 h of incubation, showing the use of hydrolytic enzymes as an ideal biotechnological alternative for the physicochemical and rheological adaptation of the copoazu pulp, with potential positive impact for its implementation in remote areas, where the fruit is produced, eliminating the problems generated by the high viscosity of the pulp. The copoazú residue has a high content of dietary fiber (42.48% on a wet basis). In addition, it presented excellent characteristics such as swelling capacity (CH) (3.85 g of water / g of dry matter) and water retention capacity (CRA) (3.94 g of water / g of dry matter). Consequently, the solid by-product from the enzymatic clarification of copoazú pulp has quality characteristics similar to those registered in commercial fiber additives used by the industry.

**Keywords:** *Enzymatic Liquefaction, Rheological Properties; Physicochemical Properties, Biotechnology, Functional Ingredient.*

## Resumen

El copoazú (*Theobroma grandiflorum*) es un fruto amazónico con gran potencial económico, debido a su alto valor nutricional, siendo una fuente importante de ácido ascórbico y compuestos fenólicos. Su pulpa de alta viscosidad y acidez dificulta su procesamiento industrial. El presente estudio tiene como objetivo evaluar el efecto de la licuefacción enzimática con dos enzimas pectinolíticas comerciales (Rapidase® LIQ Plus y Rapidase® Citrus Cloudy) a diferentes condiciones de temperatura (15 a 45 °C) y tiempo de incubación (2 a 5 h) sobre las características fisicoquímicas del jugo y las propiedades tecnológicas del residuo de copoazú, bajo un diseño de superficie de respuesta. Se obtuvo rendimientos del jugo de hasta 87.96 % con la enzima Rapidase® LIQ Plus a 15 °C y durante 2 h de incubación, mostrando el uso de enzimas hidrolíticas como una alternativa biotecnológica idónea para la adaptación fisicoquímica y reológica de la pulpa de copoazú, con potencial impacto positivos para su implementación en zonas apartadas, donde se produce el fruto, eliminando los problemas generados por la alta viscosidad de la pulpa. El residuo de copoazú tiene un alto contenido de fibra dietaria (42.48% en base húmeda). Además, presentó excelentes características como capacidad de hinchamiento (CH) (3.85 g de agua / g de materia seca) y capacidad de retención de agua (CRA) (3.94 g de agua/ g de materia seca). En consecuencia, el subproducto sólido procedente de la clarificación enzimática de pulpa de copoazú cuenta con características de calidad homologas a las registradas en aditivos comerciales de fibra utilizados por la industria.

**Palabras Clave:** *Licuefacción enzimática, Propiedades reológicas, Propiedades fisicoquímicas, Biotecnología, Ingrediente funcional.*

## 1. Introducción

El copoazú (*Theobroma grandiflorum*) es un árbol nativo de la Amazonía brasileña, de la familia *Malvaceae* la misma del cacao (*Theobroma cacao* L.)<sup>(1)</sup>. El fruto contiene de 20 a 50 granos rodeados de pulpa, que representa hasta el 43% del peso total<sup>(2)</sup>. La pulpa se utiliza para la elaboración de mermeladas, jugos, yogurt, néctares, dulces y helados<sup>(3)</sup>. Los granos son usados para la elaboración de un producto similar al chocolate, conocido como copolate; mientras la manteca, se ha empleado como sustituto de la manteca de cacao y como ingrediente cosmético

<sup>(4)</sup>. Por lo anterior, sumado a su excelente aroma, sabor, textura y alto valor nutricional; el copoazú ha sido catalogado como un fruto promisorio y de potencial económico e industrial<sup>(5)</sup>.

La pulpa de copoazú presenta un pH de 3.4 y su contenido de azúcar es de 10.7 °Brix; posee un alto contenido de ácido ascórbico (96-111 mg/100 g), compuestos fenólicos totales (4.9 – 5.4 mg de catequina/g), actividad antioxidante (26 - 28 µmol eq Trolox/g) y proantocianidinas derivadas principalmente de epicatequina<sup>(6)</sup>. Dichos compuestos químicos se han asociados con la disminución del riesgo de enfermedades como ciertos tipos de cáncer, enfermedades

cardiovasculares, cataratas, degeneración macular y enfermedades neurodegenerativas <sup>(7)</sup>. Es fuente natural de ácidos grasos, especialmente de ácido palmítico, linoleico y  $\alpha$ -linolénico <sup>(2)</sup>. Asimismo, se ha reportado que la fracción de pectina de la pulpa de copoazú es igual al 7%, lo cual es superior comparado con las pectinas de *Citrus depressa* (4.1%) y maracuyá amarilla (2.9%) <sup>(8)</sup>. Una alta concentración de pectina forma una dispersión coloidal, que provoca turbidez durante el procesamiento de zumo de frutas y causa muchas dificultades para filtrar el zumo a una claridad aceptable <sup>(9)</sup>. Debido a esto, la hidrólisis de la pectina es un paso esencial en el procesamiento de productos a base de pulpa <sup>(10)</sup>.

