

EVALUACIÓN DEL PRETRATAMIENTO ENZIMÁTICO EN EL PROCESO DE FILTRACIÓN DE JUGO DE MANGO BOCADO

TONNY GARCÍA-RUJANO¹, ALEXIA TORRES², JUAN FERNÁNDEZ MOLINA³ Y JOSÉ MARTÍNEZ³

¹Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. Lara – Venezuela. tonnygarcia@ucla.edu.ve Apdo 400 Barquisimeto. 0251-2591630

² Universidad Simón Bolívar. Miranda – Venezuela. atorres@usb.edu.ve

³Universidad Experimental de los Llanos Occidentales Ezequiel Zamora. Cojedes - Venezuela. juanfermol@gmail.com

Recibido: marzo 2014

Recibido en forma final revisado: diciembre 2014

RESUMEN

Cuando se filtran jugos de frutos ricos en pulpa, los polisacáridos presentes en las paredes celulares, como pectina, celulosa, lignina y hemicelulosa, son responsables de la formación de sólidos que se depositan sobre la superficie filtrante, denominada colmataje. En tales casos, estos polisacáridos se hidrolizan mediante enzimas, para mejorar el proceso de filtrado. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la concentración de enzima y el tiempo de incubación sobre las variables de clarificación en un jugo de mango bocado, obtenido por filtración a vacío de 0,5 cmHg utilizando como medio filtrante papel Whatman N° 1. Las respuestas estudiadas fueron: la filtrabilidad, sólidos solubles totales (SST), turbidez, absorbancia y el rendimiento del filtrado (RF). Para la obtención de los tratamientos del ensayo se aplicó el diseño de superficie de respuesta para dos factores: concentración de enzima y tiempo de incubación a cinco niveles con una repetición del ensayo, para un total de 24 unidades experimentales. Los resultados muestran un aumento en la filtrabilidad, los SST y el RF al incrementar la concentración de enzima de 100 – 1000 mg*L⁻¹. La interacción enzima-tiempo (IET) causó un efecto altamente significativo en las variables de estudio y demostró que a medida que se incrementa la IET aumenta la filtrabilidad y SST en el permeado. Un comportamiento contrario se observó en la absorbancia, turbidez y el rendimiento, las cuales eran inversamente proporcionales a la IET.

Palabras clave: clarificación, co-optimización, pectinasa, turbidez, colmatación

PRETREATMENT EVALUATION OF ENZYMATIC PROCESS FILTRATION IN A MANGO BOCADO JUICE

ABSTRACT

When juices rich in fruit pulp are filtered, the polysaccharides present in the cell walls, such as pectin, cellulose, hemicellulose and lignin, are responsible for the formation of a layer called clogging. In such cases, these polysaccharides are hydrolyzed by enzymes to improve filtering. The objective of this study was to evaluate the effect of enzyme concentration and incubation time on clarification variables of mango bocado juice, which was obtained by vacuum filtration equipment 0.5 cmHg using as medium Whatman filter paper No. 1. The responses studied were filterability, total soluble solids (TSS), turbidity, absorbance and performance of the filter (PF). For obtaining the trial treatments, a response surface design was applied to two factors: enzyme concentration and time of incubation, with five levels each and one repetition of the assay for a total of 24 experimental units. The relevant results were: that increasing the enzyme concentration from 100 - 1000 mg*L⁻¹, filterability, TSS and performance in filtered mango bocado juice was increased. The enzyme - time interaction (IET) caused a highly significant effect on the study variables and showed that as the EIT increases filterability and increased SST in the permeate, opposite behavior was visualized in absorbance, turbidity and performance, which were inversely proportional to the IET.

Keywords: clarification, co-optimization, pectinase, turbidity, colmatation

INTRODUCCIÓN

Mangifera indica L., conocido comúnmente como mango, es un árbol siempre verde de tamaño de mediano a grande que típicamente crece a una altura de 25 m con una copa redondeada y muy densa, con hojas verde oscuro y un tronco robusto con corteza gruesa y áspera. La parte comestible del fruto constituye el 60-75% del mismo y su componente mayoritario es el agua (84%). El contenido en azúcar varía entre el 10-20% y el contenido en proteínas es del 0,5%. El ácido predominante es el ácido cítrico, aunque también se encuentran los ácidos málico, succínico, urónico, tartárico y oxálico en menores cantidades.

