

**UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA/ ESCOLA TÈCNICA  
SUPERIOR D' ENGINYERIA I DEL MEDI NATURAL**



**UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA**



**EAMN**

Escola Tècnica Superior  
d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**EFFECTO DE LA ADICIÓN DE  
MALTODEXTRINA RESISTENTE A ZUMOS DE  
NARANJA PASTEURIZADOS SOBRE LOS  
COMPUESTOS BIOACTIVOS Y SU  
BIOACCESIBILIDAD**

**GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS**

Alumno: Simón Betelu Cuervo

Tutora académica: Purificación García Segovia

Tutora externa: Marta Igual Ramo

Director experimental: Elías Arilla Codoñer

Convocatoria: 7 Junio del 2021

Localidad: Valencia, 2021

**Título:** Efecto de la adición de maltodextrina resistente a zumos de naranja pasteurizados sobre los compuestos bioactivos y su bioaccesibilidad

**Resumen:**

Actualmente, la fibra dietética es objeto de estudio por sus potenciales efectos beneficiosos que pueden llegar a ejercer en el organismo. La maltodextrina resistente (MDR) es una fibra soluble en agua y fermentable, se trata de un prebiótico con poder saciante, capaz de reducir los niveles de glucosa y triglicéridos en sangre y promover un buen estado de salud intestinal. Cada vez es más común la adición de MDR a los alimentos, por tanto, es necesario estudiar sus posibles efectos potenciales sobre los compuestos bioactivos intrínsecos de los alimentos y su bioaccesibilidad. En el presente estudio se evaluó el efecto de la adición de MRD sobre los compuestos bioactivos del zumo de naranja pasteurizado con y sin pulpa, además de su bioaccesibilidad. MRD se adicionó en diferentes concentraciones: 0 (muestra control), 2,5%, 5% y 7,5%. Se analizaron: ácido ascórbico (AA) y vitamina C mediante HPLC; fenoles totales, carotenoides totales (CT) y actividad antioxidante (AC) mediante espectrofotometría. Posteriormente, se evaluó la digestibilidad in vitro a través del método estandarizado propuesto por Minekus *et al.* (2014). El jugo de naranja control con pulpa obtuvo valores significativamente más altos ( $p < 0,05$ ) de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante que las muestras de zumo de naranja sin pulpa. La adición de MDR antes del proceso de pasteurización del zumo mejoró significativamente los valores de los compuestos bioactivos ( $p < 0,05$ ), este efecto protector fue mayor a más altas concentraciones de MDR. Por otro lado, la adición de MDR mejoró la bioaccesibilidad de la vitamina C y fenoles totales, sin embargo, disminuyó la bioaccesibilidad de CT y AA. Esto provocó una ligera reducción del valor de CA de las muestras después de la digestión gastrointestinal con la adición de MDR. La presencia de pulpa de naranja también disminuyó la bioaccesibilidad de los fenoles totales y TC pero aumentó la bioaccesibilidad de AA y vitamina C.

Palabras claves: Maltodextrina resistente; prebiótico; compuestos bioactivos; zumo de naranja; bioaccesibilidad

**Autor:** Simón Betelu Cuervo

**Localidad y fecha:** Valencia, junio 2021

**Tutora académica:** Dña. Purificación García Segovia

**Tutora externa:** Dña. Marta Igual Ramo

**Director experimental:** Elías Arilla Codoñer

**Resum:**

Actualment, la fibra dietètica és objecte d'estudi pels seus potencials efectes beneficiosos que poden arribar a exercir en l'organisme. La maltodextrina resistent (RMD) és una fibra soluble en aigua i fermentable, es tracta d'un prebiòtic de poder sacien-te, capaç de reduir els nivells de glucosa i triglicéridos en sang i promoure un bon estat de salut intestinal. Cada vegada és més comuna l'addició de MDR als aliments, per tant és necessari estudiar els seus possibles efectes potencials sobre els compostos bioactius intrínsecs dels aliments i el seu bioaccessibilitat. En el present estudi es va avaluar l'efecte de l'addició de MRD sobre els compostos bioactius del suc de taronja pasteuritzat amb i sense polpa, a més del seu bioaccessibilitat. RMD es va addicionar en diferents concentracions: 0 (mostra control), 2,5%, 5% i 7,5%. Es van analitzar: àcid ascòrbic (AA) i vitamina C per mitjà de HPLC; fenols totals, carotenoides totals (CT) i activitat antioxidant (AC) per mitjà d'espectrofotometria. Posteriorment, es va avaluar la digestibilitat in vitro a través del mètode estandarditzat proposat per Minekus t'al. (2014). El suc de taronja control amb polpa va obtenir valors significativament més alts ( $p < 0,05$ ) de compostos bioactius i capacitat antioxidant que les mostres de suc de taronja sense polpa. L'addició de MDR abans del procés de pasteurització del suc va millorar significativament els valors dels compostos bioactius ( ), este efecte protector va ser major a més altes concentracions de MDR. D'altra banda, l'addició de MDR va millorar la bioaccessibilitat de la vitamina C i fenols totals, no obstant això, va disminuir la bioaccessibilitat de CT i AA. Açò va provocar una lleugera reducció del valor de CA de les mostres després de la digestió gastrointestinal amb l'addició de MDR. La presència de polpa de taronja també va disminuir la bioaccessibilitat dels fenols totals i TC però va augmentar la bioaccessibilitat d'AA i vitamina C.

Paraules Clau: Maltodextrina resistent; prebiòtic; compostos bioactius; suc de taronja; bioaccessibilitat

**Autor:** Simón Betelu Cuervo

**Locallitat i data:** València, junho de 2021

**Tutora Académica:** Sra. Purificación García Segovia

**Tutor externo:** Sra. Marta Igual Ramo

**Diretor experimental:** Elías Arilla Codoñer

**Abstract:**

Currently, dietary fiber is the object of study for its potential beneficial effects that it can exert in the body. Resistant maltodextrin (RMD) is a water-soluble and fermentable fiber. It is a prebiotic with satiating power, capable of reducing glucose and triglyceride levels in the blood, and promoting good intestinal health. The addition of MDR to food is becoming more and more common, therefore it is necessary to study its possible potential effects on the intrinsic bioactive compounds of food and its bioaccessibility. In the present study, the effect of the addition of MRD on the bioactive compounds of pasteurized orange juice with and without pulp, in addition to its bioavailability, was evaluated. RMD was added in different concentrations: 0 (control sample), 2.5%, 5% and 7.5%. Ascorbic acid (AA) and vitamin C were analyzed by HPLC; total phenols, total carotenoids (TC) and antioxidant activity (AC) by spectrophotometry. Subsequently, in vitro digestibility was evaluated through the standardized method proposed by Minekus et al. (2014). The control sample of orange juice with pulp obtained significantly higher values ( $p < 0.05$ ) of bioactive compounds and antioxidant capacity than the orange juice samples without pulp. The addition of MDR before the juice pasteurization process significantly improved the values of the bioactive compounds ( $p < 0.05$ ), this protective effect was at higher concentrations of RMD. On the other hand, the addition of MRD improved the bioavailability of vitamin C and total phenols, however, it decreased the bioavailability of CT and AA. This caused a slight reduction in the CA value of the samples after gastrointestinal digestion with the addition of RMD. The presence of orange pulp also decreased the bioaccessibility of total phenols and TC but increased the bioaccessibility of AA and vitamin C.

Key words: Resistant maltodextrin; prebiotic; bioactive compounds; orange juice; bioaccessibility

**Author:** Simón Betelu Cuervo

**City and date:** Valencia, junio 2021

**Academic tutor:** Dña. Purificación García Segovia

**External tutor:** Dña. Marta Igual Ramo

**Experimental director:** Elías Arilla Codoñer

**INDICE:**

<b>1. INTRODUCCIÓN:</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1. Obtención de zumos de naranja a nivel industrial</b> .....	<b>1</b>
1.1.1. Características de la naranja .....	1
1.1.2. Variedades de naranja .....	3
1.1.3. Producción de zumos. ....	4
1.1.4. Parámetros de calidad .....	4
1.1.5. Proceso de obtención del zumo de naranja.....	5
1.1.6. Etapas de producción de zumos cítricos directos.....	6
1.1.7. Pasteurización.....	7
<b>1.2. Prebióticos</b> .....	<b>8</b>
1.2.1. Definición y tipos .....	8
1.2.2. Propiedades de los prebióticos .....	11
1.2.3. Aplicaciones de los prebióticos en bebidas de fruta .....	11
<b>1.3. Compuestos bioactivos de los zumos cítricos</b> .....	<b>12</b>
1.3.1 Compuestos fenólicos .....	12
1.3.2 Flavonoides.....	12
1.3.3 Vitamina A y C .....	12
1.3.4 Carotenoides.....	13
1.3.5 Actividad antioxidante.....	14
<b>1.4. Digestión <i>in vitro</i></b> .....	<b>14</b>
1.4.1 Definición, usos y consenso .....	14
1.4.2 Porcentaje de digestibilidad .....	15
1.4.3 Bioaccesibilidad .....	15
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>16</b>
2.1 Objetivo general.....	16
2.2 Objetivos específicos .....	16
<b>3. PLAN DE TRABAJO</b> .....	<b>17</b>
<b>4. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>18</b>
4.1. Obtención de los zumos de naranja .....	18
4.2. Determinación de pH y grados Brix .....	18
4.3 Determinación de ácido ascórbico (AA) y Vitamina C.....	18
4.4 Determinación de fenoles totales .....	19
4.5. Determinación de carotenoides totales .....	19
4.6. Determinación de la actividad antioxidante.....	19
4.7 Digestión <i>in vitro</i> de los zumos .....	20