En el proceso de obtención de jugos de frutas se generan subproductos ricos en fibra dietaria <sup>(11)</sup>. La ingesta de esta sustancia tiene efectos positivos para la salud humana debido a que reduce los niveles de colesterol y azúcar en la sangre <sup>(12)</sup>, previene el cáncer de colon y la diabetes <sup>(13)</sup>. A pesar de estos múltiples beneficios, los desechos generados del procesamiento de frutas siguen siendo infrutilizados debido a la falta de tecnologías apropiadas para su valorización eficiente <sup>(14)</sup>. No obstante, algunos subproductos de manzana, remolacha azucarera y de los cítricos se incorporan a los alimentos por sus propiedades nutricionales, funcionales y tecnológicas <sup>(15)</sup>. En el procesamiento de la pulpa de copoazú se genera un subproducto, que es fuente potencial de fibra dietaria, principalmente fibra soluble; el cual puede ser considerado como ingrediente para el desarrollo de alimentos funcionales <sup>(16)</sup>.

Varios estudios han descrito la aplicación de enzimas pectinolíticas en diferentes tipos de frutas como banano <sup>(17)</sup>, mango <sup>(18)</sup> y piña <sup>(19)</sup>. Los resultados de estas investigaciones indican que el uso de pectinasas en el procesamiento de frutas aumenta el rendimiento de extracción de jugo, reduce la viscosidad de la pulpa, incrementa la claridad y el contenido de sólidos solubles del jugo. Para el caso de la extracción del jugo de

copoazú, se destaca el estudio realizado por <sup>(20)</sup>, donde encontraron una menor viscosidad y turbidez en el jugo producido mediante la adición de un extracto de enzima cruda de *Aspergillus japonicus* 586. Sin embargo, hay pocas publicaciones sobre el efecto del tipo de enzima, variaciones de temperatura y tiempo de incubación en el proceso de licuefacción enzimática de la pulpa de copoazú.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de dos preparaciones de enzimas pectinolíticas comerciales, diferentes temperaturas y tiempos de incubación sobre las características fisicoquímicas y reológicas de los subproductos, jugo clarificado de copoazú, capacidad de hinchamiento, capacidad de retención de agua y capacidad de absorción de moléculas orgánicas de los sólidos procedentes del proceso de licuefacción.

## 2. Metodología

### 2.1. Material vegetal

Los frutos de copoazú fueron colectados en estado óptimo de madurez, bajo los lineamientos señalados en la Resolución 1466 del 03 de diciembre de 2014, en el municipio de Belén de los Andaquíes (Caquetá, Colombia); a una altura de 280 m.s.n.m, con temperatura promedio de 28 °C, humedad relativa de 87.2% y precipitación anual de 3,650 mm. Los frutos fueron transportados hasta el Laboratorio de Ciencias Agroalimentarias del Centro de Investigación Nataima de AGROSAVIA (km 9 vía Espinal – Ibagué, departamento del Tolima).

### 2.2. Obtención de pulpa de copoazú

Los frutos fueron lavados, cortados y desgranados de forma manual. La pulpa de copoazú fue obtenida tras un proceso de despulpado mecánico realizado con una despulpadora de frutas con capacidad de 500 kg/h (marca COMEK, Colombia), separando la pulpa de la almendra <sup>(21)</sup>.

### 2.3. Tratamiento enzimático

Las enzimas pectinolíticas comerciales estudiadas fueron Rapidase® LIQ Plus (pectinasa, celulasa y hemicelulasa) y Rapidase® Citrus Cloudy (pectinasa) de DSM (Países Bajos). Se tomaron 320 g de pulpa de copoazú que fue mezclada con una cantidad determinada de enzima en la misma proporción (0.02 % p/p) por cada tratamiento (Tabla 1). Las muestras se agitaron constantemente variando el tipo de enzima (Rapidase® LIQ Plus y Rapidase® Citrus Cloudy

y mezcla de enzimas (Rapidase® LIQ Plus y Rapidase® Citrus Cloudy) en proporción 50:50), tiempo (2, 3.5 y 5 h) y temperatura de incubación (15, 30 y 45 °C). Posteriormente, la enzima se inactivó calentando la suspensión a 90 °C durante 5 min. El jugo obtenido se centrifugó a 10,000 rpm durante 15 min. El sobrenadante se filtró utilizando papel filtro Whatman N° 1, el jugo filtrado y la fibra, subproductos de la licuefacción se utilizaron para análisis posteriores. Todos los tratamientos se realizaron por triplicado.

**Tabla 1.** Tratamientos enzimáticos estudiados

N°	Tiempo (h)	Temperatura (°C)	Enzima
1	5	45	Rapidase® Citrus
2	2	15	Rapidase® LIQ Plus
3	5	15	Rapidase® LIQ Plus
4	2	45	Rapidase® LIQ Plus
5	5	45	Rapidase® LIQ Plus
6	2	15	Rapidase® Citrus
7	2	15	Rapidase® LIQ Plus
8	5	15	Mezcla
9	5	45	Rapidase® LIQ Plus
10	3.5	30	Mezcla
11	2	45	Mezcla

### 2.4. Análisis fisicoquímico del jugo de copoazú

Las muestras de jugo de copoazú se analizaron para determinar su acidez (expresada como porcentaje de ácido cítrico) y sólidos solubles totales (°Brix) mediante los métodos descritos en AOAC (2005) <sup>(22)</sup>. El rendimiento porcentual del jugo se calculó dividiendo el peso de jugo filtrado obtenido por el peso inicial de pulpa para el tratamiento enzimático multiplicado por 100 <sup>(23)</sup>.