El mango es una de las frutas sub-utilizadas a escala industrial. Garrido *et al.*, (2013), manifestaron que el bajo consumo e industrialización del mango se debe en parte a factores como: las altas pérdidas por mal manejo postcosecha, que se acercan al 30% y el atraso tecnológico del sector agroindustrial para la transformación, además existe poca diversificación de productos a base de este importante rubro (García-Rujano y Torres, 2011). Su aprovechamiento agroindustrial se ha limitado al desarrollo de productos artesanales, como jaleas, mermeladas, licores, encurtidos de mango verde y pulpa concentrada (Ávila *et al.*, 2010).

Cuando se procesan jugos de fruta de alta viscosidad (como mangos, guanábana, lechosa entre otros), los polisacáridos presentes en las paredes celulares, (pectina, celulosa, lignina y hemicelulosa), y los demás componentes de alto peso molecular durante el proceso de filtración, causan ensuciamiento de la membrana y consecuente declinación del flujo de permeado.

Bejarano *et al.*, (2011) afirman que para lograr la degradación de las paredes celulares, las enzimas más usadas son las pectinasas, hemicelulasas y celulasas, aunque García *et al.*, (2014) indican que los mejores resultados para variables de clarificación se logran con complejos enzimáticos comerciales como: Pectinex Ultra SP-L. Sreenath *et al.*, (1995) recomiendan que para el uso de enzimas comerciales se debe tomar en cuenta la facilidad del proceso y el tiempo, midiéndose como resultado el rendimiento y calidad del producto final.

Algunas investigaciones han informado el uso de enzimas pectinasas para despectinar y poder hacer efectiva la clarificación de jugos viscosos, ya que reduce la turbidez (Londbo y Meyer, 2007; Yassan *et al.*, 2007). Lee *et al.*, (2006) utilizaron concentraciones entre 0,01 – 0,1 % de enzimas comerciales (Pectinex ultra SP-L y amylolytic

enzyme), variando el tiempo (30 – 120 minutos) y la temperatura de incubación (30 – 50°C), encontrando que al incrementar la concentración de enzimas, aumentó la filtrabilidad del jugo de banana en relación de 0,1222 por cada unidad de incremento de concentración de enzima. Mientras que las respuestas de clarificación (Absorbancia), turbidez (NTU) y viscosidad en el permeado, disminuyeron significativamente al incrementar la concentración de enzimas.

Se ha evidenciado que existen muchas oportunidades de mercado para jugos clarificados de alta calidad hechos a base de pulpas de frutas tropicales (Vaillant *et al.*, 2004). Dentro de la gran gama de productos nuevos que se podrían elaborar, se encuentran las bebidas clarificadas como: jugos, néctares y/o concentrados. Para este tipo de alimentos la transparencia y la homogeneidad del producto son dos características esenciales que sólo se pueden obtener mediante la eliminación de los sólidos suspendidos.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la concentración de enzima y el tiempo de incubación sobre las variables de clarificación (filtrabilidad, absorbancia y turbidez) en un jugo de mango bocado.

TÉCNICAS EXPERIMENTALES

Obtención del jugo clarificado de mango

Los frutos de mango bocado fueron recolectados en el sector El Genareño municipio Ricaurte, estado Cojedes y procesados en el laboratorio de ingeniería y tecnología de alimentos UNELLEZ, San Carlos. Se seleccionaron los frutos con base al estado de madurez de consumo, tamaño y apariencia regular y pocos daños mecánicos y fúngicos. El mango se lavó con hipoclorito de sodio (2ppm), se escaldó a 75°C durante 1 minuto en cocina a vapor y luego en una despulpadora semi- industrial se separó la pulpa de la semilla y el epicarpio.

Para la elaboración del jugo de mango se adicionó agua en una relación (p/p) 3:1 (Agua: Pulpa de mango) y se homogeneizó en una licuadora Osterizer de acuerdo a lo sugerido por Watanabe *et al.*, (2006) y Ushikubo *et al.*, (2007) para frutas pulposas. Una vez hecha la dilución, ésta fue subdividida en 12 unidades experimentales de 200 ml por duplicado y se incorporó enzima comercial pectinasa pura (Marca Merck) en un rango de concentración de 100 – 1000 mg de enzima/kg de jugo y se incubó durante un intervalo de tiempo de 30 – 120 min.

Este ensayo fue realizado a temperatura ambiente (aprox.

30 °C) y al terminar el tiempo de incubación, la enzima se inactivó en baño de maría a temperatura de 90 °C durante 5 minutos.

Luego se centrifugó (2000 RPM por 5 min) y la corriente del permeado fue recolectada y posteriormente filtrada a presión de vacío (0,5 cmHg).

El filtrado fue utilizado para realizar los siguientes análisis: filtrabilidad (s^{-1}), sólidos solubles totales (°Brix), turbidez (NTU), absorbancia y el rendimiento del filtrado (g/100g).