<b>4.8. Análisis estadísticos .....</b>	<b>21</b>
<b>5.RESULTADOS: .....</b>	<b>22</b>
<b>5.1. Efecto de la adición de MDR en los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante .....</b>	<b>22</b>
<b>5.2 Efecto de la MDR en la digestibilidad <i>in vitro</i> y la bioaccesibilidad de los compuestos bioactivos:.....</b>	<b>24</b>
<b>7.BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>30</b>

**INDICE DE FIGURAS:**

Figura 1: Estructura química de RMD .....	10
Figura 2: Diagrama de flujo método de digestión in vitro. ....	20
Figura 3: Valores medios y desviación estándar del % de IVD de zumo de naranja pasteurizado (OJP y OJWP) con 0, 2,5, 5 y 7,5 %MDR. ....	25
Figura 4: Valores medios y desviación estándar del % de bioaccesibilidad de carotenoides totales (CT) del zumo de naranja pasteurizado (OJP y OJWP) con 0, 2,5, 5 y 7,5 %MDR. ....	26
Figura 5: Valores medios y desviación estándar del % de bioaccesibilidad de fenoles totales (FT) del zumo de naranja pasteurizado (OJP y OJWP) con 0, 2,5, 5 y 7,5 %MDR. ....	27
Figura 6: Valores medios y desviación estándar del % de bioaccesibilidad del ácido ascórbico (AA) del zumo de naranja pasteurizado (OJP y OJWP) con 0, 2,5, 5 y 7,5 %MDR. (b) Valores medios y desviación estándar del % de bioaccesibilidad de la vitamina C del zumo de naranja pasteurizado (OJP y OJWP) con 0, 2,5, 5 y 7,5 %MDR.....	28
Figura 7: Valores medios y desviación estándar de la actividad antioxidante (AC) del zumo de naranja pasteurizado (OJP y OJWP) con 0, 2,5, 5 y 7,5 %MDR.....	28

**INDICE DE TABLAS:**

Tabla 1 Composición nutricional de la naranja y el zumo de naranja. ....	<u>2</u>
Tabla 2. Parámetros mínimos de autenticidad y calidad en el zumo de naranja. ....	<u>5</u>
Tabla 3 Principales beneficios de los prebióticos. Fuente (Mariño et al., 2016) .....	11
Tabla 4: Valores medios (y desviación estándar) de pH y °Brix para zumo de naranja pasteurizado.....	22
Tabla 5. Promedios (y desviaciones estándar) del contenido en carotenoides totales (CT), ácido ascórbico (AA), Vitamina C, fenoles totales (FT) y la actividad antioxidante de los zumos estudiado.....	23

# 1. INTRODUCCIÓN:

## 1.1. Obtención de zumos de naranja a nivel industrial

### 1.1.1. Características de la naranja

La naranja es uno de los frutos más importantes del mundo. Se obtiene del naranjo dulce (*Citrus sinensis*), un árbol frutal de la familia de las Rutáceas a la cuál pertenecen numerosas especies y en donde el género Citrus es el más importante con numerosas especies con frutos comestibles. Según la Fundación Española de Nutrición (FEN), las naranjas aportan cantidades importantes de vitamina C y folatos; además, tienen un contenido apreciable de tiamina, vitamina A, calcio, potasio y fibra. Destaca especialmente su contenido en carotenoides y flavonoides (FEN).

Son originarias del sudeste asiático alrededor de hace unos 20 millones de años. Desde entonces, el fruto de la naranja ha sufrido numerosas modificaciones gracias a la selección natural y a diferentes hibridaciones, tanto naturales como desarrolladas por el hombre. La naranja se cultiva en regiones de clima cálido y húmedo, normalmente en invierno o a mediados de otoño y sus principales productores son Brasil, China, India, México, Estados Unidos y países mediterráneos, donde forma una parte importante de su economía (INFOAGRO).

La mayor parte del cultivo de la naranja se destina para su consumo en fresco. Sin embargo, también se comercializa como IV gama y para la elaboración de zumos, mermeladas o jaleas. Además, la corteza también posee aplicaciones industriales, principalmente como ingrediente alimentario en la fabricación de piensos (Pacheco et al., 2018). En España es la fruta fresca más consumida por la población según el informe alimentario del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (2018).

Poseen una piel gruesa y adherente, llamada epicarpio o flavedo, la cual está muy coloreada y provista de vesículas oleosas generalmente de color anaranjado, especialmente cuando alcanza un punto adecuado de maduración. También puede haber variedades cuyo epicarpio sea de color verde independientemente de su fase de maduración. Debajo del epicarpio se encuentra el albedo o mesocarpio, que es una piel o capa blanca de sabor amargo que envuelve completamente el endocarpio, que es la parte comestible de la fruta (Navarro, 2013). El endocarpio posee una porción dividida por membranas radiales en gajos o segmentos alargados y curvos, los cuales proporcionan abundante jugo de sabor dulce y con ciertos toques ácidos dependiendo de la variedad, junto con una cantidad variable de semillas de color blanco. Son frutas de forma esférica un poco achatadas por los polos, poseen un diámetro de 6 a 10 centímetros y su peso oscila entre 150 gramos hasta 200 gramos sin la piel (EROSKI, 2011).

Las naranjas tienen un bajo valor calórico, con un aporte interesante de fibra soluble en forma de pectina. Esta pectina se relaciona con la disminución del colesterol y glucosa en sangre, además de favorecer la flora intestinal (FEN). Por otro lado, las naranjas también aportan carotenoides con actividad provitamínica A ( $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno y criptoxantina), los cuales están relacionados en la prevención de distintos tipos de cáncer y en la protección frente a enfermedades cardiovasculares (Carranco et al., 2011). Además, contiene otros carotenoides sin actividad provitamínica A, como la luteína y la zeaxantina. Estos están asociados inversamente con el riesgo de padecer cataratas y degeneración macular (FEN). En la composición nutricional de la naranja también están presentes algunos ácidos orgánicos, como el ácido málico. Destaca especialmente su contenido en ácido cítrico, que es capaz de potenciar la acción de la vitamina C, que a su vez favorece la absorción intestinal del calcio (Gey et al., 1993; Wills, 1985) y facilita la eliminación de residuos tóxicos del organismo, como el ácido úrico

(Jakše et al.,2019). Además, contienen importantes cantidades de los ácidos hidroxicinámicos, ferúlico, caféico y p-cumárico, ordenados de mayor a menor en función de su actividad antioxidante. Las naranjas también son ricas en flavonoides, que están presentes en la pulpa (FEN).

Es necesario tener en cuenta que la composición nutricional del fruto de la naranja varía ligeramente respecto a su zumo (Moreiras et al., 2009). Esto se debe a que durante el proceso de elaboración del zumo de naranja se eliminan las partes sólidas (epicarpio, mesocarpio y su contenido en fibra, principalmente) del fruto. En la Tabla 1 se pueden observar las diferencias nutricionales entre el fruto de la naranja y el zumo de naranja (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 2017).

Tabla 1 Composición nutricional de la naranja y el zumo de naranja. Fuente (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 2017)

Nutrientes	Unidades	Naranja fruta	Zumo de naranja	
		Valores por 100 gramos	Valores por 100 gramos	
Agua	g	86,7	88,3	
Energía	kcal	47	45	
Proteínas	g	0,9	0,7	
Grasas totales	g	0,1	0,2	
Carbohidratos, por diferencia	g	11,7	10,4	
Fibras, total dietario	g	2,4	0,2	
Azúcares,total	g	9,3	8,4	
Minerales				
	Ca	mg	40	11
	Fe	mg	0,1	0,2
	Mg	mg	10	11
	P	mg	14	17
	K	mg	181	200
	Na	mg	0	1
	Zn	mg	0,07	0,05
Vitaminas				
Vitamina C, ácido ascórbico total	mg	53	50	
	Tiamina	mg	0,087	0,090
	Riboflavina	mg	0,04	0,03
	Niacina	mg	0,3	0,4
	Vitamina B-6	mg	0,06	0,04
	Folatos, FDE	µg	30	30
	Vitamina B-12	µg	0	0
	Vitamina A, RAE	µg	11	10
	Vitamina A, IU	IU	225	200
	Vitamina E	mg	0,18	0,04
	Vitamina D	IU	0	0
	Vitamina K	µg	0	0,1
Lípidos				
Saturados, total	g	0,015	0,024	
Monoinsaturados, total	g	0,023	0,036	
Poliinsaturados, total	g	0,025	0,040	

Numerosos estudios epidemiológicos *in vitro* e *in vivo* han demostrado que el consumo de cítricos contribuye a mantener un buen estado de salud y a la prevención de procesos degenerativos, principalmente reduciendo el riesgo de padecer cáncer, así como enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares (Poulose et al., 2005).