### 2.5. Análisis de calidad y preparación del subproducto sólido

El subproducto sólido del proceso de licuefacción de pulpa de copoazú se secó en un horno (GALLENKAMP, UK) a 45 °C por 5 h.

Posteriormente, se trituroó en un molino de cuchillas utilizando un tamiz de 0.5 mm, con el fin de obtener un tamaño de partícula homogéneo que garantice alta solubilidad.

### 2.6. Capacidad de hinchamiento (CH)

Se pesaron 2.0 g de muestra en una probeta graduada, se adicionaron 10 mL de agua destilada y se agitó manualmente durante 5 min. Esta mezcla se dejó en reposo durante 24 h a temperatura ambiente. Posteriormente, se midió el volumen final ( $V_1$ ) (mL) de la fibra <sup>(24)</sup>. La CH se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$CH(mL/g) = \frac{V_1 - V_0}{m_0} \quad (1)$$

Donde  $V_1$  es el volumen de la fibra después de absorber agua (mL),  $V_0$  es el volumen inicial de la fibra (mL) y  $m_0$  representa el peso de la fibra seca (g).

### 2.6.1. Capacidad de retención de agua (CRA).

Se pesaron 0.5 g de muestra en un tubo de centrífuga previamente pesado, se agregaron 10 mL de agua destilada y se agitó durante 10 min. Luego se dejó reposar por 24 h a temperatura ambiente. Después de este tiempo, se centrifugó la muestra a 3,000 rpm durante 10 min, inmediatamente se retiró el sobrenadante y se pesó el sedimento (24). La CRA se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$CRA\left(\frac{g}{g}\right) = \frac{m_1 - m_0}{m_0} \quad (2)$$

Donde  $m_1$  es el peso después de la absorción de agua (g) y  $m_0$  es el peso inicial de la fibra seca (g).

### 2.6.2. Capacidad de absorción de moléculas orgánicas (CAMO)

Se pesaron 0.5 g de muestra en un tubo de centrífuga previamente pesado, se adicionó 10 mL de aceite de girasol comercial y se agitó durante 10 min. Luego se dejó en reposo durante 24 h a temperatura ambiente y se centrifugó a 3,000 rpm durante 10 min; posteriormente, se retiró el sobrenadante y se pesó el sedimento (24). La CAMO se calculó a través de la siguiente ecuación:

$$CAMO\left(\frac{g}{g}\right) = \frac{m_1 - m_0}{m_0} \quad (3)$$

Donde  $m_1$  es el peso de la fibra después de la absorción de aceite (g) y  $m_0$  es el peso de la fibra seca (g).

### 2.7. Diseño experimental

Se generó un diseño experimental que minimizara la varianza de los coeficientes de regresión de primer orden de fracciones de la serie 2k mediante el paquete estadístico Design-Expert software v.13.0.5.0 (Stat Ease Inc., Reino Unido). El análisis de datos se realizó determinado las diferencias en los tratamientos a un nivel del 95% de confianza.

Tabla 2. Tabla resumen diseño experimental

Factores	Rango de trabajo	Variables de respuesta	
		Jugo	Residuo sólido
Tiempo	2 h - 5 h		
Temperatura	15 °C - 45 °C	Rendimiento	Capacidad de hinchamiento (CH)
Tipo de enzima	Rapidase® LIQ Plus	Sólidos	Capacidad de retención de agua (CRA)
	Rapidase® Citrus Cloudy	solubles	Capacidad de absorción de moléculas orgánicas (CAMO)
	Mezcla relación 1:1	Acidez total	

### 3. Resultados y discusión

El rendimiento promedio, contenido de sólidos solubles y acidez titulable del jugo de copoazú extraído enzimáticamente se presentan en la

Tabla 3. El coeficiente de regresión lineal y los resultados para términos lineales y de interacción se muestran en la Tabla 4. El análisis estadístico reveló que el modelo propuesto fue adecuado, con valores de  $R^2$  satisfactorio para todas las

respuestas. Los valores de  $R^2$  para rendimiento, sólidos solubles y acidez titulable fueron 0.8375, 0.8185 y 0.9734, respectivamente.