Diseño de tratamientos

Se aplicó un diseño central compuesto ortogonal para dos factores con cinco niveles de experimentación, completamente repetido, para un total de 24 unidades experimentales. Las variables independientes fueron: la concentración de enzima comercial (X_1) y el tiempo de incubación (X_2).

Análisis físicos y químicos del jugo de mango “bocado” clarificado

Filtrabilidad: el jugo centrifugado (sobrenadante) fue filtrado en un filtro de papel “Whatman N° 1” usando aspiración de vacío. La filtrabilidad (s^{-1}) fue determinada como la inversa del tiempo transcurrido en filtrar 100 ml de jugo centrifugado, utilizando succión de vacío a través del medio filtrante (Lee *et al.*, 2006).

Clarificación: se determinó por la medida de absorbancia, usando un espectrofotómetro UV-VIS a longitud de onda luz incidente de 660 nm. Se usó como patrón o referencia al agua destilada para calibrar el equipo (Sin *et al.*, 2006).

Turbidez: fue determinada usando un turbidímetro marca Hach modelo 2100P USA y los resultados se expresaron en Nephelometric Turbidity Units (NTU) (Liew *et al.*, 2007).

SST: se usó un refractómetro manual marca ATAGO CO. LTD, (rango de medida 0 - 32°Brix) a 20 °C y se expresó como grados Brix (COVENIN, 1983).

Rendimiento del filtrado: se determinó en porcentaje como el cociente de la masa del jugo sin filtrar y del jugo filtrado multiplicado por cien.

Los análisis estadísticos se realizaron con el software STATISTICA V. 8.0 y JMP versión 6.0. El software Statística se utilizó para obtener los análisis de la varianza (prueba de F) y los coeficientes regresores del modelo

cuadrático, las pruebas de t de student para significancia. El software JMP se utilizó para el proceso de optimización, aplicando procedimientos de perfiles de respuestas múltiples bidimensionales por superposición de las gráficas de contornos y superficies, perfiles de respuestas múltiples (co-optimación) y función de deseabilidad (Floros y Chinan, 1988; Ávila, 2009; Fernández y García-Rujano, 2010). La co-optimización multirespuesta, que fue el mayor interés de esta investigación desde el punto de vista estadístico, consistió en encontrar las mínimas repuestas de clarificación (absorbancia), turbidez y máximas respuestas de filtrabilidad, SST y RF del jugo de mango.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El resumen de los coeficientes estimados para cada modelo poblacional de las respuestas medidas se presenta en la tabla 1. Se observa que el factor concentración de enzima incrementa de manera lineal las respuestas filtrabilidad, absorbancia, turbidez y SST en el proceso de filtrado del jugo de mango bocado, mientras que el tiempo de incubación de la enzima presentó un efecto contrario en estas respuestas. Es decir que a medida que se incrementó el tiempo de incubación en el ensayo, se encontró una disminución estadísticamente significativa en las respuestas antes mencionadas, con la excepción en la variable rendimiento del filtrado, el cual mostró un incremento a medida que transcurrió el tiempo de incubación, este efecto fue del tipo lineal.

Los coeficientes cuadráticos del polinomio (b_{11} y b_{22}) para las respuestas filtrabilidad, absorbancia, turbidez y SST, fueron altamente significativos ($P < 0,01$) en cada factor en estudio, lo cual es indicativo de que existen cambios de segundo orden en el comportamiento de las variables dependientes. La interacción entre la concentración de enzima y el tiempo de incubación resultaron de importancia en las cinco respuestas experimentales; teniendo efecto sinérgico sobre la filtrabilidad, sólidos solubles totales y rendimiento del jugo filtrado, mientras que los valores de absorbancia y turbidez disminuyeron.

Tabla 1. Coeficientes de regresión y R² para las cinco variables dependiente del efecto de la concentración de enzima y tiempo en el jugo de mango bocado clarificado

Coeficientes estimados	Filtrabilidad	Clarificación	Turbidez	SST	Rendimiento filtrado
b ₀	0,386	0,072	36,162	6,300	37,022
b ₁	7,85e-6*	3,63e-4**	0,113**	4,92e-4**	4,32e-3 ^{ns}
b ₂	-6,12e-3**	-1,00e-3**	-0,797**	-1,51e-2**	0,434**
b ₁₁	-1,26e-7**	-2,34e7**	-4,33e-5**	-8,42e-7**	9,89e-7 ^{ns}
b ₁₂	1,54e-6**	-2,33e-6**	-9,76e-4**	9,49e-6**	-6,49e-5*
b ₂₂	3,86e-5**	1,06e-5**	7,30e-3**	8,86e-5**	-2,35e-3 ^{ns}
R ²	97,75	99,35	98,96	89,16	89,40

^{ns}: no significativo al 5 %; *Significativo al 5%; **Significativo al 1%. b₁ y b₁₁: coeficientes estimados lineal y cuadrático del factor concentración de enzima. b₂ y b₂₂: coeficientes estimados lineal y cuadrático del factor tiempo de incubación.

