

# **EFFECTO DE LA PRESIÓN DE HOMOGENEIZACIÓN SOBRE EL TAMAÑO DE PARTÍCULA Y LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DE LOS ZUMOS DE CÍTRICOS**

E. Betoret, N. Betoret y J.V. Carbonell

## **RESUMEN**

Los efectos beneficiosos del consumo de zumos de cítricos derivan entre otros, de las propiedades antioxidante y antirradical de los flavonoides que contienen. Por otra parte, la homogeneización es una operación que puede ser utilizada en las industrias de zumos de cítricos para mejorar algunos de los factores de calidad de los zumos. En este trabajo se estudió el efecto de la presión de homogeneización en la distribución del tamaño de partícula, el color, turbidez y el contenido en flavonoides de zumos frescos de cítricos permitiendo determinar las condiciones más adecuadas para su aplicación posterior en el desarrollo de frutas frescas funcionales. Los resultados obtenidos mostraron que la presión de homogeneización afecta al tamaño de partícula y al color de los zumos, permitiendo diferenciar grupos de muestras en función de la presión aplicada. El contenido en los flavonoides narirutina y didimina no se vio afectado con la homogeneización, únicamente la hesperidina parece verse afectada.

## **RESUM**

Els efectes beneficiosos del consum de suc de cítrics deriven de les propietats antioxidant i antirradical dels flavonoides que contenen. Per altra part, l'homogenització és una operació que pot ser utilitzada en les indústries de suc de cítrics per a millorar alguns dels factors de qualitat dels suc. En aquest treball s'estudià l'efecte de la pressió d'homogenització en la distribució del tamany de partícula, el color, la turbidessa i el contingut en flavonoides de suc fresc de cítrics permetent determinar les condicions més adequades per a la seua posterior aplicació en el desenvolupament de fruites fresques funcionals. Els resultats obtinguts mostren que la pressió d'homogenització afecta al tamany de partícula i al color dels suc, permeten així diferenciar grups de mostres en funció de la pressió d'homogenització aplicada. El contingut en els flavonoides narirutina i didimina no es va veure afectat amb la homogenització, únicament la hesperidina es veu afectada.

## **ABSTRACT**

Benefits effects in consumption of citrus juices are result of antioxidant and antiradical properties of flavonoids. Furthermore, homogenization can be used as an operation in citrus industries for improving some quality factors of citrus juices. The aim of this work was to study the effect of homogenization pressure on the particle size distribution, colour, cloudiness and flavonoids content of fresh citrus juices to determine the best conditions of juices to be

applied on development of functional fresh fruits. Obtained results show that homogenization pressure has an effect on size particle distribution and colour of citrus juices stablishing different sample groups due to the applied pressure. Content of flavonoids narirutin and didimin was not affected by homogenization, content of hesperidin seems to be affected.

**PALABRAS CLAVE:** flavonoides, tamaño de partícula, turbidez, color, zumos de cítricos y homogeneización

## INTRODUCCIÓN

Los efectos beneficiosos del consumo de frutos cítricos sobre la salud humana se conocen desde hace mucho tiempo. Hoy sabemos que estos efectos beneficiosos derivan de las propiedades antioxidante y antirradical de los componentes de los frutos de cítricos y, en particular, de aquellos que se encuentran en sus zumos.

De todos los componentes de los cítricos con actividad antioxidante y antirradical, los flavonoides son los más estudiados. Su actividad ha sido demostrada tanto *in vitro* (Bocco *et al.*, 1998; Rapisarda *et al.*, 1999; Burda y Oleszek, 2001) como *in vivo*, por lo que exhiben importantes propiedades relacionadas con la salud, tales como antimicrobiana (Bylka *et al.*, 2004), anticancerígena (Benavente-García *et al.*, 1997; Kohno *et al.*, 2001), protección frente a enfermedades coronarias (Hollman *et al.*, 1996) y antiagregación de plaquetas (Middleton *et al.*, 2000). Además es importante hacer énfasis en el hecho de que no se ha descrito ningún efecto fisiológico adverso como consecuencia de la ingesta de este tipo de compuestos.

La narirutina, la hesperidina y la didimina pertenecen al grupo de los glicósidos de flavanona (FGs) y son los flavonoides más abundantes del zumo de mandarina, siendo la hesperidina el que se encuentra presente en mayor cantidad. Poseen actividad antioxidante y parece ser que también actúan sobre el metabolismo de los lípidos. Diferentes estudios han demostrado que la hesperidina es capaz de inhibir el cáncer de mama (So *et al.*, 1996), de vejiga (Yang *et al.*, 1997) y de colon (Tanaka *et al.*, 1997; Miyagi *et al.*, 2000) inducido químicamente en animales de laboratorio.

Los aspectos mencionados permiten identificar el zumo de mandarina como un medio adecuado para el desarrollo de frutas frescas funcionales mediante la técnica de impregnación a vacío (Fito *et al.*, 2000)

En la obtención de los zumos de cítricos se ha de tener en cuenta que la turbidez es un factor de calidad importante. La nube de los zumos de cítricos contiene orgánulos celulares y membranas, partículas cromatóforas, gotas de aceite, cristales de flavonoides y restos de pared celular que contienen pectina, celulosa y hemicelulosa (Baker y Cameron, 1999). El tamaño de estas partículas se encuentra en un rango comprendido entre 400 y 5000nm, siendo más estables las partículas con un tamaño por debajo de 2000nm (Busling & Carter, 1974). La reducción del tamaño de partículas de la nube es una manera fácil de aumentar la turbidez en los zumos cítricos.