**Tabla 3.** Efecto del tratamiento enzimático sobre características fisicoquímicas del jugo de copoazú

Tratamiento	Rendimiento (%)	Sólidos solubles (° Brix)	Acidez (% de ácido cítrico)
1	85.78	8.30	2.77
2	84.33	13.20	2.71
3	85.42	12.60	2.70
4	83.96	13.15	2.70
5	74.88	13.95	2.87
6	78.51	12.75	2.59
7	87.96	12.55	2.67
8	86.51	12.20	2.62
9	75.97	13.85	2.85
10	81.78	12.35	2.71
11	79.24	14.25	2.77

**Tabla 4.** Modelo estadístico para la extracción enzimática del jugo de copoazú

Variables	Rendimiento (%)	Sólidos solubles (° Brix)	Acidez (% ácido cítrico)
<b>Factores</b>			
Constante	+87.18061*	+13.21744	+2.6804 *
$x_1$ Tiempo de acción (h)	+0.19198	-0.19535	-3.55260E-003
$x_2$ Temperatura (°C)	+0.084693 *	-7.23514E-003*	-1.39789E-003 *
$x_3$ Enzima	-0.21372	-8.25581E-004	-8.90513E-004 *
$x_1 \times x_2$	-0.087098	+8.73385E-003	+9.21428E-004 *
$x_1 \times x_3$	+0.066936 *	-5.00000E-003	-5.05444E-004 *
$x_2 \times x_3$		+5.66667E-004	+6.68820E-005 *
$R^2$	0.8375	0.8185	0.9734

\* Significativo al 95% de confianza

### 3.1. Efecto del tratamiento enzimático sobre el rendimiento de extracción del jugo de copoazú

El modelo estadístico reveló que el rendimiento se relacionó positivamente con el efecto lineal de la temperatura ( $p < 0.05$ ) (Tabla 4). También, se observó que existe un efecto de interacción entre

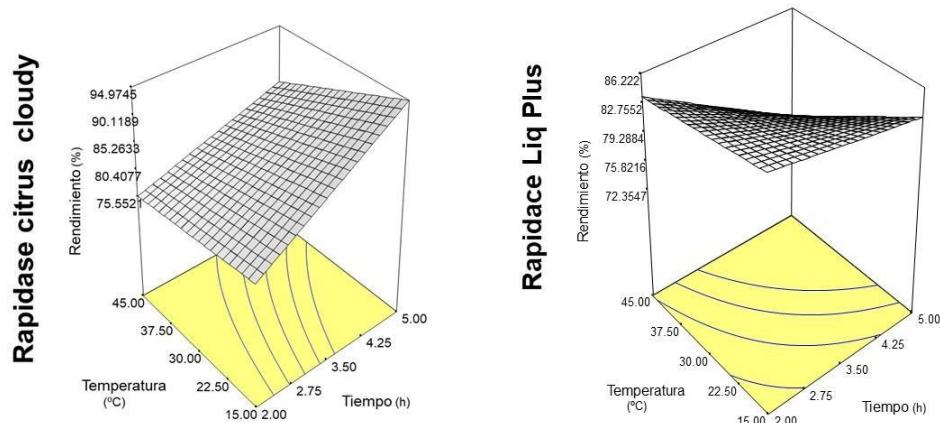
el tiempo de incubación y el tipo de enzima ( $p < 0.05$ ). Autores como <sup>(20)</sup>, reportaron un alto rendimiento (94%) de jugo de copoazú utilizando un tratamiento enzimático con extracto crudo de enzima producida por *Aspergillus japonicus* 586, temperatura de 50°C y tiempo de incubación de 1 h. El aumento en el rendimiento del jugo se



atribuye a la hidrólisis de la pectina que conduce a la reducción de la capacidad de retención de agua de la pulpa, por lo que el agua se libera en el sistema <sup>(25)</sup>.

En la Figura 1, la superficie de respuesta del tratamiento enzimático sobre el rendimiento de extracción del jugo de copoazú muestra un comportamiento ascendente con el tiempo de incubación; para la enzima Rapidase® Citrus Cloudy. Los hallazgos de <sup>(17)</sup> son comparables con el resultado del presente estudio quienes informaron que el rendimiento del jugo de banana aumenta hasta cierto nivel en el tiempo de incubación. La temperatura y el tiempo de incubación aumentan la actividad enzimática al aumentar la energía cinética dentro de las moléculas y acelera la reacción <sup>(26)</sup>. Los

principales componente de la pared celular primaria de pulpas de frutas y vegetales son polisacáridos como celulosa, hemicelulosa, pectinas y agua; el efecto del tiempo de incubación y temperatura fue diferente con la enzima Rapidase® LIQ Plus al mostrar poca influencia en el rendimiento, esto generado por la presencia de enzimas de tipo pectinasa, hemicelulasa y celulasa en este preparado enzimático, que permite diferentes interacciones de los sitios activos de la enzima con la pared celular de la pulpa de copoazú, disminuyendo la energía del estado de transición y una menor energía de activación de las reacciones catalizadas. Los resultados de este estudio indican que la adición de enzimas pectinolíticas aumenta el rendimiento de extracción del jugo de copoazú.