### 1.1.2. Variedades de naranja

La naranja dulce, puede dividirse en 3 grandes grupos (Hervalejo, 2010; INFOAGRO):

1. **Grupo nável:** Las naranjas navel, o también conocidas como naranjas de ombligo, porque dentro del fruto principal tiende a desarrollarse un segundo fruto muy pequeño y la fruta queda con la apariencia de tener un ombligo, tienen muy buenas características organolépticas, poseen un gran sabor dulce y son algo ácidas. Son naranjas de fácil pelado y no poseen semillas en su interior. La mayoría de este grupo no están destinadas a la elaboración de zumo, pues se pierden una gran parte de sus propiedades durante su elaboración.

Las principales variedades de este grupo son la Naranja Navelina, Naranja Lane Late y Naranja Washington.

2. **Grupo Blancas:** Son el grupo más importante, más extendido y antiguo del mundo. Se encuentran un alto número de variedades de naranjas y son aptas tanto para consumo en fresco como para elaboración de zumo. Cabe destacar las siguientes variedades:
  - Valencia Late: Es la naranja dulce tardía más cultivada en las principales regiones cítricas del mundo. El jugo presenta altos niveles de sólidos solubles totales y buen color. Además, poseen un alto rango de adaptación climática (INFOAGRO).
  - Naranja Salustiana: Descubierta en Valencia, aunque también se consume como producto fresco, es la variedad ideal para la elaboración de zumo de naranja por su tamaño, sabor y jugosidad. Posee una piel fina y unos gajos muy jugosos y, gracias a que tiene una baja concentración de limonina. Además, es capaz de mantenerse durante un largo tiempo en buenas condiciones comerciales (Hervalejo, 2010).
  - Naranja Pineapple: Se trata de un cultivo muy productivo, aunque propenso a la vejería y caída de frutos antes de la cosecha, El fruto es de tamaño medio a grande, redondo, con corteza delgada y de buen color en su madurez, puede llegar a presentar hasta 20 semillas por fruto. Presenta un zumo de buen color y sabor, suave, dulce y con una alta concentración de sólidos solubles lo que la hace una de las variedades ideales para la extracción de zumo. Su momento óptimo de recolección tiene lugar entre los meses de enero y febrero (Hervalejo, 2010).
  - Naranja Parson Brown: Presentan un fruto redondo y compacto, de superficies rugosa y con una corteza medianamente gruesa, la naranja es dulce, sabrosa, y tiene mucho zumo. La pulpa y el zumo son de menor color en comparación con variedades más tardías como `Pineapple` y `Valencia`. Su recolección tiene lugar durante los meses de enero y febrero (Hervalejo, 2010).
  - Naranja Barberina: Considerada como una de las variedades con mejores características organolépticas, posee un sabor muy dulce y de menor acidez que las variedades de blanca y un alto porcentaje de zumo por pieza que, gracias a su gran tamaño y piel fina, hacen que sea una variedad muy apta para la elaboración de zumos (INFOAGRO).
3. **Grupo Sanguina:** La presencia de antocianina en su corteza y pulpa, además de actuar como antioxidantes, le proporcionan un característico color rojo, de mayor o menor intensidad dependiendo de la variedad y las condiciones edafoclimáticas. Poseen pocas semillas, son extremadamente tiernas y jugosas y su recolección oscila entre enero y mayo.

### 1.1.3. Producción de zumos.

Según el Real Decreto 781/2013 por el que se establecen las normas relativas a la elaboración, composición, etiquetado, presentación y publicidad de los zumos de fruta y otros productos similares, definimos el zumo de fruta como el "producto susceptible de fermentación, pero no fermentado, obtenido a partir de partes comestibles de frutas sanas y maduras, frescas o conservadas por refrigeración o congelación, de una o varias especies mezcladas, que posea el color, el aroma y el sabor característicos del zumo de la fruta de la que procede, pudiéndose incorporar el aroma, la pulpa, y las células que haya perdido con la extracción". En el caso de los cítricos, el zumo de frutas procederá del endocarpio.

De la producción mundial de cítricos, casi el 40% se destina a la elaboración de zumos, principalmente frescos y concentrados (Jhonson, 2001).

La elaboración de zumos y néctar ocupa una parte significativa en el mercado de bebidas, en el año 2018 obtuvo un 8,2% del valor producido total del mercado de bebidas, además, el zumo de naranja es el más consumido de todos (Rodríguez et al., 2011).

Según el informe elaborado por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación del gobierno de España en 2018, el consumo per cápita de zumo y néctar en España se sitúa en los 8,60 litros por persona y año. De estos, 3,92 litros son de néctar, 2,20 litros son de zumo concentrado, y 1,55 litros son de zumo de fruta exprimido.

### 1.1.4. Parámetros de calidad

La industria de elaboración de zumos es muy rigurosa en los controles de calidad de la materia prima y de su trazabilidad si procede del campo o de las centrales frutícolas (Lorente et al., 2011). Es necesario conocer las propiedades fisicoquímicas de la materia prima para poder optimizar todas las operaciones que comprenden la transformación industrial del fruto. Diversos factores, como la materia prima, madurez, procedencia, condiciones de producción, transporte y almacenamiento del producto afectan a las características del producto final (Lorente et al., 2011).

La relación de ciertos parámetros químicos, como la concentración de vitamina C (Lee y Chen, 1998) así como también el contenido en carotenoides (Meléndez et al., 2003) con los parámetros instrumentales de la determinación de color de los jugos cítricos, están siendo ampliamente usados como indicadores de calidad (Melendez et al., 2005).

La Tabla 2 recoge los parámetros mínimos de autenticidad y calidad que debe cumplir un zumo de naranja industrial, así como los métodos de análisis aplicables (RD 1518/2007). Estos datos sirven de referencia a las autoridades competentes para asegurar la calidad comercial del zumo de naranja industrial, protegiendo al consumidor de fraude y de competencia desleal.

Tabla 2. Parámetros mínimos de autenticidad y calidad en el zumo de naranja (adaptación del Anexo I del RD 1518/2007).

Parámetros	Unidad de medida	Valor	Observaciones
Densidad relativa 20/20º		mínimo 1,040	Zumo directo.
Grados Brix correspondiente		mínimo 10,0	Zumo directo.
Acidez valorable a pH 8,1	Meq/l	90-240	Los valores indicados corresponden a 5,8 – 15,4 g/l calculados como ácido cítrico anhidro pH 8,1.
Ácido cítrico	g/l	6,3-17	
Ácido D-isocrítico	Mg/l	65-200	Pueden obtenerse valores en casos excepcionales para productos de alta ratio. Los resultados son consistentes entre 70 y 130 mg/l. Valores superiores a los indicativos deben relacionarse con la acidez total (zumos mediterráneos de cosechas tempranas) y pueden encontrarse en zumos de naranja navel en California. Pueden obtenerse valores tan bajos como 40 para productos de alta ratio de Florida, El Caribe y Centro y Suramérica.
Ácido cítrico: Ácido D-isocrítico		máximo 130	Valores superiores a 160 pueden obtenerse para productos de alta ratio de Florida, El Caribe y Centro y Suramérica.
Ácido L-ascórbico	mg/l	mínimo 200	La media natural del contenido de Ácido L-ascórbico del zumo recién exprimido está entre 400 y 500 mg/l. Deben garantizarse 200 mg/l de Ácido L-ascórbico a la fecha de consumo preferente.
Glucosa	mg/l	20-35	
Fructosa	mg/L	20-35	
Glucosa: Fructosa		0,85-1,0	
Sacarosa	g/l	10-50	El contenido porcentual de la sacarosa en el total de azúcares es menor del 50% excepto para zumos de final de temporada y/o alta ratio de Florida, Golfo de Méjico y el área del Caribe donde pueden encontrarse valores superiores al 60 %; La ratio glucosa-fructosa no supera el 1,00. En casos de divergencias debe investigarse el origen. Como regla, un exceso de glucosa y/o una proporción demasiado alta de sacarosa en el azúcar total indica azucarado adicional. Una proporción inferior de sacarosa puede estar causada por inversión.
Maltosa		ausencia	
Isomaltosa		ausencia	

### 1.1.5. Proceso de obtención del zumo de naranja.

En cuanto a la producción de zumos cítricos, la fruta puede proceder de la recolección directa, lo cual resulta cada vez más común, o de los excedentes de fruta para consumo fresco (Lorente et al., 2011).

La materia prima presenta un grado de variabilidad que depende de varios factores diferentes como la variedad de las naranjas, origen, exposición climática, etc. Estas variaciones provocan la obtención de zumos cuya composición fisicoquímica varía notablemente a lo largo de la campaña. Por ello, la industria tiende a utilizar una mezcla equilibrada de varios zumos con el fin de obtener un producto estandarizado de calidad. Es necesario partir de un zumo con un contenido adecuado de pulpa centrifugable al que se le haya aplicado un tratamiento de conservación suficiente como para garantizar su vida útil comercial. Se suelen utilizar naranjas Valencia, pues tienen una baja concentración de limonina, que confiere un sabor amargo al zumo. También se usan naranjas navel para la realización de mezclas (Lorente et al., 2011).

La producción de zumo de naranja se puede realizar de forma directa, mediante la extracción del zumo a partir del fruto, o mediante reconstitución del zumo de naranja a partir de un producto concentrado. En el caso de que se realice de forma directa, en la industria se suele utilizar el término NFC ("Not From Concentrate"). Por el contrario, si el zumo se obtiene a partir de un concentrado de zumo de naranja, se le conoce como FCOJ ("From Concentrate Orange Juice"). Para el presente estudio se utiliza zumo de naranja directo. Una vez se obtiene el zumo de naranja, este se puede someter a diferentes tratamientos de conservación, lo que dará lugar a que el producto terminado se almacene en condiciones de refrigeración o a temperatura ambiente (Lorente et al., 2011).