Al confrontar los efectos lineales y de segundo orden encontrados con el interés de la investigación, se estipula lo siguiente: para lograr máximas respuestas en filtrabilidad, sólidos solubles totales y rendimiento de filtrado se debe considerar la concentración de enzimas e interacción enzima-tiempo, ya que éstas incrementan las respuestas citadas. En el caso de minimizar variables relacionadas con la clarificación del jugo como turbidez y absorbancia, se establecería como punto crítico el tiempo de incubación y la interacción de los factores.

Análisis de Superficie de respuesta

Las superficies de respuesta y contornos de las respuestas filtrabilidad, absorbancia, turbidez, SST y rendimiento de filtrado se presentan en la figura 1a, 1b, 1c, 1d y 1e, respectivamente. De las mismas, se visualiza un comportamiento cuadrático característico, lo cual concuerda con lo encontrado en la tabla 1. Adicionalmente no se observan óptimos matemáticos sino regiones operativas. En la figura 1a, se observa un comportamiento de silla de caballo, indicando esto que un factor incrementa la respuesta y que simultáneamente el otro lo reduce. Este fenómeno se detalla con facilidad al estudiar la respuesta filtrabilidad a valores mínimos de tiempo de incubación (30 min): la filtrabilidad tiende a disminuir a medida que se incrementa la concentración de 100 a 1000 mg*L⁻¹ de enzima. Si se trabaja con valores máximos de tiempo, la filtrabilidad incrementa a medida que se aumente la concentración de enzima a adicionar, obteniendo un rango máximo operativo en el orden de 0,265 – 0,280 s⁻¹ (filtrabilidad) al combinar tiempo de incubación en el rango de 112 – 120 min y concentraciones de enzima entre 550 – 1000 mg*L⁻¹.

El mínimo operativo de absorbancia (0,014) se logra con concentraciones altas de enzimas valores próximos a 1000 mg*L⁻¹ y tiempo de incubación en el rango de 90 a 120 minutos. Esta combinación logra un producto final bastante transparente, lo cual no beneficiaría la aceptabilidad futura del producto por el consumidor, ya que el mercado está acostumbrado a observar el color característico de la fruta en el producto envasado. Por lo tanto, los valores adecuados de absorbancia están en el orden 0,05 a 0,08, los cuales se logran con la combinación de rangos intermedios de los factores experimentales. En cuanto al comportamiento de la turbidez del jugo de mango filtrado, se encontró una alta correspondencia con los cambios manifestados en la absorbancia, hallándose una región diminuta al combinar los factores en valores extremos de experimentación (1000 mg*L⁻¹ de enzima con 120 min de incubación) (figura 1c).

En la figura 1d se presenta la superficie de respuesta y contornos del modelo estimado de la respuesta SST. Se denota la existencia de una silla de caballo, adicionalmente se observa que el rango máximo valor de respuesta 6,4 – 6,6 °Brix se obtiene al combinar el tiempo de incubación cercanos a los 120 min. y un amplio rango en el factor concentración de enzima que puede ir desde 550 a 1000 mg*L⁻¹. El rendimiento del filtrado (figura 1e) mostró comportamiento similar a la silla de caballo, encontrando los máximos de interés para la investigación (56-57 %), los cuales se obtienen con el valor central del factor tiempo de incubación (90 Min). No se observó efecto de la concentración de la enzima, es decir, el rango de 100 – 1000 mg*L⁻¹, no afecta al porcentaje de jugo filtrado al final del proceso.