La homogeneización es una operación que consiste en la aplicación de presión a líquidos con el objetivo de disminuir el tamaño de las partículas sólidas y las gotas de aceite presentes en los mismos. La homogeneización puede ser utilizada en las industrias de zumos cítricos para mejorar algunos de los factores de calidad de los zumos, tales como la viscosidad (Crandall and Davis, 1991), el color (Lee and Coates, 2004), la turbidez (Baker, 1977), la estabilidad de los sólidos en suspensión (Carle *et al.*, 1998) o el rendimiento en zumo (Lortkipanidze *et al.*, 1972). La homogeneización convierte la pulpa sensible en pulpa de fondo (Kupper *et al.*, 1987), modificando así la percepción del sabor en los zumos de frutas (Marsh *et al.*, 2006).

La homogeneización también puede ser aplicada como operación previa a otras en las que el tamaño de partícula afecta a la eficiencia, al rendimiento del proceso y a los factores de calidad del producto final (procesos de membrana, impregnación a vacío). No se han encontrado referencias bibliográficas acerca del efecto cuantitativo de la homogeneización sobre el tamaño de partícula de los zumos cítricos. Diversas condiciones de homogeneización provocan diferentes distribuciones del tamaño de las partículas que constituyen la nube, afectando en distinto grado a las propiedades físicas de los zumos tratados.

El objetivo del presente trabajo es estudiar el efecto de la presión de homogeneización en la distribución del tamaño de partícula, el color, turbidez y el contenido en flavonoides de zumos frescos de cítricos y determinar las condiciones más adecuadas para su aplicación posterior en el desarrollo de frutas frescas funcionales.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Preparación de las muestras**

Se recolectaron mandarinas Ortanique - un híbrido de tangerina y naranja dulce (*C.sinensis x C.reticulata*) - y naranjas Salustiana (*C. sinensis*) en un campo localizado en Vilamarxant (Valencia) y se utilizaron inmediatamente en la preparación del zumo. Los frutos se lavaron por inmersión, se escurrieron y se exprimieron en un extractor industrial de copas ranuradas (Exzel, Luzzysa, El Puig, Valencia, Spain). El zumo resultante se tamizó utilizando un tamiz de 0,7mm de diámetro, se homogeneizó utilizando un homogeneizador piloto Manton-Gaulin modelo (15M8TBA) a diferentes presiones, se centrifugó en una centrífuga piloto Westfalia que permite recoger una fracción suero del 75% del volumen inicial con un 1% de pulpa y el zumo resultante se pasteurizó a 63°C durante un período de tiempo de 15 segundos, se recogió en tarros de vidrio esterilizados y se congeló inmediatamente a -18°C hasta la realización de los análisis.

### **Brix, acidez y aceites esenciales**

Se midieron los sólidos solubles totales con un refractómetro digital (Pal-1, Atago Co., LTD, Tokio). La acidez total se determinó por valoración con hidróxido sódico 0.1N y se expresó como porcentaje de ácido cítrico. Los aceites esenciales recuperables se determinaron por valoración con bromato de acuerdo con el método Scout (Scout and Veldhius, 1966). Todas las medidas se realizaron por triplicado

### **Pulpa suspendida y turbidez**

Para medir la pulpa suspendida se llenó un tubo de centrífuga de fondo cónico con 10ml de zumo. La muestra se centrifugó a 365g y a 3000g durante 10min a 27°C, y se determinó el volumen del precipitado (FMC

FoodTech, 2005) y la turbidez del sobrenadante. Para la determinación de la turbidez se midió la transmitancia del sobrenadante a 650nm con un espectrofotómetro UV/Visible Ultrospec 3300 pro (Amersham Bioscience, Piscataway, NJ, USA). Todas las medidas se realizaron por triplicado

### Tamaño de partícula

Se determinó el tamaño de partícula mediante el equipo Malvern Mastersizer (Modelo 2000, Malvern Instruments Limited, Worcestershirem, U.K.) que cubre un rango de medida entre 0.02 y 2000 micras y que dispone de una fuente de luz azul de 470nm de longitud de onda. Los valores que se usaron para los índices de refracción de la nube y de la fase dispersa fueron 1.73 y 1.33 respectivamente, y se utilizó 0.1 como índice de absorción de las partículas de la nube (Corredig et al., 2001).

La distribución de tamaño de las partículas obtenida por esta técnica está basada en el volumen, de tal manera que para un rango de tamaño de partícula el valor que se obtiene representa el porcentaje de volumen total de todas las partículas con un diámetro incluido en este rango con respecto al volumen total de las partículas de la distribución.

En el caso de distribuciones monomodales se determinó el diámetro medio de la distribución considerado en volumen ( $D[4.3]$ ) (ec. 1) y el diámetro correspondiente al valor máximo del pico ( $D_{peak}$ ).

$$(D[4,3]= \sum_i n_i d_i^4 / \sum_i n_i d_i^3) \quad \text{ec. (1)}$$

donde  $n_i$  es el número de partículas de diámetro  $d_i$ ,  
Todas las medidas se realizaron al menos por triplicado.