#### **1.1.6. Etapas de producción de zumos cítricos directos.**

A continuación, se detallan las diferentes etapas para la producción de zumos cítricos directos (Lorente et al., 2011).

- **Recepción de fruta:** La fruta se descarga de los camiones para su posterior procesado. Esta debería permanecer en las zonas de almacenaje como máximo 24 horas. Es conveniente que se deposite en grandes silos o balsas, de modo que la industria pueda funcionar a un ritmo constante y eficiente. En esta etapa se realizan controles de calidad con el objetivo de estandarizar el fruto que posteriormente se utilizará para la producción del zumo de naranja.
- **Lavado de fruta:** La fruta pasa por una lavadora en la que, mediante duchas, cepillos o la combinación de ambos, son eliminados restos de hojas, tierra y suciedad con el objeto de garantizar la higiene (Rodríguez et al., 2018). De esta forma se evita que pasen al zumo impurezas no deseadas. Se recomienda la utilización de detergentes, que aumentan la eficiencia del lavado de la fruta y permiten reducir la población microbiana de la superficie del fruto.
- **Calibrado:** La fruta es clasificada según el tamaño para optimizar su extracción de forma que, el fruto se adapte al tamaño de las copas del sistema de extracción. El calibrado se realiza haciendo girar la fruta a través de unos rodillos dispuestos horizontalmente y de forma paralela a una cinta de transporte. Posteriormente, se dirige a las bandejas de las extractoras a través de una cinta de alimentación inclinada y a su vez dividida en varios canales para la correcta alimentación del sistema de copas de extracción. Gracias a este sistema, se permite retirar el exceso de fruta, que posteriormente se vuelve a incorporar a la extractora de zumo mediante una cinta de retorno.
- **Extracción de zumos cítricos:** Su funcionamiento de basa en la separación instantánea de los elementos constituyentes del fruto tales como piel, membrana, semillas y otros productos no deseables que, de permanecer demasiado tiempo en contacto con el zumo, pueden afectar negativamente a la calidad del producto.

La extracción del zumo de acuerdo al “principio de extracción de toda la fruta”, es una tecnología en base a la cual se extrae más del 75 por ciento de la producción mundial de zumos cítricos. Este principio se basa en el diseño único de extractores de zumo dentro de la máquina. Los componentes interactúan de tal manera que pelan la naranja y exprimen el zumo de la naranja pelada mediante un colador; todo, en un espacio de fracciones de segundo (Jhonson, 2001). La extracción rápida evitará que pasen al zumo sustancias procedentes de las semillas, membranas y corteza que pueden ocasionar amargor y sabores extraños.

Actualmente, el equipo de extracción más utilizados es el JBT in-line, presente en la mayoría de las industrias a nivel global. Consta de 3 a 8 cabezales formado por un par de copas, superior e inferior. Ambas copas presentan orificios en la parte central con un borde cortante que abre en la parte inferior de la fruta una sección de diámetro variable y fuerza a las partes interiores de la fruta a pasar a través de un tubo perforado. Cuando se coloca la fruta en la copa inferior, la copa superior, baja y exprime la fruta, haciendo presión sobre la copa inferior. Un extractor JBT de cinco cabezales puede procesar entre 325 y 560 piezas de fruta por minuto.

- **Tamizado:** El zumo procedente de las extractoras se filtra a través de tamizadores, donde se elimina el contenido en pulpa flotante. Tras este proceso, la pulpa restante en el zumo y que es precipitable será la que de turbidez al zumo. La pulpa extraída es procesada y utilizada de diferentes formas en zumos, refrescos, yogures, galletas, etc.

- **Lavado de pulpa:** En caso de no utilizar la pulpa extraída con fines industriales, es posible realizar un lavado de pulpa para la extracción de los azúcares presentes en esta, y su posterior uso para la elaboración de zumo concentrado o bebidas refrescante. Se puede llegar a recuperar hasta un 7% de sólidos solubles.

- **Envasado y almacenamiento:** El envasado es muy importante para la protección de la vitamina C, color, aromas y sabor del zumo. Normalmente, se realiza un envasado aséptico de forma que, además de tratar térmicamente el zumo, el material del envase es higienizado (Rodríguez et al., 2018). El material del envase debe presentar una barrera eficaz frente al oxígeno, la luz, la pérdida de aromas y la entrada de microorganismos. Los más populares son los envases multicapa, de vidrio y de plástico.

### 1.1.7. Pasteurización

En los últimos años, se han desarrollado diversos tratamientos de conservación que permiten prolongar la vida útil de los alimentos, como las tecnologías de procesado a altas presiones o campos eléctricos pulsados. Sin embargo, la pasteurización sigue siendo hoy el método más rentable a nivel económico, y por ello el más utilizado (Jhonson, 2001). Al aplicar la pasteurización al zumo de naranja se consigue la reducción de elementos patógenos y alteradores, tales como bacterias, mohos y levaduras para su conservación. El calor aplicado ha de ser el mínimo posible para asegurar la estabilidad sin alterar de forma significativa las propiedades organolépticas del zumo (Jhonson, 2001). Esto es así ya que la pasteurización, además de inactivar microorganismos, destruye en mayor o menor medida constituyentes deseables como nutrientes, compuestos bioactivos, aromas, color y textura que redundan en una pérdida de la calidad del producto (Navarro, 2013).

Las temperaturas de tratamiento del zumo que se requieren para asegurar la estabilidad del producto oscilan entre 70-95 °C durante 15-30 segundos (Lorente et al., 2011). Antes del tratamiento térmico, se aconseja realizar una desaireación del zumo para reducir el oxígeno disuelto y de esta forma reducir la oxidación de la vitamina C del zumo y el deterioro de las características organolépticas, además de mejorar el proceso de transmisión térmica.

## 1.2. Prebióticos

### 1.2.1. Definición y tipos

Los prebióticos son utilizados como complemento en los llamados alimentos funcionales (Johnson y Versalovic, 2012). Un alimento funcional puede definirse como un elemento dietético que, además de proporcionar nutrientes y energía, modula de manera beneficiosa una o más funciones específicas en el cuerpo, mejorando ciertas respuestas fisiológicas y/o reduciendo el riesgo de enfermedades (Nicoletti, 2012). Los alimentos funcionales no curan ni previenen enfermedades por sí mismos y no son esenciales para la dieta, sino que deben considerarse en el contexto de una dieta saludable para ejercer su interés potencial (Tur y Bibiloni, 2016). Un aspecto esencial es que la cantidad y forma de consumo debe ser la habitual en la dieta, por lo que el alimento funcional es ante todo un alimento y no un fármaco.

La definición de prebiótico ha ido variando con el tiempo a causa de las investigaciones y avances que se han llevado a cabo a lo largo de los años, e incluso hoy en día es complicado encontrar una definición capaz de abarcar todas las propiedades que poseen. Actualmente, los prebióticos han sido definidos según la *Food and Agriculture Organisation of the United Nations* (FAO) y la Asociación Científica Internacional de Probióticos y Prebióticos (ISAPP) como *“ingredientes alimentarios que al ser fermentados selectivamente producen cambios específicos en la composición y/o actividad de la microbiota gastrointestinal confiriendo beneficios en la salud del individuo”* (Corzo et al., 2015).

Por otro lado, la *World Gastroenterology Organization* (WGO) definió a los prebióticos como *“sustancias de la dieta (fundamentalmente polisacáridos no amiláceos y oligosacáridos no digeribles por enzimas humanas) que nutren a grupos seleccionados de microorganismos que habitan en el intestino favoreciendo el crecimiento de bacterias beneficiosas sobre las nocivas”* (Corzo et al., 2015).

Es necesario tener en cuenta que todos los prebióticos se consideran parte de la fibra, pero no toda la fibra es prebiótica. La fibra alimentaria, son polímeros de carbohidratos con un grado de polimerización no inferior a 3, no digeribles ni absorbibles. Dentro del concepto se incluye las celulosas, hemicelulosas, glucanos, pectinas, gomas y mucílagos (Gray, 2006). La diferencia entre fibra y prebiótico es que mientras que la fibra sufre una fermentación parcial o total en el intestino grueso, los prebióticos experimentan una fermentación selectiva (Sánchez, 2017). Dada la variedad de alimentos que pueden estar reforzados por prebióticos, su capacidad para conferir cambios positivos en la microflora y otros aspectos relacionados con la salud, es importante que se utilicen tecnologías robustas para analizar su funcionalidad (Gibson et al., 2004).

Por ello, es necesario conocer los requisitos que debe cumplir una sustancia determinada para poder ser definida como prebiótico. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) considera que un prebiótico es todo aquel que cumpla con los siguientes requerimientos (Gibson et al., 2004):

1. No ser hidrolizado o absorbido en el tracto gastrointestinal superior y por tanto resistir a la degradación por acidez gástrica, la hidrólisis de enzimas digestivas y no absorberse en el intestino delgado.
2. Ser fermentado selectivamente por bacterias beneficiosas de la microbiota intestinal.
3. Ser capaz de inducir efectos fisiológicos beneficiosos para la salud.