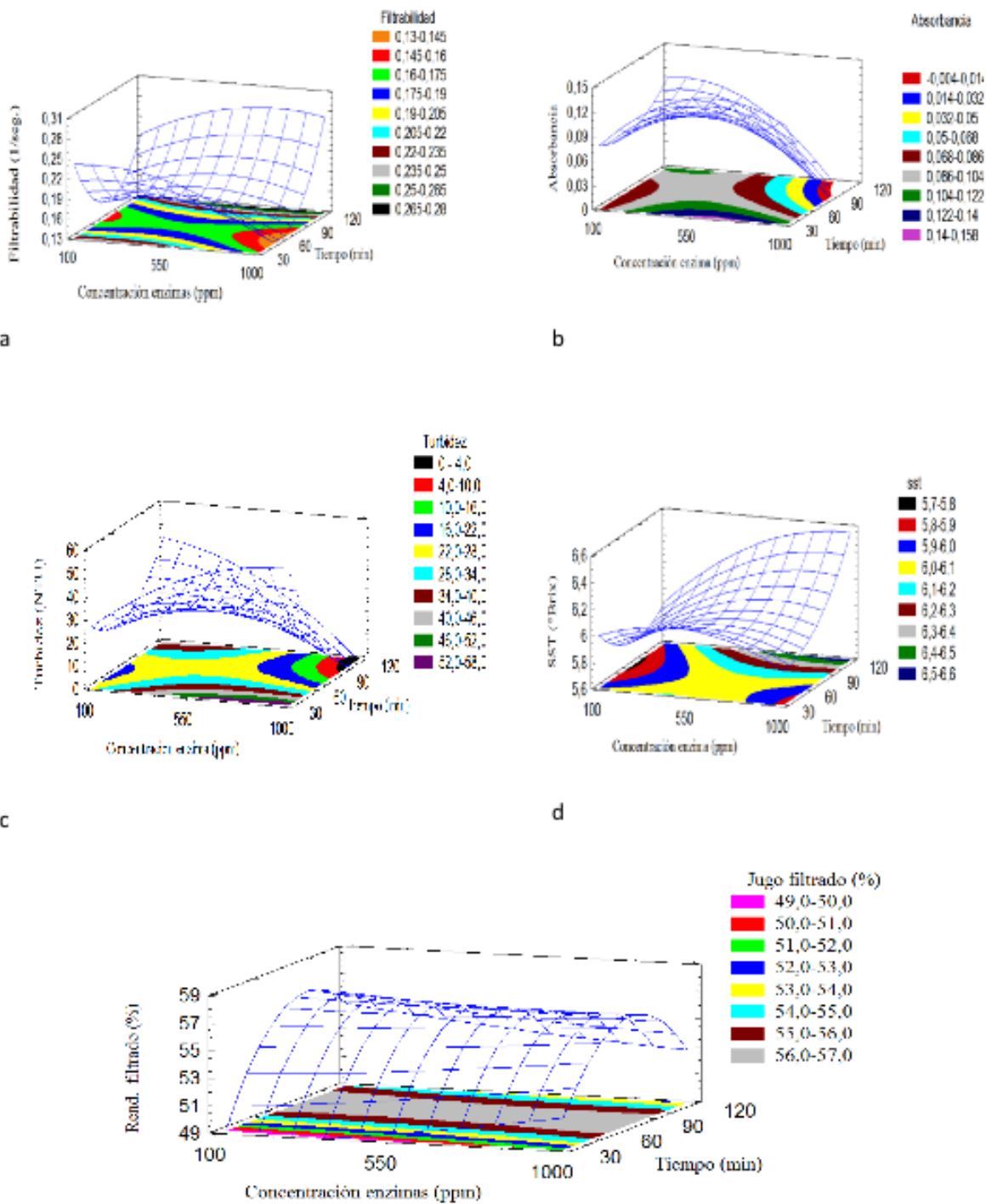


Figura 1. Superficie de respuestas y contornos estimada para las respuestas estudiadas en el filtrado jugo de mango por efecto de la concentración de enzima y tiempo de incubación

Efecto de la concentración de enzima

Al incrementar la concentración de enzima de 100 a 1000 mg*L⁻¹ se observó un aumento en la filtrabilidad, los SST y el RF del jugo de mango bocado. Esto se debe principalmente a que la enzima actúa sobre las sustancias pécticas presentes en el jugo, transformando estas sustancias en compuestos de bajo peso molecular (azúcares simples), los cuales no obstruyen la membrana y pasan junto al permeado, enriqueciendo con mayor contenido de sólidos solubles y ganancia de peso. En un estudio, utilizando microfiltración en el jugo de Jackfruit (*Artocarpus Heterophyllous Lamk*), se evidenció este incremento en los SST en el permeado, atribuyendo el comportamiento a una hidrólisis de los polisacáridos por efecto de la concentración de enzima (Chauhan *et al.*, 2010). Lee *et al.*, (2006) encontraron que al incrementar la concentración de enzimas aumenta la filtrabilidad del jugo de banana en relación de 0,1222 por cada unidad de incremento de concentración de enzima.