**Figura 1.** Superficie de respuesta del tratamiento enzimático sobre el rendimiento de extracción del jugo de copoazú.

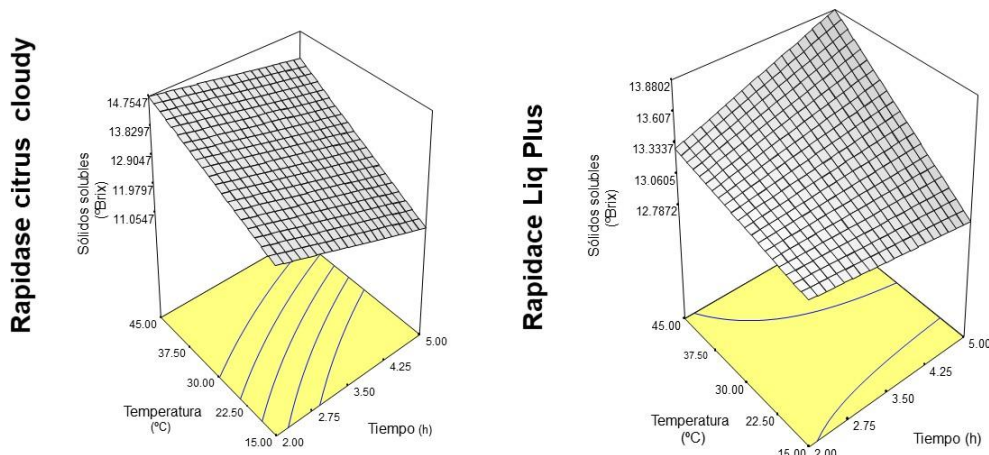
### 3.2. Efecto del tratamiento enzimático sobre el contenido de sólidos solubles totales del jugo de copoazú.

El tratamiento enzimático aumenta el contenido de sólidos solubles totales (SST) de jugo de diversas frutas. La Tabla 3 muestra que el

contenido de SST del jugo osciló entre 8.30 y 14.25 °Brix, siendo el valor más alto con la mezcla de enzimas, a 45 °C y 2 h de incubación; lo cual está relacionado con un mayor grado de degradación de los tejidos, que liberan más compuestos como azúcares y ácidos <sup>(9)</sup> y la presencia de varias enzimas en diferentes

combinaciones aumenta el contenido de SST del jugo <sup>(25)</sup>. Singh et al. <sup>(27)</sup> utilizaron una mezcla de enzimas (Pectinex Ultra SP. L, Celluclast y Rapidase C. PE) para la licuefacción enzimática del jugo de mango por 2 h a 40 °C. El contenido de SST final (15.4 °Brix) del jugo de mango fue mayor comparado con el contenido de SST inicial (14.4 °Brix) del proceso. En la Figura 2, se presenta el efecto de la interacción de la temperatura y tiempo de incubación sobre el contenido de SST con la preparación enzimática Rapidase® LIQ Plus y Rapidase® Citrus Cloudy. Con la primera enzima, se encontró el mayor contenido de SST a alta temperatura (45 °C) y tiempo de incubación (5 h), tiempo superior al sugerido por la casa comercial quien reporta hasta 3 horas de acción, a temperatura entre 10 y 55 °C y que están altamente influenciadas por las condiciones bioquímicas de la pulpa. De forma

similar, el máximo contenido de SST utilizando Rapidase® Citrus Cloudy se alcanzó al mismo nivel de temperatura, siendo un factor determinante en la velocidad de reacción. Sin embargo, las fluctuaciones térmicas y temperaturas fuera del rango tolerable de las enzimas, puede afectar los enlaces químicos en el sitio activo y evitar la unión con los sustratos. No obstante, el mejor tiempo de incubación fue de 2 h. Los resultados muestran que la temperatura de 45 °C provocó un aumento del contenido de SST en todos los tratamientos enzimáticos. También, el tiempo de incubación fue importante en el proceso de licuefacción enzimática. Sin embargo, el comportamiento varió según el preparado enzimático, debido al tipo de enzimas presente en cada uno y la especificidad del sitio activo para unirse con la molécula objetivo del sustrato <sup>(9)</sup>



*Figura 2. Superficie de respuesta del tratamiento enzimático sobre el contenido de sólidos solubles del jugo de copoazú*

### 3.3. Efecto del tratamiento enzimático sobre la acidez titulable del jugo de copoazú

Los contenidos de acidez titulable del jugo de copoazú variaron entre 2.59 % y 2.87 % (Tabla 3). El aumento en la acidez titulable debido al

tratamiento enzimático fue reportado previamente para copoazú y otras variedades de frutas (18,20). Esto puede atribuirse a la liberación de grupos carboxilo de las moléculas pécticas <sup>(27)</sup>. La Tabla 4 muestra que la acidez titulable se relacionó



negativamente con los efectos lineales de temperatura ( $p < 0.05$ ) y tipo de enzima ( $p < 0.05$ ). Mientras que los efectos de interacción entre temperatura y tiempo de incubación y entre la temperatura y tipo de enzima fueron positivos ( $p < 0.05$ ). Los gráficos de interacción entre la temperatura y tiempo de incubación sobre la acidez titulable del jugo con las enzimas Rapidase® LIQ Plus y Rapidase® Citrus Cloudy se muestran en la Figura 3. Con la primera enzima, se obtuvo mayores valores de acidez titulable al ser sometida a tiempos de incubación prolongada (5 h). El pH de la pulpa puede afectar la función enzimática y catálisis de las reacciones. El rango de pH sugerido para las enzimas evaluadas se encuentra entre 3 y 5, la pulpa de copoazú registro valores promedio de pH antes de ser tratada