### Color

Se midió el color de las muestras utilizando un colorímetro Hunter, modelo Labscan II siguiendo las indicaciones descritas por Bayarri et al., (2001) utilizando el iluminante D65 y el observador de  $10^\circ$  como referencia. Las muestras se introdujeron en celdas de vidrio óptico de 3.8cm de alto y 6cm de diámetro. Se obtuvieron las coordenadas de color en el espacio CIE  $L^*a^*b^*$  y las coordenadas psicrométricas tono ( $h_{ab}$ ) (ec.2) y croma ( $C_{ab}$ ) (ec.3).  $L^*$  es un indicador de la luminosidad,  $a^*$  indica la cromaticidad en el eje verde (-) a rojo (+) y  $b^*$  la cromaticidad en el eje azul (-) a amarillo(+).  $C_{ab}^*$  es la medida de las saturación o croma de un color y  $h_{ab}^*$  es el ángulo que mide la tonalidad indicando la orientación relativa del color respecto al origen de  $0^\circ$ . También se calculó el parámetro diferencia global de color  $\Delta E$  (ec. 4) que cuantifica la diferencia total de color entre muestras. Todas las medidas se realizaron por triplicado.

$$h_{ab}^* = \arctan(b^*/a^*) \quad \text{ec. (2)}$$

$$C_{ab}^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2} \quad \text{ec. (3)}$$

$$(\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}) \quad \text{ec. (4)}$$

## Flavonoides

Se determinó el contenido de los flavonoides narirutina, hesperidina y didimina mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Para ello, se utilizó un cromatógrafo Waters Alliance 2996 relleno con una columna de fase reversa C18 (250\_4.6mm y 5  $\mu\text{m}$ , Luna II de phenomenex), y provisto de un detector de diodos (DAD).

Para la extracción de los flavonoides, las muestras se centrifugaron a 1400rpm durante 15 minutos a 4°C en una centrífuga Meldifriger S.L, el sobrenadante se filtró utilizando un filtro Whatman N°1. Se hicieron pasar 30ml del filtrado por un cartucho C18, éste se lavó con 5ml de agua y se eluyó con 5ml de agua/acetonitrilo en una proporción 4:6 (v,v). Se recogió el eluido y se le añadieron 250ml de patrón interno (ácido cumárico en una concentración de 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ). La disolución resultante se filtró con un filtro de membrana de nylon Albet con un diámetro de poro 0.45 $\mu\text{m}$ . Finalmente, del filtrado se tomó una alícuota de 1ml de la cual 5 $\mu\text{l}$  se inyectaron en el sistema HPLC.

Se utilizó una disolución de agua/tetrahidrofurano (solvente A) y una disolución de acetonitrilo/tetrahidrofurano (solvente B) como fase móvil. Se trabajó en gradiente con un flujo de 1ml/min. Los flavonoides se detectaron a una longitud de onda de 254nm.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el fin de caracterizar las muestras se determinó el contenido en sólidos solubles, la acidez, el índice de madurez, los aceites esenciales, la pulpa suspendida y el pH. Los resultados se muestran en la tabla 1.

**TABLA 1.** Características de los zumos frescos de cítricos analizados

	Ortanique	Salustiana
<b>Brix</b>	12.9 $\pm$ 0.1	12.7 $\pm$ 0.1
<b>Acidez (%)</b>	1.28 $\pm$ 0.56	1.10 $\pm$ 0.75
<b>Índice madurez (Brix/Acidez)</b>	10.08 $\pm$ 0.32	12.12 $\pm$ 0.51
<b>Aceites esenciales (%)</b>	0.045 $\pm$ 0.003	0.044 $\pm$ 0.004
<b>Pulpa suspendida (%)</b>	25.0 $\pm$ 1.3	16.5 $\pm$ 1.0
<b>pH</b>	3.42 $\pm$ 0.02	3.50 $\pm$ 0.03

En la tabla 2 se muestran los resultados correspondientes a las determinaciones de turbidez y pulpa suspendida. Puede observarse que tanto el volumen de precipitado como la transmitancia del sobrenadante determinados en las muestras centrifugadas a 365g y a 3000g disminuyeron al aplicar una presión de homogeneización sobre el zumo fresco. Si bien puede afirmarse que un aumento en la presión de 0 a 15MPa provoca una mayor disminución del valor de ambas variables, el descenso es mucho más lento para presiones entre 15MPa y 30MPa.

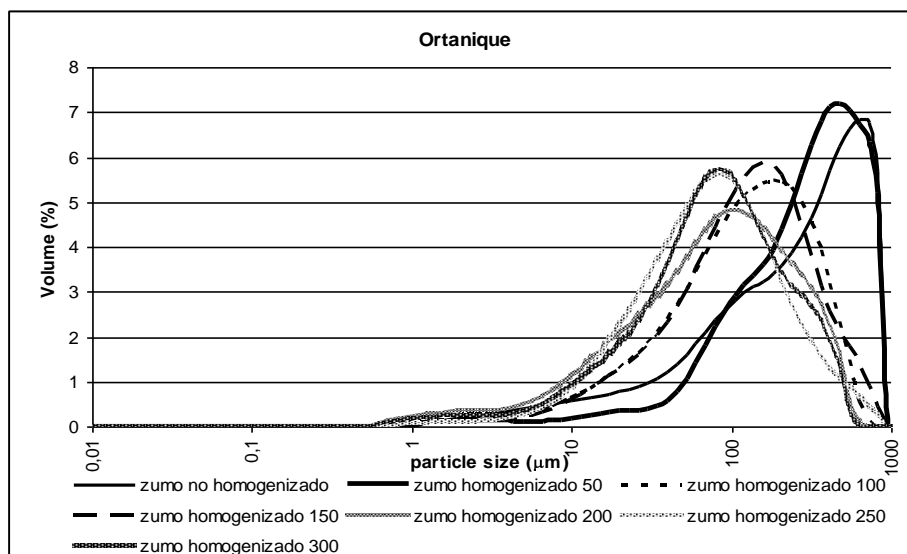
Los bajos valores obtenidos para la transmitancia indican un elevado nivel de turbidez, y por tanto de pulpa suspendida en el zumo, que aumenta al aumentar la presión aplicada en el homogeneizador.