En cuanto a las respuestas absorbancia y turbidez, éstas disminuyen significativamente cuando se trabajó con tiempo de incubación superior a los 90 minutos. Lee *et al.*, (2006) encontraron similar efecto en las respuestas clarificación (Absorbancia) y turbidez (NTU). Adicionalmente, Liew *et al.*, (2007) en jugo de tamarindo (carambola) concluyeron que a medida que se aumentó la concentración de enzima (concentraciones cercanas 0,10 %), disminuyeron los valores de absorbancia y turbidez en el jugo. Así mismo, en una fruta viscosa similar al mango bocado, como la Sapidilla (*Achras sapota*) de Malasia, se encontró efecto altamente significativo debido a la concentración de enzimas (Sin *et al.*, 2007).

Efecto del tiempo de incubación enzimática

En general, el tiempo requerido para obtener un jugo clarificado es inversamente proporcional a la concentración de enzima utilizada usando temperatura constante (Cassano *et al.*, 2004; Cassano *et al.*, 2010). Es decir, que no se puede hablar de un efecto separado del tiempo de incubación, sino de la interacción enzima-tiempo, ya que existe una relación proporcional en ambas variables independientes. En este ensayo se encontró que la interacción enzima-tiempo (IET) causó efecto altamente significativo en las variables de estudio y demostró que a medida que se incrementa la IET, aumentaron la filtrabilidad y SST en el permeado. Se visualizó un comportamiento contrario en la absorbancia, turbidez y el rendimiento, los cuales eran inversamente proporcionales a la IET.

Hallazgos similares en jugos procesados presentaron Grassin y Fauquembergue (1999), donde el incremento

de la interacción enzima-tiempo disminuyó la turbidez y absorbancia. La reducción de la concentración de las sustancias pécticas en jugos de frutas pulposas por la acción de la enzima en un tiempo determinado va disminuir variables como: la turbidez y absorbancia en el jugo, pero incrementará la filtrabilidad y SST en el permeado final, debido a que estas serán transformadas en azúcares simples (Ushikubo *et al.*, 2007; Vaillant *et al.*, 2008).

La figura 2, perfiles de predicción (maximización y minimización), muestra las posibles combinaciones de las variables independientes para lograr los parámetros de las repuestas con el grado de deseabilidad requerido. En este estudio una combinación de los niveles de 664 mg*L⁻¹ de concentración de enzima y 115,1 minuto de incubación, obtienen las condiciones de co-optimización multirespuesta con las siguientes características de respuesta: filtrabilidad 0,259 s⁻¹, SST 6,417, absorbancia 0,060, turbidez 22,543 NTU y rendimiento en el filtrado de 54, 617 %, con un nivel de deseabilidad cercano al 84%.

En otro orden, esta técnica permite manejar distintos escenarios de niveles de los factores para incrementar o disminuir simultáneamente las respuestas involucradas. De acuerdo al análisis de las superficies de respuestas y contornos individualizados, las variables estudiadas manifestaron rangos intermedios para la concentración de enzima y valores extremos en el tiempo de incubación.

Adicionalmente, se consideró que durante la posterior clarificación, aplicando microfiltración o ultrafiltración se podrían mejorar las variables filtrabilidad (0,259 s⁻¹) y turbidez (22,543 NTU), las cuales son las más comprometidas con esta combinación (664 ppm enzima y 115,1 tiempo de incubación). Al trabajar con valores intermedios de enzimas (664 mg*L⁻¹) se lograrán reducir los costos por disminución de la concentración de enzimas.

CONCLUSIONES

Al incrementar la concentración de 100 a 1000 ppm de enzima pectinasa se aumentó la filtrabilidad, los SST y el rendimiento en el filtrado del jugo de mango bocado. La interacción enzima-tiempo (IET) presentó efecto en las variables de estudio y se demostró que a medida que se incrementa la IET, aumentan la filtrabilidad y SST en el permeado. Finalmente, se obtuvo que, con una combinación de 664 mg*L⁻¹ de concentración de enzima y 115,1 minutos de incubación, se co-optimizan las siguientes características de filtrado: filtrabilidad 0,259 s⁻¹, SST 6,417, absorbancia 0,060, turbidez 22,543 NTU y rendimiento en el filtrado de 54, 617 %.