enzimáticamente de 3,22, muy cercana al límite de acidez volátil, que pueden afectar la unión de los sitios activos de las enzimas con el sustrato, prolongando los tiempos de proceso o incluso evitando la generación de productos por la desnaturalización de las enzimas<sup>(8)</sup>. En contraste, el tratamiento enzimático con Rapidase® Citrus Cloudy mostró el máximo valor de acidez titulable a bajo nivel de tiempo de incubación (2 h). En ambos tratamientos enzimáticos se presentaron mayores valores de acidez a 45 °C. Desde el punto de vista del procesamiento, la acidez contribuye al desarrollo del sabor manteniendo una proporción adecuada de azúcar y ácido; y ayuda a actuar como un conservante suave<sup>(28)</sup>.

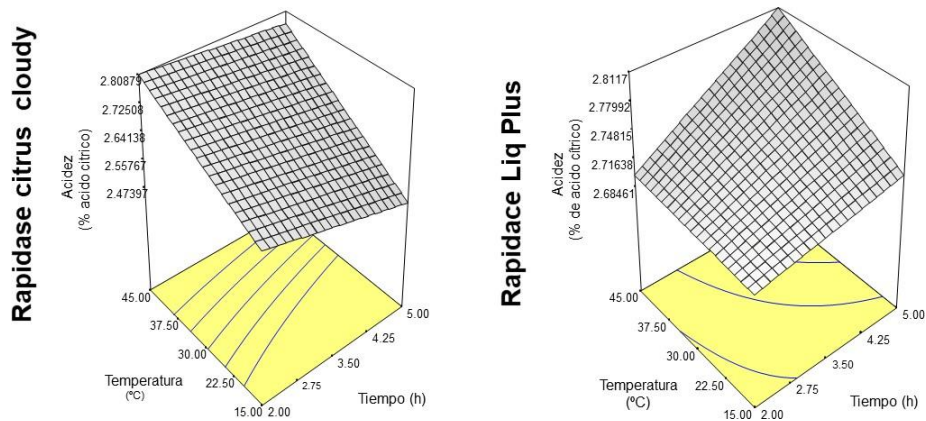


Figura 3. Superficie de respuesta del tratamiento enzimático sobre el contenido de acidez total del jugo de copoazú

### 3.5. Análisis de calidad de la fibra

El subproducto sólido extraído de los tratamientos enzimáticos de la pulpa de copoazú fue utilizado para determinar las características de calidad, obteniendo un porcentaje de fibra dietaria total de 42.48% en base húmeda. Lo cual es superior comparado con la fibra dietaria total en las

cáscaras de limón (14.0%), el limón pelado (7.34%), el orujo de pera (44%) y kiwi (26%)<sup>(14)</sup>. Por lo anterior, se infiere que el subproducto seco de la licuefacción enzimática del copoazú es fuente de fibra dietaria que puede ser utilizada como ingrediente funcional en productos alimentarios y farmacéuticos.

**Tabla 5.** Resultados de pruebas de calidad realizadas a la porción fibrosa de los tratamientos estudiados.

Tratamiento	CH (g agua/g materia seca)	CRA (g agua/g materia seca)	CAMO (g aceite/g materia seca)
1	3.50	3.94	2.25
2	3.85	1.99	1.78
3	3.55	3.65	1.94
4	2.22	2.94	1.78
5	2.32	3.66	2.25
6	2.04	2.61	1.93
7	2.35	2.85	1.82
8	2.82	3.46	1.97
9	3.55	3.70	1.90
10	3.09	3.48	2.01
11	2.27	2.91	1.76

### 3.5.1. La capacidad de hinchamiento (CH)

La capacidad de hinchamiento registrada en los tratamientos de este estudio presentó el subproducto sólidos de la licuefacción enzimática del tratamiento dos como el de mayor capacidad para aumentar su volumen (3.85 g de agua /g de materia seca) (Tabla 4), encontrándose este valor entre el intervalo registrado para fibras dietarias micropulverizadas de maíz (7.1 g de agua /g de materia seca), avena (2.3 g de agua /g de materia seca) y manzana (3.4 g de agua /g de materia seca) las cuales son utilizadas a nivel industrial como aditivo alimentario <sup>(24)</sup>.

### 3.5.2. La capacidad de retención de agua (CRA)

Se define como la cantidad de agua que es retenida por 1 g de fibras secas en condiciones específicas de temperatura, tiempo de remojo y duración y velocidad de centrifugación <sup>(29)</sup>. La CRA alcanzó valores de hasta 3.94 g de agua / g de materia seca para el tratamiento uno, confirmando la calidad de la fibra estudiada. La capacidad de retención de agua se correlaciona con la cantidad de fibra insoluble y con la

granulometría de los coproductos <sup>(15)</sup>. El residuo de copoazú presentó un mayor CRA comparado con el trigo duro (1.5 – 2.1 g de agua / g de fibra) <sup>(30)</sup>. La alta capacidad de retención de agua (CRA) de residuos agroindustriales confiere propiedades tecnológicas que permite su utilización como ingredientes para reducir calorías, evitar la sinéresis y modificar la viscosidad y textura de los alimentos formulados <sup>(31)</sup>.