Es necesario realizar estudios *in vitro*, para el escrutinio y selección de sustratos con potencial prebiótico que posteriormente serán validados en modelos animales. Para finalizar, el sustrato seleccionado con los modelos anteriores sería candidato para llevar a cabo los estudios de intervención en humanos que permitan evaluar su eficacia en el sitio de acción y demostrar científicamente su capacidad prebiótica (Corzo et al., 2015).

Se ha demostrado científicamente dichas propiedades para la inulina, fructooligosacáridos (FOS), galactooligosacáridos (GOS), la lactulosa y los oligosacáridos de leche humana (HMO). (Corzo et al., 2015). También existen una serie de candidatos a prebióticos que se están sometiendo a estudio para demostrar su efecto en seres humanos. Algunos de los candidatos a prebióticos son: pectooligosacáridos bacterianos (EPS), polidextrosa (PDX), arabinosilanos y almidones resistentes (Binns, 2013).

- **Fructooligosacáridos (FOS)**

Son oligosacáridos lineales formados por entre 10 y 20 monómeros de fructosa, unidos por enlaces  $\beta$  y que pueden o no contener una molécula inicial de glucosa.

En función de la longitud de su cadena y teniendo en cuenta el grado de polimerización, podemos encontrar dentro de los FOS:

- **Oligofructosa:** grado de polimerización menor de 9.
- **Inulina:** grado de polimerización de hasta 60.

Los FOS se obtienen a partir de la hidrólisis de la inulina presente en productos vegetales, o mediante trans-fructosilación enzimática de sacarosa, reacción catalizada por la enzima fructosiltransferasa (Corzo et al., 2015).

Ambos están formados por enlaces glicosídicos  $\beta$ -(2-1) el cual les hace resistentes a la hidrólisis por las enzimas digestivas humanas de forma que evitan su digestión. Tanto la inulina como los FOS favorecen el crecimiento de bifidobacterias y lactobacilos, y disminuyen el de bacteroides y clostridios. Actualmente están reconocidos como ingredientes GRAS (Generally Recognized As Safe) en EEUU y como FOSHU (Foods for Special Health Use) en Japón permitiendo su uso sin restricciones en numerosos alimentos como yogures, bebidas, barritas de cereales, galletas, etc. (Hernández et al., 2015).

- **Lactulosa**

Es el prebiótico más sencillo en cuanto a estructura. Se trata de un disacárido sintético que se obtiene industrialmente mediante un proceso de isomerización en medio básico de la lactosa, o a través de síntesis enzimática usando lactosa y fructosa y  $\beta$ -galactosidasas (Villamiel, 2014). La lactulosa es resistente a las enzimas digestivas por lo cual no se hidroliza como la lactosa, por ello es capaz de llegar al colon sin alterarse, donde será metabolizada selectivamente por bifidobacterias y lactobacilos. Se ha demostrado la baja absorción en el intestino delgado y sus beneficios en el desarrollo de microbiota beneficiosa, produciendo una significativa disminución de bacteroides, clostridios, estreptococos y enterobacterias (Corzo et al., 2015).

Las propiedades prebióticas de la lactulosa se han puesto de manifiesto cuando se ha añadido a alimentos como yogures, fórmulas infantiles, leche de soja, y otros.

- **Galacto-oligosacáridos (GOS)**

Los GOS son compuestos obtenidos industrialmente a partir de la lactosa del permeado de suero de quesería, mediante transglicosilación catalizada por  $\beta$ -galactosidasas (lactasas). Presentan un reconocido carácter prebiótico porque estimulan el crecimiento de bacterias

lácticas y bifidobacterias en el intestino humano. Contienen de 2-10 moléculas de galactosa unidas a una glucosa terminal y se diferencian entre sí en la longitud de la cadena y en el tipo de enlace (Roberfroid, 2010).

Pueden encontrarse de forma natural en la leche humana y animal. Los GOS son reconocidos en todos los países de la Unión Europea, como ingredientes alimentarios y no como aditivos ya que se encuentran de forma natural en la leche materna. Además, están considerados GRAS en EEUU y en Japón como FOSHU. Se utilizan en la elaboración de leches maternizadas (junto con FOS) con la finalidad de imitar los efectos de la leche humana sobre la microbiota de los lactantes (Mariño et al., 2016). Las fuentes naturales son la leche, incluida la humana, y las legumbres (Hernández et al., 2015).

- **Maltodextrina resistente**

La maltodextrina resistente o RMD, es una fibra soluble en agua y fermentable producida por el tratamiento térmico del almidón de maíz, no se digiere en el intestino delgado, pero sí fermenta en el colon, lo que resulta en una mejora de la producción de ácidos grasos de cadena corta (Lockyer y Nugent, 2017). En estudios anteriores se ha demostrado que la RMD aumenta el recuento de bifidobacterias fecales y peso húmedo de las heces (Burns et al., 2018), puede provocar a corto plazo una disminución del hambre y un aumento de las hormonas de saciedad cuando se ingiere en una comida (Ye et al., 2015).

Su estructura molecular consiste en una pequeña proporción de sacáridos con un grado de polimerización (DP) 1-9 y muchos polisacáridos nutritivos con un grado de polimerización menor de 10, donde las moléculas de D-glucosa se encuentran unidas principalmente por enlaces glucosídicos  $\alpha$  (1-4). Contiene una distribución aleatoria de enlaces 1-2 y 1-3, que se forman durante el proceso de dextrinización, y enlaces 1-4 y 1-6 de forma natural encontrado en el almidón (Hashizume y Okuma, 2009).

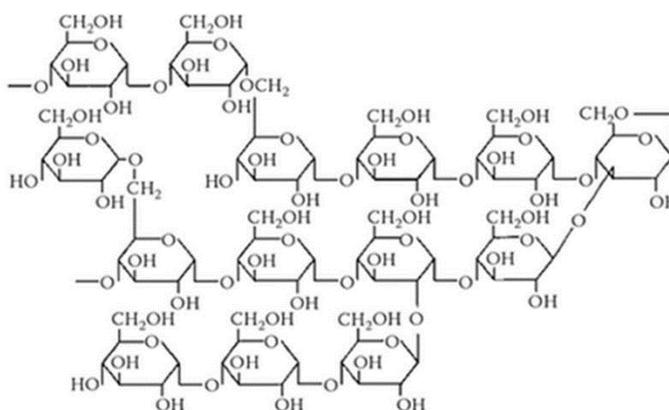


Figura 1: Estructura química de RMD

Gracias a su baja viscosidad y su alta estabilidad al calor y condiciones ácidas, su uso está extendido en la industria alimentaria. Además, es insípido y sin sabor, por lo que puede agregarse fácilmente a una amplia gama de productos alimenticios (Arilla et al., 2020).

Además, la RMD parece ser más eficaz en alimentos líquidos que en sólidos (Livesey y Tagami, 2009). Actualmente, la industria de bebidas está aumentando la cantidad de ingredientes más saludables en sus jugos, por ejemplo, mediante el desarrollo de bebidas funcionales mediante la adición de prebióticos (Priyadarshini y Priyadarshini, 2018).

### 1.2.2. Propiedades de los prebióticos

La Tabla 3 recoge los principales beneficios de los prebióticos (Mariño et al., 2016):

Tabla 3 Principales beneficios de los prebióticos. Fuente (Mariño et al., 2016)

Propiedad beneficiosa	Función fisiológica
Mejora de las funciones intestinales	<p>Aumento de la presión osmótica luminal.</p> <p>Aumento de la secreción de agua.</p> <p>Aumento de la peristalsis.</p> <p>Aumento del volumen de heces y de la generación de gases.</p> <p>Prevención de infecciones, diarrea, estreñimiento.</p> <p>Mejora de los síntomas de la enfermedad inflamatoria intestinal.</p> <p>Favorece la producción de ácidos grasos de cadena corta como el ácido acético, propiónico y butírico.</p>
Prevención en la aparición de tumores malignos en el epitelio del colon y enfermedades	<p>El ácido butírico al ser metabolizado por el epitelio colónico, actúa como regulador del crecimiento celular al retardar la proliferación celular y además favorecer la diferenciación y la apoptosis de aquellas células que han cumplido su ciclo de vida útil o han sufrido algún daño metabólico.</p> <p>Aumento de la biodisponibilidad de ciertos minerales como el calcio, el zinc, el magnesio y el hierro. Su uso es muy importante en el tratamiento de la osteoporosis, ya que favorece la absorción del calcio y reduce su excreción urinaria.</p> <p>Favorecen la síntesis de vitaminas del grupo B, sobre todo ácido fólico.</p> <p>Aumentan la función inmunológica del huésped al aumentar la proliferación de las bacterias probióticas.</p>

### 1.2.3. Aplicaciones de los prebióticos en bebidas de fruta

En el mercado existe un gran interés en el desarrollo en bebidas a base de frutas enriquecidas con probióticos y prebióticos, más aún cuando se ha encontrado que estas matrices son sustratos y fuentes de prebióticos, debido a que contienen agua, minerales, vitaminas, fibra dietética y antioxidantes, además de ser consideradas por los consumidores como bebidas refrescantes y saludables (Bernal et al., 2017).