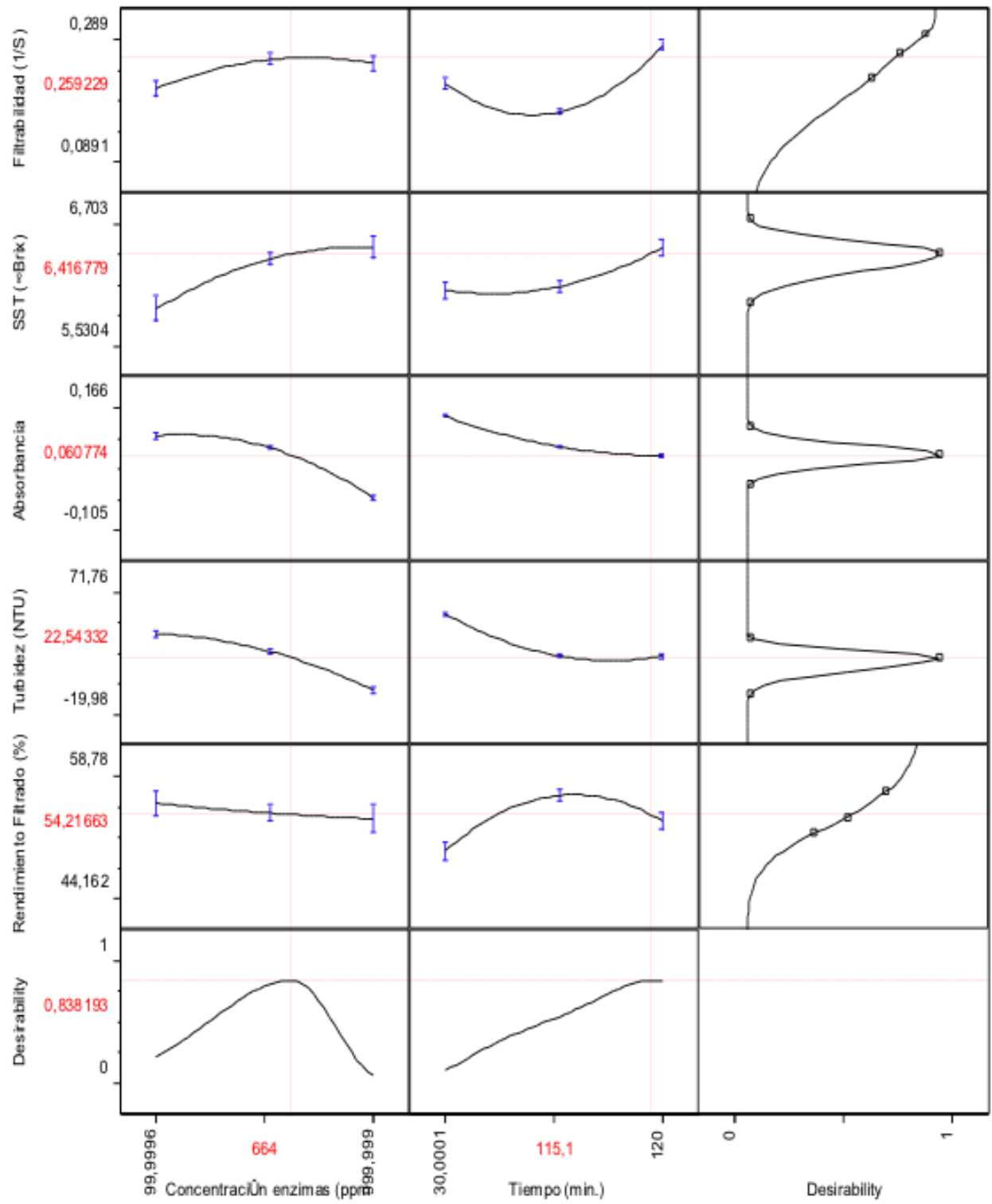


Figura 2. Perfil de predicción dinámica Multirespuestas y multifactor experimental