Las diferencias en los valores obtenidos por centrifugación a 365g y a 3000g reflejan la debilidad del procedimiento estándar (365g durante 10min) para evaluar la pulpa suspendida y la turbidez. Los resultados obtenidos a 3000g durante 10min son aproximadamente la mitad de los obtenidos a 365g.

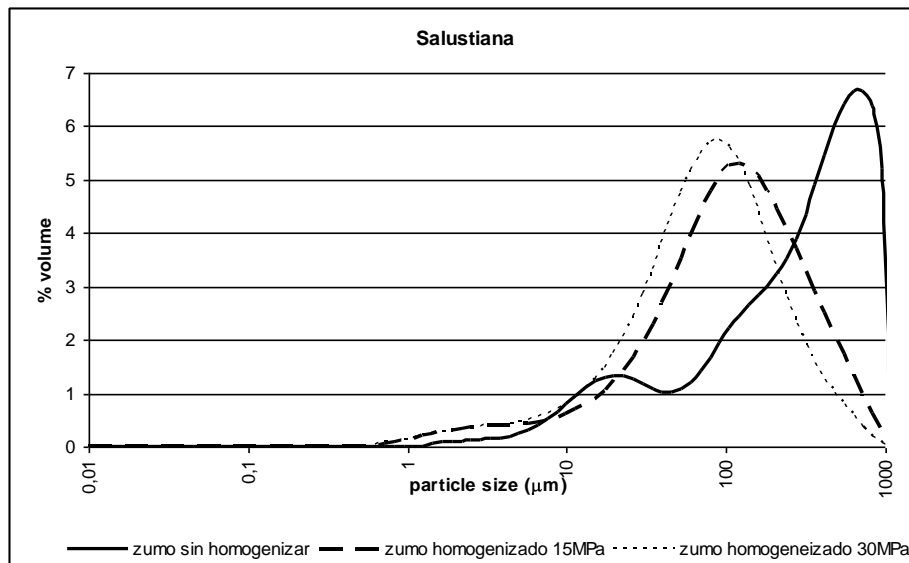
**TABLA 2.** Efecto de la presión de homogenización en la pulpa y la turbidez de los zumos de Ortanique y Salustiana.

		Homogenization pressure						
		0 MPa	5 MPa	10 MPa	15 MPa	20 MPa	25 MPa	30 MPa
<b>Ortanique</b>	Pulp separated (%) by centrifuging at 365g - 10 min	25.0±1.3	20.3±1.0	18.2±1.2	15.5±0.5	14.5±1.0	16.5±1.5	16.0±0.8
	Transmittance (%) of supernatant separated by centrifuging at 365g - 10 min	1.17±0.03	0.56±0.02	0.39±0.02	0.35±0.03	0.35±0.02	0.28±0.02	0.21±0.02
	Pulp separated (%) by centrifuging at 3000g - 10 min	11.2±0.5	10.0±0.5	9.2±0.8	9.0±0.5	8.5±0.5	9.2±0.8	9.0±0.5
	Transmittance (%) of supernatant separated by centrifuging at 3000g - 10 min	7.30±0.04	1.59±0.03	0.67±0.03	0.67±0.03	0.70±0.04	0.55±0.03	0.36±0.03
<b>Salustiana</b>	Pulp separated (%) by centrifuging at 365g - 10 min	16.5	-	-	11.5	-	-	9.5
	Transmittance (%) of supernatant separated by centrifuging at 365g - 10 min	3.54±0.13	-	-	0.23±0.02	-	-	0.13±0.01

Las figuras 1 y 2 muestran las curvas correspondientes a la distribución de tamaño de partícula para zumos de Ortanique no homogenizados y homogenizados a 5, 10, 15, 20, 25 y 30MPa y para zumos de Salustiana no homogenizados y homogenizados a 15 y 30MPa respectivamente. Pueden observarse curvas de picos irregulares extendidas entre 0.5 y 1000µm, con una evolución hacia partículas de menor diámetro a medida que la presión de homogenización aumenta.



**FIGURA 1.** Efecto de la presión de homogenización en el tamaño de partícula de zumos de cítricos



**FIGURA 2.** Efecto de la presión de homogenización en el tamaño de partícula de zumos de cítricos

Los parámetros utilizados para describir el tamaño de partícula de los zumos se muestran en las tablas 3 y 4. Puede observarse que, tanto para el zumo de Ortanique como para el de Salustiana, los valores del diámetro medio de la distribución (D[4,3]) y el diámetro correspondiente al valor máximo del pico ( $D_{peak}$ ) disminuyen al aumentar la presión de homogeneización.

**TABLA 3.** Efecto de la presión de homogenización sobre el tamaño de partícula del zumo de Ortanique.

Presión de homogenización (MPa)	D[4,3]	Dpeak
0	346.3 ± 12.1	710.3 ± 18.5
5	372.1 ± 1.9	503.0 ± 7.8
10	171.01 ± 7.4	206.5 ± 2.5
15	180.6 ± 3.1	166.9 ± 10.8
20	130.3 ± 3.6	114.5 ± 1.7
25	123.2 ± 8.6	90.7 ± 1.3
30	122.9 ± 2.2	90.7 ± 1.2

**TABLA 4.** Efecto de la presión de homogenización en el tamaño de partícula(\*) de zumo de Salustiana.

Presión de homogenización (MPa)	D[4,3]	Dpeak
0	340.3 ± 8.5	552.4 ± 41.8
15	150.1 ± 4.8	95.9 ± 1.4
30	107.7 ± 4.1	70.8 ± 1.0

Con el fin de determinar el nivel de significación de las diferencias observadas en todas las variables en función de la presión de homogeneización, se realizó un análisis simple de la varianza. En el caso de los valores obtenidos a partir de las muestras de zumo de Ortanique, el análisis estadístico puso de manifiesto, con un nivel de confianza del 95%,



que la presión de homogeneización afecta de forma significativa las tres variables consideradas.