### 3.5.3. Capacidad de adsorción de moléculas orgánicas (CAMO)

Es una propiedad tecnológica relacionada con la estructura química de los polisacáridos vegetales y depende de su estructura química y física <sup>(15)</sup>. Los valores obtenidos de CAMO para el subproducto sólido de la licuefacción enzimática de pulpa de copoazú osciló entre 2.25 g de aceite / g de materia seca y 1.76 ml de aceite / g de materia seca según los tratamientos estudiados (Tabla 5), mostrando una baja capacidad de retención de aceite comparado con fibras industriales que alcanzan hasta los 11.7 ml de aceite / g de materia seca. Los resultados de este estudio indican que la fibra dietaría de copoazú tendría poca capacidad para la estabilización de

emulsiones y productos alimenticios ricos en grasas debido a su bajo CAMO <sup>(29)</sup>.

#### 4. Conclusiones

La licuefacción enzimática es una estrategia biotecnológica promisorio para la adaptación fisicoquímica y reológica de la pulpa de copoazú, fácilmente implementadas en zonas apartadas donde se produce el fruto y con potencial impacto positivo, haciendo uso de la enzima Rapidase® LIQ Plus, utilizada a 15 °C y un tiempo de incubación de 2 h. Bajo estas condiciones, se obtuvieron rendimientos de 87.96% y un contenido de sólidos solubles totales de 12.55 °Brix del jugo de copoazú. El subproducto sólido procedente de la clarificación enzimática de pulpa de copoazú mostró altos valores de capacidad de hinchamiento y capacidad de retención de agua comparado con diferentes residuos agroindustriales. Adicionalmente, exhibió baja capacidad de retención de aceite. Los resultados del presente estudio sugieren que este residuo tiene alto potencial para ser usado como aditivo alimentario, específicamente como espesante y gelificante, pero no como estabilizante en alimentos ricos en grasas.

#### 5. Agradecimiento

Este trabajo fue posible gracias al financiamiento otorgado por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR) y la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Agrosavia).

#### 6. Referencias bibliográficas

- (1) Salgado JM, Rodrigues BS, Donado-Pestana CM, dos Santos Dias CT, Morzelle MC. Cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) peel as potential source of dietary fiber and phytochemicals in whole-bread preparations. *Plant Foods Hum Nutr.* 2011 nov;66(4):384–390. <https://doi.org/10.1007/s11130-011-0254-0>
- (2) Ramos S, Salazar M, Nascimento L, Carazzolle M, Pereira G, Delforno T, et al. Influence of pulp on the microbial diversity during cupuassu fermentation. *International Journal of Food Microbiology.* 2020;318:108465. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108465>
- (3) Díaz RO, Hernández MS. Theobromas from the Colombian Amazon: A healthy alternative. *Inf Tecnol.* 2020 apr;31(2):3–10. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642020000200003>
- (4) Curimbaba TFS, Almeida-Junior LD, Chagas AS, Quaglio AEV, Herculano AM, Di Stasi LC. Prebiotic, antioxidant and anti-inflammatory properties of edible Amazon fruits. *Food Biosci.* 2020;36:100599. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100599>
- (5) Costa RS da, Santos OV Dos, Lannes SC da S, Casazza AA, Aliakbarian B, Perego P, et al. Bioactive compounds and value-added applications of cupuassu (*Theobroma grandiflorum* schum.) agroindustrial by-product. *Food Sci Technol.* 2020;40(2):401–407. <https://doi.org/10.1590/fst.01119>
- (6) Pugliese AG, Tomas-Barberan FA, Truchado P, Genovese MI. Flavonoids, proanthocyanidins, vitamin C, and antioxidant activity of theobroma grandiflorum (Cupuassu) pulp and seeds. *J Agric Food Chem.* 2013;61(11):2720–2728. <https://doi.org/10.1021/jf304349u>
- (7) Da Silva LMR, De Figueiredo EAT, Ricardo NMPS, Vieira IGP, De Figueiredo RW, Brasil IM, et al. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. *Food Chem.* 2014;143:398–