- **Efecto sensorial**

Se han realizado pocos estudios relacionados con el efecto sensorial de la adición de prebióticos en bebidas de frutas y vegetales. Sin embargo, estudios realizados en néctares de papaya con oligofructosa han mostrado los análisis de preferencia que los néctares con adición de oligofructosa e inulina son valorados tanto en sabor como en aceptabilidad en igual medida que aquellos néctares que contienen solamente azúcar (Braga et al., 2015). Adicionalmente en otras bebidas no lácteas como batidos de frutas que contiene *Bifidobacterium lactis* HN019 y fructooligosacáridos han demostrado que contribuyen al perfil sensorial, la composición nutricional del batido y posiblemente cambian sus propiedades fisicoquímicas a través de la reducción de la actividad del agua (Tymczyszyn et al., 2011). También se ha reportado que los prebióticos pueden proporcionar atributos en la textura final del producto (Martins et al., 2013).

- **Agentes protectores en la microencapsulación**

Se ha sugerido a los prebióticos como agentes protectores en la microencapsulación de probióticos (Montes, 2013). La microencapsulación ofrece el potencial de reducir los efectos adversos sobre la viabilidad de los probióticos en los alimentos y los efectos gastrointestinales en el huésped, así como durante el procesamiento, almacenamiento y consumo (Manojlovi et al., 2010).

- **Sustitutivos de sacarosa.**

La sacarosa, que usualmente se usa como edulcorante en bebidas de jugos de frutas, puede ser parcialmente sustituida con FOS sin afectar significativamente la calidad global (Renuka et al., 2009).

### **1.3. Compuestos bioactivos de los zumos cítricos**

Los cítricos son alimentos de gran interés en la población humana, no solo por sus características organolépticas sino también por su aporte de azúcares, micronutrientes y otras sustancias bioactivas, las cuales tienen un impacto significativo en la prevención de ciertas enfermedades y son indispensables a largo plazo para nuestra salud (Martínez-Navarrete et al., 2008).

#### **1.3.1 Compuestos fenólicos**

Son un numeroso grupo de compuestos ampliamente distribuidos en la naturaleza (Martínez-Valverde et al., 2000). Se tratan de sustancias con al menos un anillo aromático (benceno) con uno o más grupos hidroxilo, incluyendo derivados funcionales (Martínez de Toda, 2010). Existen dos grandes grupos de compuestos fenólicos: los ácidos fenólicos (benzoicos y cinámicos) y los flavonoides (flavonoles, antocianos y taninos). Se diferencian estructuralmente en que los ácidos fenólicos tienen un único anillo, mientras que los flavonoides están formados por dos anillos fenólicos unidos por una cadena de tres átomos de carbono (Martínez de Toda, 2010).

#### **1.3.2 Flavonoides**

Es el grupo más grande de fenoles. Poseen un gran número de efectos biológicos tales como inhibición de las enzimas clave en la respiración mitocondrial, protección ante enfermedades coronarias, acción antiinflamatoria, antimicrobiana y antioxidante, que ayuda en la reducción del riesgo de padecer cáncer (Gil-Izquierdo et al., 2002).

Se clasifican principalmente en seis grupos: flavonoles, flavonas, flavanonas, isoflavonas, antocianinas y flavanoles (Peterson y Dwyer, 1998). Las flavanonas se encuentran de manera abundante en los cítricos y les confieren su característico sabor (Macheix et al., 1990). Se pueden encontrar en formas de aglicona, como la naringenina, que es un compuesto importante en los cítricos, o en forma de glucósido. Los glucósidos pueden tener dos formas, neohesperidósidos y rutinósidos (Macheix et al., 1990; Gionfrido et al., 1996):

- Neohesperidósidos: a este grupo pertenecen compuestos como la naringina, neohesperidina, poncirina y neoeriocitrina. Confieren sabor amargo (Trípoli et al., 2007).
- Rutinósidos: a este grupo pertenecen la hesperidina, narirutina y didimina. No tienen sabor (Trípoli et al., 2007).

#### **1.3.3 Vitamina A y C**

Las vitaminas son un grupo heterogéneo de compuestos orgánicos esenciales para el desarrollo de la vida animal. La mayoría de las vitaminas no son capaces de ser sintetizadas en

el cuerpo de los animales. Existen en cantidades muy pequeñas dentro de las materias alimenticias de origen animal y vegetal. Son requeridas en cantidades traza y generalmente la carencia de alguna vitamina en la dieta provoca diferentes signos morfológicos y fisiológicos por deficiencia (Hernández y Sastre, 1999).

Según su solubilidad, las vitaminas pueden dividirse en liposolubles e hidrosolubles. Las vitaminas liposolubles son absorbidas en presencia de grasas en el tracto gastrointestinal y pueden ser almacenadas en caso de un consumirse de manera excesiva a las demandas metabólicas del organismo, incluso pudiendo llegar a provocar hipervitaminosis. Dentro de las vitaminas liposolubles del fruto de la naranja podemos destacar la vitamina A. Las vitaminas hidrosolubles, como la vitamina C, son aquellas que son solubles en agua y, en consecuencia, no son almacenadas en cantidades significativas, sino que se expulsan del organismo a través de la orina. Es necesario un aporte regular de vitaminas hidrosolubles para evitar el agotamiento de las reservas corporales (Pamplona, 2003). Cabe destacar las elevadas concentraciones de vitamina C presentes en la naranja.

- **Vitamina A:** Es esencial para el crecimiento y salud normal. En caso de carencia de esta vitamina en la alimentación, aparecen enfermedades de las mucosas, alteraciones de las glándulas sebáceas y gástricas que tienen como resultado inhibición del crecimiento y un riesgo elevado de infección. En el proceso visual la vitamina A actúa en forma de retinal, que constituye un cofactor del pigmento rodopsina. También actúan como antioxidantes y secuestrantes de radicales en caso de estrés oxidativo (Baltes, 2006).

- **Vitamina C:** Es la vitamina mayoritaria en la naranja. Una naranja de tamaño medio aporta 82 mg de vitamina C, siendo 60 mg la ingesta recomendada al día para este nutriente (EFSA). Los compuestos con actividad de vitamina C son el ácido ascórbico y el ácido dehidroascórbico.

A nivel celular, dependiendo de las condiciones del medio puede actuar como agente reductor, interviniendo como fuente de electrones para que se produzca la reducción del oxígeno; o como agente protector antioxidante para mantener el estado reducido de los iones, hierro y cobre. Además, evita la oxidación de tetrahidrofolatos, así como la formación de nitrosaminas carcinógenas, mediante la reducción de nitritos, lo que le podría conferir cierto papel protector frente al desarrollo de ciertos tumores (Vázquez-Martínez et al., 2005). Su carencia suele provocar un reblandecimiento de las estructuras de colágeno, que dan como resultado frecuentes hemorragias (escorbuto) (Vázquez-Martínez et al., 2005). También es efectiva en la prevención y tratamiento de la arteriosclerosis (Gey et al., 1993; Wills, 1985).

### 1.3.4 Carotenoides

Son los compuestos responsables de la gran mayoría de las pigmentaciones amarillas, naranjas o rojas presentes en los alimentos vegetales. La estructura química base de los carotenoides es el licopeno. Éste consiste en una cadena larga de 8 unidades de isopreno, un sistema conjugado de dobles enlaces el cual es el grupo cromóforo responsable del color. La ciclación del licopeno en un extremo conduce al  $\gamma$ -caroteno, mientras que la ciclación en ambos extremos produce el  $\beta$ -caroteno. Otros isómeros del  $\beta$ -caroteno ( $\alpha$  y  $\epsilon$  caroteno) sólo difieren en la posición de los dobles enlaces en las unidades cíclicas terminales (Lock, 1997).

Se conocen alrededor de 600 compuestos de esta familia, que se pueden dividir en dos grupos: los carotenos, que son hidrocarburos, y las xantofilas, sus derivados oxigenados. También están los apocarotenoides, que son de tamaño menor y están formados por la ruptura de los carotenoides típicos. En cuanto a su identificación, los carotenoides poseen un espectro de región visible muy característico entre 400 y 500 nm (Robinson et al., 1991).

Los carotenoides son muy sensibles a la oxidación debido a la presencia de numerosos dobles enlaces en su estructura, la cual provoca en todos los casos una pérdida de color. De los carotenoides conocidos, solamente alrededor del 10% tienen valor como vitamina A, de los más comunes, como el licopeno, zeaxantina y luteína no tienen valor como vitamina A, aunque son muy importantes como pigmentos y pueden tener también actividad como antioxidantes (Robinson et al, 1991). Además del  $\beta$ -caroteno, los más importantes entre ellos son el  $\alpha$ -caroteno y la  $\beta$ -criptoxantina.

El  $\beta$ -caroteno es precursor de la vitamina A. Se trata de pigmentos vegetales de color amarillo o naranja que, una vez ingeridos, se transforman en el hígado y en el intestino delgado en vitamina A. Son componentes antioxidantes que han sido relacionados con una disminución de riesgo de padecer cáncer (Navarro et al., 2008) y otras enfermedades degenerativas (Meléndez-Martínez et al., 2004).

### 1.3.5 Actividad antioxidante

Los antioxidantes son sustancias químicas que se caracterizan por impedir o retrasar la oxidación de diversas sustancias principalmente de los ácidos grasos. Estas reacciones de oxidación se producen tanto en los alimentos como en el organismo humano, en el cual puede provocar alteraciones fisiológicas importantes. Además, los antioxidantes facilitan el uso fisiológico del oxígeno por parte de las mitocondrias celulares, lo cual ayuda a reducir los efectos del estrés oxidativo y la falta de oxígeno, formando complejos que mitigan las reacciones productoras de radicales oxidantes y, por tanto, desempeñando una función fundamental en la prevención de las enfermedades crónicas no transmisibles (Zamora, 2007).