**TABLA 5.** ANOVA para D43 según homogeneización

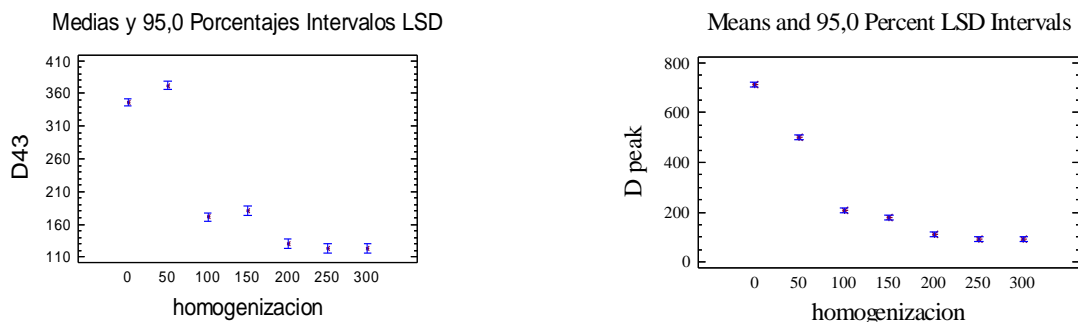
Fuente	Sumas de cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	257065,0	6	42844,2	695,84	0,0000
Intra grupos	1046,72	17	61,5719		
Total (Corr.)	258112,0	23			

**TABLA 6.** ANOVA para D<sub>peak</sub> según homogeneización

Fuente	Sumas de cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	1.05019·10 <sup>6</sup>	6	175032.0	1441.53	0.0000
Intra grupos	1699.89	14	121.421		
Total (Corr.)	1.05189·10 <sup>6</sup>	20			

En el caso del diámetro medio de la distribución (D[4,3]) el análisis pone de manifiesto la existencia de tres grupos de muestras claramente diferenciados. Un primer grupo formado por las muestras de zumo homogenizadas a 0 y 5MPa, un segundo grupo formado por las muestras homogenizadas a 10 y 15MPa y un tercer grupo formado por las muestras homogenizadas a 20, 25 y 30MPa (Figura 2). En el caso del diámetro máximo del pico D<sub>peak</sub> el análisis establece que las muestras de zumo homogenizadas a 0 y 5MPa presentan diferencias significativas entre ellas, manteniéndose el resto dentro de los mismos grupos observados en el caso del diámetro medio de la distribución y permitiendo así diferenciar cuatro grupos de muestras. Un primer grupo formado por las muestras sin homogeneizar, un segundo grupo formado por las muestras homogenizadas a 5MPa, un tercer grupo formado por las muestras homogenizadas a 10 y 15MPa y un cuarto grupo formado por las muestras homogenizadas a 20, 25 y 30MPa.

Tanto para el diámetro medio de la distribución como para el diámetro máximo del pico las mayores diferencias se observan entre las muestras no homogeneizadas y las homogeneizadas a 5MPa con el resto.



**FIGURA 3.** Gráfica intervalos LSD para el D43 y el Dpeak

En el caso de los valores obtenidos a partir de las muestras de zumo de naranja (var. Salustiana), el análisis estadístico puso de manifiesto, con un

nivel de confianza del 95%, que la presión de homogeneización afecta de forma significativa las dos variables consideradas.

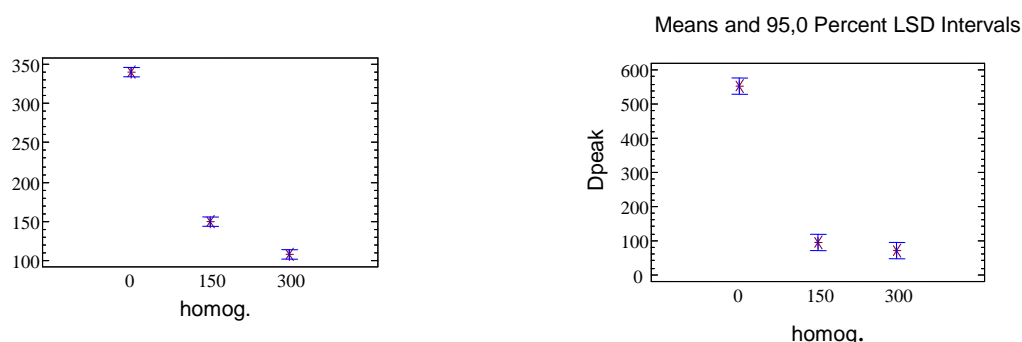
**TABLA 7.** ANOVA para D43 según homogeneización

Fuente	Sumas de cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	92245.3	2	46122.7	1250.27	0,0000
Intra grupos	221.341	6	36.8901		
Total (Corr.)	92466.7	8			

**TABLA 8.** ANOVA para D<sub>peak</sub> según homogeneización

Fuente	Sumas de cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	440985.0	2	220492.0	378.67	0,0000
Intra grupos	3493.68	6	582.28		
Total (Corr.)	444478.0	8			

La figura 4 pone de manifiesto que, igual que ocurre con los resultados de mandarinas Ortanique, hay grandes diferencias entre los resultados que se obtienen entre las muestras no homogeneizadas y las homogeneizadas a 15 o 30MPa, siendo bastante más pequeñas las diferencias entre los resultados que se obtienen a 15 y a 30MPa.