- 404.<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.001>
- (8) Vriesmann LC, de Oliveira Petkowicz CL. Polysaccharides from the pulp of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*): Structural characterization of a pectic fraction. *Carbohydr Polym*. 2009 may;77(1):72–79. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.12.007>
- (9) Sharma HP, Patel H, Sharma S. Enzymatic extraction and clarification of juice from various Fruits. *Trends Post Harvest Technol*. 2014;2(1):1–14.
- (10) Sobini N, Wickramasinghe I, Subajini M. Process optimization of pectinase enzyme in Palmyrah fruit pulp for clarification. *Int J Food Sci Nutr Int*. 2018 sep;3(5):178–181.
- (11) Macagnan FT, Santos LR Dos, Roberto BS, De Moura FA, Bizzani M, Da Silva LP. Biological properties of apple pomace, orange bagasse and passion fruit peel as alternative sources of dietary fibre. *Bioact Carbohydrates Diet Fibre*. 2015 jul;6(1):1–6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcdf.2015.04.001>
- (12) Dhingra D, Michael M, Rajput H, Patil RT. Dietary fibre in foods: A review. *J Food Sci Technol*. 2012 jun;49(3):255–266. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0365-5>
- (13) Kaczmarczyk MM, Miller MJ, Freund GG. The health benefits of dietary fiber: Beyond the usual suspects of type 2 diabetes mellitus, cardiovascular disease and colon cancer. *Metabolism*. 2012 aug;61(8):1058–1066. <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2012.01.017>
- (14) Hussain S, Jõudu I, Bhat R. Dietary fiber from underutilized plant resources-A positive approach for valorization of fruit and vegetable wastes. *Sustainability*. 2020;12(13):5401. <https://doi.org/10.3390/su12135401>
- (15) Martínez R, Torres P, Meneses MA, Figueroa JG, Pérez-Álvarez JA, Viuda-Martos M. Chemical, technological and *in vitro* antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. *Food Chem*. 2012 dec;135(3):1520–1526. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.057>
- (16) Sagar NA, Pareek S, Sharma S, Yahia EM, Lobo MG. Fruit and Vegetable Waste: Bioactive Compounds, Their Extraction, and Possible Utilization. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2018;17(3):512–531. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12330>
- (17) Tapre AK, Jain RK. Optimization of an enzyme assisted banana pulp clarification process. *Int Food Res J*. 2014;21(5):2043–2048.
- (18) Sakhale BK, Pawar VN, Gaikwad SS. Studies on effect of enzymatic liquefaction on quality characteristics of Kesar mango pulp. *Int Food Res J*. 2016;23(2):860–865.
- (19) Mohammadi M, Rezaei Mokarram R, Shahvalizadeh R, Sarabandi K, Lim LT, Hamishehkar H. Immobilization and stabilization of pectinase on an activated montmorillonite support and its application in pineapple juice clarification. *Food Biosci*. 2020 aug;36:100625. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100625>
- (20) Teixeira MFS, Andrade JS, Fernandes OCC, Durán N, Lima Filho JL De. Quality attributes of cupuaçu juice in response to treatment with crude enzyme extract produced by *Aspergillus japonicus* 586. *Enzyme Res*. 2011;2011:494813. <https://doi.org/10.4061/2011/494813>

- (21) Criollo J, Criollo D, Sandoval Aldana A. Fermentación de la almendra de copoazú (*Theobroma grandiflorum* [Willd. ex Spreng.] Schum.): evaluación y optimización del proceso. *Corpoica Cienc y Tecnol Agropecu.* 2010;11(2):107–115.
- (22) A.O.A.C. Official methods of analysis of the AOAC International. 18ª edición. Gaithersburg: Estados Unidos; 2005.
- (23) Chauhan SK, Tyagi SM, Singh D. Pectinolytic liquefaction of apricot, plum, and mango pulps for juice extraction. *Int J Food Prop.* 2001;4(1):103–109. <https://doi.org/10.1081/JFP-100002190>
- (24) Valencia G F, Román M M. Caracterización fisicoquímica y funcional de tres concentrados comerciales de fibra dietaria. *Vitae.* 2006;13(2):54–60.
- (25) Sharma HP, Patel H, Sugandha. Enzymatic added extraction and clarification of fruit juices—A review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2016;57(6):1215–1227. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.977434>
- (26) Saxena D, Sabikhi L, Chakraborty SK, Singh D. Process optimization for enzyme aided clarification of watermelon juice. *J Food Sci Technol.* 2014 oct;51(10):2490–2498. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0720-1>
- (27) Singh NI, Dhuique-Mayer C, Lozano Y. Physico-chemical changes during enzymatic liquefaction of mango pulp (cv. Keitt). *J Food Process Preserv.* 2000;24(1):73–85. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2000.tb00406.x>
- (28) Yusof S, Ibrahim N. Quality of soursop juice after pectinase enzyme treatment. *Food Chem.* 1994;51(1):83–88. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(94\)90052-3](https://doi.org/10.1016/0308-8146(94)90052-3)
- (29) Elleuch M, Bedigian D, Roiseux O, Besbes S, Blecker C, Attia H. Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chem.* 2011 jan;124(2):411–421. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.077>
- (30) Esposito F, Arlotti G, Bonifati AM, Napolitano A, Vitale D, Fogliano V. Antioxidant activity and dietary fibre in durum wheat bran by-products. *Food Res Int.* 2005 dec;38(10):1167–1173. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.05.002>
- (31) Grigelmo-Miguel N, Martín-Belloso O. Characterization of dietary fiber from orange juice extraction. *Food Res Int.* 1998 jun;31(5):355–361. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(98\)00087-8](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(98)00087-8)