Se clasifican en dos sistemas principales los cuales actúan tanto en el espacio intracelular como en el extracelular:

- **Endógenos:** constituyen la primera línea de defensa antioxidante y previenen el daño oxidativo interaccionando directamente con los radicales del oxígeno.
- **Exógenos:** Está formado por los nutrientes básicos que ingerimos a través de la dieta, que ayudan a los mecanismos de defensa internos contra todas las oxidaciones no deseadas, ya sea actuando como antioxidantes por sí solos o haciendo de cofactores de los sistemas antioxidantes endógenos (Diplock, 1998; Lozano et al., 2005). A través de la dieta también obtenemos sustancias fitoquímicas, son compuestos procedentes del reino vegetal que juegan un papel importante en el mantenimiento del equilibrio redox y en disminuir la incidencia del daño producido por los radicales libres, en la actualidad se consideran altamente beneficiosos para la salud (Ugartondo, 2009).

## 1.4. Digestión *in vitro*

### 1.4.1 Definición, usos y consenso

Se han propuesto muchos métodos diferentes para la cuantificación de elementos biodisponibles, siendo los métodos *in vivo* los más fiables (Promchan y Shiwatana, 2005). Sin embargo, requieren mucho tiempo, son costosos, complejos y producen resultados variables difíciles de comparar. Es por ello por lo que hoy en día los métodos *in vitro* están siendo ampliamente utilizados, ya que son rápidos, seguros y no tienen las restricciones éticas de los métodos *in vivo* (Parada y Aguilera, 2007).

Los modelos *in vitro* se basan en la fisiología humana y son métodos simples y relativamente baratos para estudiar la estabilidad de los componentes de los alimentos durante la digestión, la micelarización, el transporte intestinal y el metabolismo con la finalidad de predecir la biodisponibilidad a partir del alimento. Sin embargo, aunque son útiles para el estudio de procesos pre-absorptivos, su validez para predecir biodisponibilidad debe ser verificada en situaciones *in vivo*, ya que los resultados *in vitro* no siempre explican de forma completa las respuestas *in vivo* (Olmedilla, 2015).

La digestibilidad *in vitro* de la muestra se evaluó mediante el método de digestión *in vitro* estandarizado apto para alimentos (COST INFOGEST) propuesto por Minekus et al. (2018) para así permitir demostrar la validez del método para predecir la bioaccesibilidad y/o biodisponibilidad en humanos (Olmedilla, 2015).

#### **1.4.2 Porcentaje de digestibilidad**

Según la FAO, la digestibilidad es una forma de medir el aprovechamiento de un alimento, es decir, la facilidad con la que es convertido en el aparato digestivo en sustancias útiles para la nutrición. Comprende dos procesos, la digestión que corresponde a la hidrólisis de las moléculas complejas de los alimentos, y la absorción de pequeñas moléculas en el intestino.

La digestibilidad permite estimar la proporción de nutrientes presentes en el alimento, que tienen potencial de ser absorbidos por el tracto digestivo (Church y Pond, 1987). Calcular la digestibilidad de los alimentos es fundamental para establecer su valor nutritivo (Bochi-Brum et al., 1999).

Aunque las determinaciones de la digestibilidad *in vivo* son consideradas las más exactas, este es un proceso laborioso y costoso que requiere el empleo de altas cantidades de alimento, uso de alta mano de obra y la disposición de instalaciones para su cuidado (Broderick, 1994; Van Soest et al., 1975). Por lo tanto, se han propuesto distintos métodos alternativos, entre ellos los procedimientos *in vitro* para la estimación de la digestibilidad (Bochi-Brum et al., 1999).

#### **1.4.3 Bioaccesibilidad**

El concepto de bioaccesibilidad se puede definir como la cantidad o fracción que se libera de la matriz alimentaria en el tracto gastrointestinal y se vuelve disponible para la absorción (Heaney, 2001). Esta definición también incluye las transformaciones digestivas de los alimentos en material listo para la asimilación, la absorción/asimilación en las células del epitelio intestinal y, por último, el metabolismo intestinal y hepático. Normalmente, la bioaccesibilidad se evalúa mediante procedimientos de digestión *in vitro*, generalmente simulando la digestión gástrica y del intestino delgado, a veces seguida de la captación de células Caco-2 (Courraud et al., 2013).

La bioaccesibilidad debe distinguirse del término biodisponibilidad, que es la fracción de nutrientes o alimentos componentes que han sido digeridos, asimilados y luego absorbidos eficientemente *in vivo* en el cuerpo (Fernández-García et al., 2009).

El término "bioaccesibilidad" es un concepto clave para determinar la eficiencia nutricional de los alimentos y las fórmulas alimentarias desarrolladas con el objetivo de mejorar la salud humana.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo general

En este trabajo se pretende estudiar el efecto de la adición de diferentes concentraciones de maltodextrina resistente a zumo de naranja con y sin pulpa, sobre sus principales compuestos bioactivos y su bioaccesibilidad.

### 2.2 Objetivos específicos

- Recopilar información acerca de la pasteurización de zumos cítricos y su efecto en los compuestos bioactivos mayoritarios, metodologías de determinación de compuestos bioactivos y su bioaccesibilidad.
- Determinar parámetros de control del zumo como son pH y sólidos solubles.
- Determinar vitamina C, ácido ascórbico, carotenoides totales, fenoles totales y actividad antioxidante en los zumos pasteurizados.
- Determinar el porcentaje de digestibilidad y la bioaccesibilidad de la vitamina C, ácido ascórbico, carotenoides totales, fenoles totales y actividad antioxidante de los zumos pasteurizados mediante digestión *in vitro*.
- Evaluar el efecto de la pulpa del zumo y la concentración de maltodextrina resistente sobre los compuestos bioactivos mayoritarios y su bioaccesibilidad.

### **3. PLAN DE TRABAJO**

El plan de trabajo y tareas específicas para conseguir los objetivos planteados son:

- Revisión bibliográfica.
- Recepción y clasificación de los zumos pasteurizados por la empresa.
- Determinación de los parámetros de control del zumo como son pH y sólidos solubles.
- Determinación de vitamina C, ácido ascórbico, carotenoides totales, fenoles totales y actividad antioxidante en los zumos pasteurizados.
- Diseño, planificación y realización de la digestión *in vitro* de los zumos pasteurizados.
- Determinación de vitamina C, ácido ascórbico, carotenoides totales, fenoles totales y actividad antioxidante en los digestos obtenidos.
- Desarrollo de los resultados y discusión.
- Propuesta de conclusiones y recomendaciones.

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. Obtención de los zumos de naranja

Se obtuvo zumo de naranja exprimido con y sin pulpa previamente pasteurizado de la empresa Refresco Iberia S.A.U. procedente de Valencia. Las concentraciones de maltodextrina resistente (MDR) (Fibersol-2®, ADM/Matsutani, Decatur, IL, USA) en las muestras fueron de 0, 2.5, 5 y 7,5 % respectivamente.

Las muestras de zumo sin pulpa fueron nombradas como OJWP "Oranje Juice Without Pulp" y las de zumo con pulpa como OJP "Orange Juice with Pulp" junto con el porcentaje total de MDR presente en cada muestra. El número total de muestras son OJP, OJP2.5, OJP5, OJP7.5, OJWP0, OJWP2.5, OJWP5 y OJWP7.5.

### 4.2. Determinación de pH y grados Brix

Como parámetro de control se determinó el pH y los grados Brix de los zumos obtenidos. El pH de las muestras de zumo se determinó con un pH-metro (Crison MultiMeter MM 41, Crison, España) con un electrodo de contacto. Previamente, el equipo fue calibrado con soluciones tampón (pH 7,0 y 4,0) a 20°C de temperatura. Los análisis se realizaron por triplicado.

La determinación de los grados Brix se realizó mediante la medida del índice de refracción de las muestras. Los grados Brix se determinaron por triplicado en muestra con un refractómetro digital (PAL-1, ATAGO, Japón) a temperatura ambiente.

### 4.3 Determinación de ácido ascórbico (AA) y Vitamina C

La determinación de AA y vitamina C se realizó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), según Igual et al., (2010). Para ello se utilizó un equipo HPLC (Jasco, Italia) y una columna Zorbax SB-C18 de 5 µm (4,6 x 25 mm).

En primer lugar, para la determinación de AA, se siguió la metodología descrita por Xu et al. (2008). Para ello se tomó 1 g de muestra al que se añadieron 9 mL de ácido oxálico al 0,1% (p/v). La mezcla se dejó en reposo durante 3 minutos a temperatura ambiente y después se filtró a través de un filtro de membrana de 0,45 µm de tamaño de poro. Como fase móvil se utilizó ácido oxálico 0,1% (p/v) con un flujo de 1mL/min a 25 °C. Se inyectaron 20 µL de muestra por duplicado y se midió la absorbancia a 243 nm de longitud de onda. El compuesto fue identificado y cuantificado usando ácido ascórbico (Panreac) como patrón.