**FIGURA 4.** Gráfica intervalos LSD para el D43 y el Dpeak

Se midió el color de las muestras de zumo sin homogeneizar y las muestras homogeneizadas a distintas presiones. Las Tablas 9 y 10 muestran las coordenadas de color en el espacio CIE L\*a\*b\*, así como las coordenadas psicrométricas croma (C<sub>ab</sub><sup>\*</sup>) y tono (h<sub>ab</sub><sup>\*</sup>) y las diferencias de color (ΔE) con respecto a las muestras de zumo sin homogeneizar, en el zumo de Ortanique y de Salustiana respectivamente. Observando los valores de la tabla, puede afirmarse que la luminosidad (L\*) y la saturación del color (C<sub>ab</sub><sup>\*</sup>) del zumo de Salustiana es mayor que la del zumo de Ortanique. Además, el zumo de mandarina Ortanique tiene un valor de la componente a\* mayor que el zumo de Salustiana y un valor de la componente b\* menor. Esto se traduce en un color más amarillento para el zumo de Salustiana y un color más rojizo para el zumo de Ortanique.

Con el fin de determinar el nivel de significación de las diferencias observadas en las coordenadas de color en función de la presión de homogeneización, se realizó un análisis de la varianza. En el caso de los

valores obtenidos a partir de las muestras de zumo de Ortanique, el análisis estadístico puso de manifiesto, con un nivel de confianza del 95%, que la presión de homogeneización afecta de forma significativa a todas las variables consideradas.

Observando los valores obtenidos para las coordenadas CIE-L\*a\*b\* puede afirmarse que un aumento en la presión de homogeneización hasta valores de 25MPa supone un aumento de las mismas, con la excepción de que el valor de la coordenada a\* a una presión de homogeneización de 20MPa es menor que los valores obtenidos a menores presiones de homogeneización.

Por otra parte, al igual que en casos anteriores, pueden observarse grupos de muestras. Un primer grupo formado por las muestras de zumo homogeneizadas a 0Ma y 5MPa, un segundo grupo formado por las muestras de zumo homogeneizadas a 10MPa, 15MPa, 20MPa y 30MPa y un tercer grupo formado por las muestras de zumo homogeneizadas a 25MPa.

Observando los valores obtenidos para las coordenadas psicrométricas Cromo (C\*ab) y tono (hab) puede afirmarse que en el caso del croma la tendencia de valores así como los grupos de muestras observados son los mismos que en las coordenadas CIE-L\*a\*b\* mientras que en el caso del tono estas diferencias se compensan.

En el caso de zumo de Salustiana, la luminosidad aumenta con la presión de homogeneización. El valor de la coordenadas a\* y b\* es mayor en los zumos homogeneizados con una presión de 30MPa que en los zumos sin homogeneizar. Sin embargo, el valor de la coordenadas a\* y b\* es menor en los zumos homogeneizados con una presión de 15MPa que en los zumos sin homogeneizar.

**TABLA 9.** Efecto de la presión de homogenización en los parámetros CIE-L\*a\*b\* sobre fondo negro del zumo de Ortanique

Presión de homogenización (MPa)	L*	a*	b*	C*	H
0	52,01±0,03 <sup>a</sup>	14,27±0,05 <sup>a</sup>	74,06±0,13 <sup>a</sup>	75,42±0,12 <sup>a</sup>	79,09±0,06 <sup>a</sup>
5	51,47±0,03 <sup>a</sup>	14,455±0,014 <sup>a</sup>	75,22±0,12 <sup>a</sup>	76,59±0,12 <sup>a</sup>	79,122±0,008 <sup>a</sup>
10	53,72±0,04 <sup>b</sup>	15,53±0,02 <sup>b</sup>	80,45±0,05 <sup>b</sup>	81,94±0,05 <sup>b</sup>	79,08±0,02 <sup>a</sup>
15	54,02±0,06 <sup>b</sup>	15,47±0,06 <sup>b</sup>	81,753±0,112 <sup>b</sup>	83,20±0,110 <sup>b</sup>	79,28±0,04 <sup>a</sup>
20	53,83±0,03 <sup>b</sup>	13,000±0,014 <sup>c</sup>	80,502±0,015 <sup>b</sup>	81,546±0,013 <sup>b</sup>	80,8262±0,0112 <sup>b</sup>
25	55,8±0,3 <sup>c</sup>	17,815±0,019 <sup>d</sup>	86,3±0,2 <sup>c</sup>	88,1±0,3 <sup>c</sup>	78,33±0,09 <sup>c</sup>
30	53,95±0,17 <sup>b</sup>	15,19±0,06 <sup>b</sup>	82,2±0,2 <sup>b</sup>	83,6±0,2 <sup>b</sup>	79,537±0,015 <sup>a</sup>

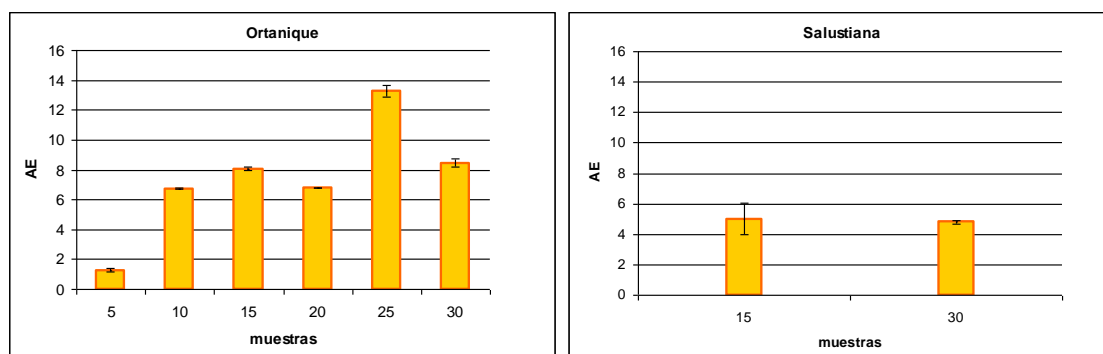
\* Valores con diferente letra en una columna son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