REFERENCIAS

- ÁVILA, D., ESTÉ, O. Y GARCÍA-RUJANO, T. (2010). Microfiltración para mejorar la calidad de jugos tropicales. Trabajo especial de grado “Ingeniero Agroindustrial. Sin publicar. UNELLEZ-Cojedes, Venezuela. 58 pág.
- ÁVILA, E. (2009). Técnicas gráficas dinámicas de co-optimización, asistida por computadora (TGDCoAC). *AGROLLANIA*. 6: 99 -107.
- BEJARANO, I., QUISPE, S Y MATOS, A. (2011). Licuefacción enzimática en el proceso de extracción de pulpa de fruta. I Congreso Nacional de Investigación – IASD, Universidad Peruana Unión - Lima. 1- 7 pág.
- CASSANO, A., COINDI, C Y DRIOLI, E. (2010). Physico-chemical parameters of cactus pear (opuntia ficus-indica) juice clarified by microfiltration and ultrafiltration processes. *Desalination*. 250: 1101-1104.
- CASSANO, A., JIAO, B Y DRIOLI, E. (2004) Production of concentrated kiwifruit juice by integrated membrane processes. *Food Research Inter*. 37 (2): 139 –148.
- CHAUHAN, A., IBOYAIMA, N., JAGANMOHAN, L., REKHA, M Y RAMTEKE, R. (2010). Physicochemical changes during microfiltration (MF) of jackfruit (*Artocarpus Heterophyllous lamk*) juice. *EJEAFCHE*. 9 (4): 720-734.
- COVENIN (1983). Determinación de sólidos solubles en frutas y derivados. Venezuela: Ministerio de Fomento. Norma No 924-83. 14p
- FERNÁNDEZ, J Y GARCÍA-RUJANO, T. (2010). Vida útil de los alimentos”, Vice – Rectorado de infraestructura y procesos industriales. Publicaciones del área de estudios de postgrado. UNELLEZ - Venezuela. 147 pág.
- FLOROS, J. Y CHINAN, M. (1988). Computer Graphics Assisted Optimization For Product and Process Development”. *Food Technol.*, 42 (2): 72-78,84.
- GARCÍA-RUJANO, T Y TORRES, A. (2011). Caracterización fisicoquímica de la pulpa de mango bocado del sur de Cojedes. XIX Jornadas técnicas de investigación y III de Postgrado del Vicerrectorado de Infraestructura y procesos Industriales San Carlos - Cojedes. 29 – 30 de Noviembre de 2011. *Memorias* 2: 85- 88.
- GARCÍA-RUJANO, T., TORRES, A., ESCOBAR, I Y BETANCOURT, R. (2014). Efecto del proceso de microfiltración tangencial sobre las características físicas y químicas del jugo de mango clarificado. *AGROLLANÍA*. 11: 29 – 36.
- GARRIDO, E., GARCÍA-RUJANO, T., TORRES, A., SANGRONIS, E., CHAPARRO, L Y SÁNCHEZ, L. (2013). Análisis de las características físicas y químicas del fruto de mango (*Mangifera indica* L.) “Bocado” de tres localidades del Estado Cojedes, Venezuela. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 4 (2): 189 – 206.
- GRASSIN, C Y FAUQUEMBERGUE, P. (1999). Enzyme, fruit juice processing”. In M.C. Flickinger y S. W. Drew (Eds), *Encyclopedia of bioprocess technology: Fermentation, biocatalysis, bioseparation*. New York: John Wiley and Sons, Inc. pp 1030 - 1061
- LEE., W, YUSOF, S., HAMID, N Y BAHARIN, B. (2006). Optimizing conditions for enzymatic clarification of banana juice using response surface methodology (RSM). *J. Food Eng*. 73: 55- 63.
- LIEW ABDULLAH, A., SULAIMAN, N., AROUA, M, Y MEGAT MOHD NOOR, M. (2007) Response surface optimization of conditions for clarification of Carambola fruit juice using a commercial enzyme”. *J Food Eng*. 81: 65–71.
- LONDBO, A Y MEYER, A. (2007). Statistically designed two step response surface optimization of enzymatic prepress treatment to increase juice yield and lower turbidity of elderberry juice. *Innovative Food Sci. Emerging Tech*. 8: 135 – 142.
- SIN, H. N., YUSOF, S., SHEIKH ABDUL HAMID, N., & RAHMAN, R. ABD. (2006) “Optimization of enzymatic clarification of sapodilla juice using response surface methodology”. *J. Food Eng*. 73: 313–319.
- SREENATH H, SUDARCHANA K, SANTHANAM K. (1995). Enzymatic Licuefaction of Some Varieties of Mango Pulp. *Journal Technology* 28:196-200
- USHIKUBO, F., WATANABE, A Y VIOTTO, L. (2007) Microfiltration of umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.) juice. *J. Memb. Sci*. 288: 61–66.
- VAILLANT F, PÉREZ A, ACOSTA O Y DORNIER M. (2008).“Turbidity of pulpy fruit juice: A key factor for predicting cross-flow microfiltration performance”. *J. Memb. Sci*. 325: 404-412.

- VAILLANT, F., PÉREZ, A. Y VÍQUEZ, F. (2004). Microfiltración tangencial: una alternativa innovadora para la transformación de frutas tropicales. *La alimentación Latinoamericana* 252: 38-46.
- WATANABE, A., USHIKUBO, F. Y VIOTTO, L. (2006). Evaluation of permeate flux in microfiltration of Tamarind (*Tamarindus indica* L) juice using polypropylene membrane. *Desalination* 200: 337 – 338.
- YASAN H, ZHIJUAN J Y SHUNXIN L. (2007). Effective clarification of apple juice using membrane filtration without enzyme and pasteurization pretreatment. *Sep. Pur. Tech.* 57: 366–373.