**TABLA 10.** Efecto de la presión de homogenización en los parámetros CIE-L\*a\*b\* sobre fondo negro del zumo de Salustiana

Presión de homogenización (MPa)	L*	a*	b*	C*	h
0	70.36±1.48	4.88±0.18	99.46±2.47	99.58±2.46	87.19±0.09
15	72.13±1.13	3.72±0.17	95.17±1.63	95.24±1.62	87.76±0.06
30	72.77±0.59	8.33±0.23	101.62±0.62	101.96±0.62	85.31±0.22

No se han encontrado referencias bibliográficas sobre la relación entre la percepción visual de los cambios de color en zumos de naranja o mandarina y el valor de las diferencias globales de color ( $\Delta E$ ). Las escasas citas sobre

productos similares describen que un valor de  $\Delta E$  inferior a 1.0 unidad no es visualmente perceptible en zumos de pomelo Star Ruby (Soon-Mi & Gun-Hee, 2002) y que un  $\Delta E$  de 2.0 sí es una diferencia detectable en zumos de zanahoria (Hongmei et al., 2007, citando a Francis & Clydesdale, 1975). Si se extrapolan estos valores a los zumos estudiados en el presente trabajo, se puede estimar que el incremento de color del zumo, por efecto de la homogenización, empieza a detectarse con presiones de alrededor de 5MPa, y que es patente a presiones de homogeneización a partir de 10MPa observándose las mayores diferencias de color en el zumo de mandarina Ortanique a la presión de homogeneización de 25MPa.



**FIGURA 5.** Diferencias globales de color de los zumos de mandarina y naranja con respecto al zumo sin homogeneizar

Se determinó el contenido de los flavonoides narirutina, hesperidina y didimina en zumo de mandarina de variedad Ortanique sin homogeneizar y homogeneizado a 5, 10, 15, 20, 25 y 30MPa. Los resultados se expresaron en miligramos por litro de zumo y se muestran en la tabla 11.

**TABLA 11.** Efecto de la presión de homogenización sobre el contenido en flavonoides del zumo de mandarina ortanique

Presión de homogenización (MPa)	Narirutina (mg/L)	Hesperidina (mg/L)	Didimina (mg/L)
0	47.1 ± 4.9	45.0 ± 7.4	10.1 ± 1.3
5	43.3 ± 1.9	33.5 ± 7.5	8.5 ± 0.4
10	45.2 ± 0.4	34.2 ± 4.9	9.2 ± 0.2
15	37 ± 0	25 ± 0	8 ± 0
20	47 ± 0	33 ± 0	10 ± 0
25	46.4 ± 1.4	29.7 ± 0.4	9.5 ± 0.1
30	47.3 ± 0.2	28.9 ± 0.3	9.5 ± 0.2

Observando los valores de la tabla puede afirmarse que la narirutina es el flavonoide presente en mayor cantidad en las muestras de zumo de Ortanique. Sin embargo la bibliografía consultada, señala la hesperidina como el flavonoide más abundante en los zumos frescos de mandarina. En el procedimiento de obtención de los zumos, éstos se sometieron a un tratamiento térmico de 63°C durante un período de tiempo de 15 segundos y posteriormente se congelaron a -18°C. De acuerdo con Dhuique-Mayer y sus colaboradores (2007) la hesperidina posee una gran estabilidad térmica ya que no se observan pérdidas significativas de este flavonoide tras ser

sometido a un tratamiento térmico de 90°C durante 240 minutos por lo que podemos atribuir al proceso de congelación y almacenamiento las diferencias en el contenido en hesperidina.

Puede observarse que el contenido en narirutina y didimina no se ven afectados por la presión de homogeneización pero sí el de hesperidina. El menor contenido en los tres componentes se observa en los zumos a los que se les ha aplicado una presión de homogeneización de 15MPa.

Con el fin de determinar el nivel de significación de las diferencias observadas en el contenido en flavonoides en función de la presión de homogeneización, se realizó un análisis simple de la varianza. El análisis estadístico puso de manifiesto, con un nivel de confianza del 95%, que la presión de homogeneización afecta de forma diferente a los tres flavonoides considerados.

En el caso de la hesperidina son significativas las diferencias observadas entre los zumos homogeneizados a diferentes presiones y el zumo sin homogeneizar, pero no son significativas las diferencias observadas entre los zumos homogeneizados a diferentes presiones.

En el caso de la narirutina y la didimina las diferencias observadas no son significativas.

## **CONCLUSIONES**

El efecto de la presión de homogeneización sobre el tamaño de partícula, el color y el contenido en flavonoides permite concluir que la aplicación de una presión de homogeneización de 20 MPa o mayor resultaría favorable en una operación de impregnación posterior por disminuir el tamaño de partícula, no afectar de forma desfavorable el color de la muestras y prácticamente no influir en el contenido total de flavonoides.

## **REFERENCIAS**

- Baker RA & Cameron RG (1999). Clouds of citrus juices and Juice Drinks. *Food Technology* 53, 64-69.
- Baker RA (1977). Process to control juice cloud. Symposium of the International Society of Citriculture. *Proceedings of the International Society of Citriculture*: 751-755.
- Bayarri S, Calvo C, Costell E & Durán, L (2001). Influence of color on perception of sweetness and fruit flavor of fruit drinks. *Food Science and Technology International* 7 (5): 399-404.
- Benavente-Garcia O., Castillo J., Marin F. R., Ortuño A., Del Rio J. A. 1997. Uses and properties of citrus flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 4505-4515.
- Bocco A., Cuvelier M. E., Richard H., Berset C. 1998. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 2123-2129.

- Burda S., Oleszek W. 2001. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2774-2779.
- Buslig, B. S. & Carter, R. D. (1974). Particle size distribution in orange juices. *Proceedings of Florida State Horticultural Society*, 87, 302-305.
- Bylka W., Matlawska I., Pilewsky N. A. 2004. Natural flavonoids as antimicrobial agents. *Journal of the American Nutraceutical Association*, 7, 24-31.
- Carle R, Jauss A & Fuesser H. (1998). Cloud stability of pulp-containing tropical fruit nectars. *Fruit Processing* 8 (7): 266-268, 270-272.
- Corredig, M., Kerr W & Wicker L (2001). Particle Size Distribution of Orange Juice Cloud after Addition of Sensitized Pectin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 4918-4923.
- Crandall, P. G. & Davis, K. C. (1991). Viscosity reduction and reformation of structure in orange concentrate as affected by homogenization within commercial taste evaporators. *Journal of Food Science*, 56, 1360-1364.
- Fito, P; Chiralt, A.; Betoret, N.; Gras, M.L.; Cháfer, M.; Martínez-Monzó, J.; Andrés, A.; Vidal, D. 2000. Vacuum impregnation and osmotic dehydration in matrix engineering. Application in functional fresh food development. *Journal of Food Engineering*, 49: 175-183.
- FMC FoodTech (2005). Laboratory Manual. Procedures for Analysis of Citrus Products. Manual No 054R10020.000-fourth edition, pp 49-50.
- Francis, F.J. & Clydesdale, F.M. (1975). *Food colorimetry: theory and applications*. The AVI Publishing Co., Inc.: Westport, CT.
- Hollman P. C. H., Hertog M. G. L., Katan M. B. 1996. Analysis and health effects of flavonoids. *Food Chemistry*, 57, 43-46.
- Hongmei L, Ying S, Yuanying N, Xiaojun L, Xiaosong H, Jihong W & Fang C. (2007). The effect of enzymatic mash treatment, pressing, centrifugation, homogenization, deaeration, sterilization and storage on carrot juice. *Journal of Food Process Engineering* 30 (2007) 421-435.  
[http://www.fmctechnologies.com/upload/proceduresbook\\_001.pdf](http://www.fmctechnologies.com/upload/proceduresbook_001.pdf);  
 accessed June 2007.
- Kohno H., Taima M., Sumida T., Azuma Y., Ogawa H., Tanaka T. 2001. Inhibitory effect of mandarin juice rich in  $\beta$ -cryptoxanthin and hesperidin on 4- (methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-induced pulmonary tumorigenesis in mice. *Cancer Letters*, 174, 141-150.
- Kupper PL, Moore KL, Swaine RL.(1987). Fruit juice containing diet beverage. US Patent 4690827.
- Lee HS and Coates, GA (2004). Pigment extraction system and method. United States patent US20040258809-A1.
- Lortkipanidze R Kh., Anikeichik NM, Yakobashvili RA, Bolkovadze MK (1972). Homogenizer in citrus juice production line. *Konservnaya i Ovoshchesushil'naya Promyshlennost* 7, 9-10.
- Marsh KB, Friel EN, Gunson A, Lund C, MacRae E (2006). Perception of

- flavour in standardised fruit pulps with additions of acids or sugars. *Food Quality and Preference* 17 (5): 376-386.
- Middleton E. Jr., Kandaswami C., Theoharides T. C. 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52, 673-751.
- Miyagi Y, Om AS, Chee KM, Bennink MR. 2000. Inhibition of azoxymethane-induced colon cancer by orange juice. *Nutr Cancer*, 36:224-9.
- Rapisarda F., Fanella F., Maccarone E. 2000. Reliability of analytical methods for determining anthocyanins in blood orange juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 2249-2252.
- Scott, W.C, and M.K. Veldhuis. 1966. Rapid estimation of recoverable oil in citrus juices by bromate titration. *J. AOAC*. 49:628-633.
- So FV, Guthrie N, Chambers AF, Moussa M, Carroll KK. 1996. Inhibition of human breast cancer cell proliferation and delay of mammary tumorigenesis by flavonoids and citrus juices. *Nutr Cancer*; 262:167-81.
- Soon-Mi S & Gun-Hee K. (2002). Color Changes and Carotenoid Pigment Loss in Retentate from *Star Ruby* Grapefruit Juice under Refrigerated Conditions. *Food Science and Technology Research* 8: 244-246.
- Tanaka T, Makita H, Kawabata K, Mori H, Kakumoto M, Satoh K, et al. 1997. Chemoprevention of azoxymethane induced rat colon carcinogenesis by the naturally occurring flavonoids, diosmin and hesperidin. *Carcinogenesis*;18, 957- 65.
- Yang M, Tanaka T, Hirose Y, Deguchi T, Mori H, Kawada Y. 1997. Chemopreventive effects of diosmin and hesperidin on N-butyl-N-(4 hydroxybutyl) nitrosamine-induced urinary-bladder carcinogenesis in male ICR mice. *Int J Cancer*; 73, 719- 24.