El procedimiento empleado para el análisis de la vitamina C fue mediante la reducción del ácido dehidroascórbico (DHAA) a AA usando el reactivo DL-ditiotreitol (DTT) (Sigma-Aldrich) como agente reductor, de acuerdo con Sánchez-Mata et al. (2000) y Sánchez-Moreno et al. (2003) Se tomaron 0,5 g de muestra al que se le añadieron 2 mL de una disolución de DTT (20 g/L). La mezcla se dejó reaccionar durante 2 horas en oscuridad y a temperatura ambiente para lograr la reducción del DHAA a AA. Una vez finalizado este tiempo, se trató la mezcla como en el caso de la determinación de AA, tomando 1 g de este contenido y añadiendo 9 mL de ácido oxálico 0,1% y siguiendo el protocolo presentado anteriormente. De esta forma, se obtuvo el contenido de vitamina C de las muestras y, por diferencia con el contenido de AA, se obtuvo el valor de DHAA. Los resultados se expresaron como mg/100 g.

#### 4.4 Determinación de fenoles totales

La determinación de los fenoles totales presentes en los productos de pomelo se llevó a cabo utilizando el ensayo Folin-Ciocalteu según Benzie y Strain (1999) y adaptado por Selvendran y Ryden (1990).

Para la extracción de los fenoles totales se siguió la metodología descrita por Tomás-Barberán et al. (2001). Para ello se pesaron 35 g de muestra y se le añadió 40 mL de metanol puro, 10 mL de HCl 6N y NaF 2mM. La mezcla se homogeneizó con un Ultraturrax (T25, Janke & Kunkel) durante 5 minutos y se centrifugó a 10.000 rpm durante 10 minutos a 4°C (Selecta Medifriger-BL). A continuación, se tomaron 250 µL del sobrenadante, se añadieron 15 mL de agua bidestilada y 1,25 mL de reactivo Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich) y se dejó reposar 8 minutos. Una vez transcurrido este tiempo, se adicionaron 3,75 mL de una disolución de carbonato de sodio 7,5% (p/v) y se llevó a un volumen de 25 mL con agua bidestilada. Se mantuvo en oscuridad a temperatura ambiente durante 2 horas y se midió la absorbancia a 765 nm con un espectrofotómetro UV visible (Thermo Electron Corporation, Estados Unidos). Los análisis se realizaron por triplicado.

Para cuantificar los fenoles totales se prepararon disoluciones de diferentes concentraciones de ácido gálico (Sigma-Aldrich) que se utilizó como patrón. A partir de la recta de calibrado, elaborada con dichas concentraciones y las absorbancias obtenidas de las disoluciones del patrón, se obtuvo la concentración de ácido gálico que tenían las muestras analizadas. Los resultados se expresaron como mg de ácido gálico / 100 g.

#### 4.5. Determinación de carotenoides totales

La determinación de carotenoides totales presentes en las muestras se llevó a cabo mediante espectrofotometría, según el método AOAC (1996).

Para la extracción de los carotenoides totales se siguió la metodología descrita por Olives et al., (2006). Se tomaron 5 g de muestra y se agitaron junto a una mezcla de hexano-acetona-etanol (50:25:25, v/v/v) en oscuridad durante 30 minutos. Trascorrido el tiempo, se añadieron 15 mL de agua destilada. Se tomaron 4 mL de la parte superior correspondiente a la fase hexano y se trasvasó a la cubeta para ser medida. Los análisis se realizaron por triplicado.

Para la medida de la absorbancia a 446 nm se utilizó un espectrofotómetro UV-visible (Thermo Electron Corporation, Estados Unidos). Los resultados se expresaron como mg/100 g.

#### 4.6. Determinación de la actividad antioxidante

El potencial antioxidante total de las muestras de pomelo se midió usando el método del DPPH (Puunponen-Pimiä et al., 2003) basado en la capacidad de los antioxidantes para captar radicales libres. El DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl) es un radical libre que puede reaccionar directamente con los antioxidantes (Smith et al., 1987; Jiménez et al., 1998; Koleva et al., 2002). Para evaluar la actividad antioxidante de compuestos específicos o extractos, éstos deberán reaccionar con el radical estable en disolución de metanol. La reducción a DPPH-H es controlada gracias a la disminución de su absorbancia a la longitud de onda característica en un tiempo determinado de reacción. En la forma radical, el DPPH absorbe a 515 nm, pero al ser reducido con un antioxidante o especies radicales, la absorbancia desaparece.

La muestra fue diluida en la proporción muestra:metanol adecuada en cada caso y se centrifugó a 10.000 rpm durante 10 minutos a 4°C. Para el análisis de las muestras se tomó 0,1 mL del sobrenadante y se introdujo en una cubeta a la que se añadieron 3,9 mL de DPPH (0,0030 g/L). Se midió la absorbancia a 515 nm en un espectrofotómetro UV-visible (Thermo Electron Corporation, Estados Unidos) a intervalos de 0,15 minutos hasta que la reacción se estabilizó. Los análisis se realizaron por triplicado.

Los resultados se expresaron en % DPPH según la ecuación 1

$$\%DPPH = \frac{(A_{control} - A_{muestra})}{A_{control}} 100 \quad (1)$$

donde:

$A_{control}$  = absorbancia de control (absorbancia de la muestra a tiempo 0)

$A_{muestra}$  = absorbancia de la muestra cuando el tiempo se ha estabilizado

#### 4.7 Digestión *in vitro* de los zumos

La digestibilidad *in vitro* de la muestra se evaluó mediante el método de digestión *in vitro* estandarizado apto para alimentos (COST INFOGEST) propuesto por Minekus et al., 2018.

El protocolo de digestión se resume en la Figura 2, donde se han seguido las 4 fases: fase oral, formada por la mezcla de la muestra y simulación de líquido salival (SSF) (1:1) con amilasa a pH 7 durante 2 min; fase gástrica, se mezcló el bolo oral y el fluido gástrico simulado (SGF) (1:1) con pepsina a pH 3 durante 2 h; fase intestinal, mezclar el quimo gástrico y el líquido intestinal simulado (SIF) (1:1) con enzimas a pH 7 durante 2 h; y filtración, centrifugar a 4500 rpm durante 30 min y luego filtrar a través de un 1  $\mu$ m membrana de fibra de vidrio.

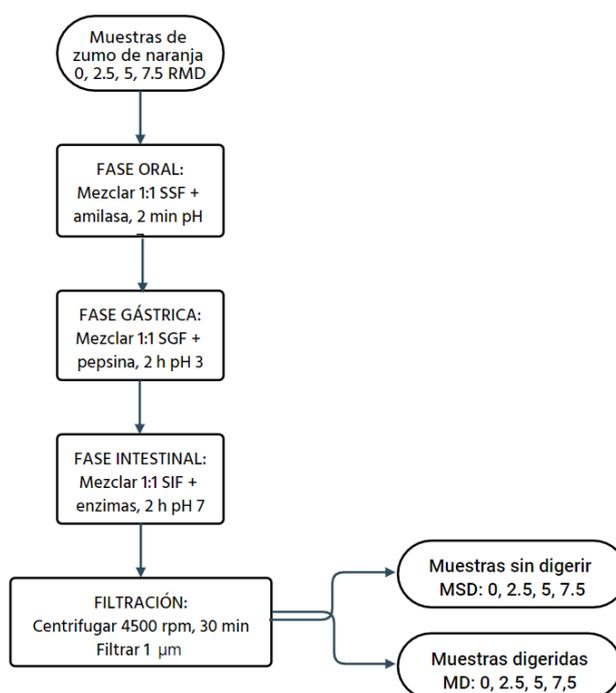


Figura 2: Diagrama de flujo método de digestión *in vitro*. SSF SGF SIF son Fluido Salivar Simulado, Fluido Gástrico Simulado, Fluido Intestinal Simulado respectivamente.

La digestibilidad *in vitro* (DIV) (%) se calculó como la diferencia entre la masa inicial y la masa no digerida dividido por el valor inicial de masa y multiplicado por 100 (Batista et al., 2017). Los análisis se realizaron por triplicado.

A las muestras digeridas se les determinó el contenido en AA, vitamina C, fenoles totales, carotenoides totales y actividad antioxidante según se ha descrito en los apartados anteriores.

#### **4.8. Análisis estadísticos**

Para el estudio estadístico de los resultados obtenidos se realizó un análisis estadístico mediante ANOVA para evaluar la significación de los factores en estudio. Para ello, se utilizó el paquete estadístico Statgraphics Centurión XVII (StatisticalGraphics Corp., Orkville, USA). Se utilizó el nivel de confianza del 95% y cuando se observaron diferencias significativas, se analizaron las diferencias entre los niveles mediante el análisis de contraste múltiple de rango LSD. Además, se realizaron correlaciones de Pearson con un nivel de confianza del 95% con el mismo paquete estadístico.

## 5. RESULTADOS:

### 5.1. Efecto de la adición de MDR en los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante

Se evaluaron para cada muestra pH y °Brix como parámetros básicos de control (Tabla 4). Además, se encuentran relacionados con la estabilidad de compuestos bioactivos en productos derivados de plantas (Sánchez-Moreno *et al.*, 2003). En el zumo de naranja, los sólidos solubles son principalmente azúcares que, con el contenido de ácido cítrico, determinan el equilibrio característico de dulzura y acidez que hacen que el zumo de naranja sea atractivo para los consumidores (Wibowo *et al.*, 2015).

Los valores obtenidos para las muestras control OJP0 y OJWP0 coincidieron con los reportados por otros autores (Sánchez-Moreno *et al.*, 2003; Wibowo *et al.*, 2015; Mennah-Govela y Bornhorst, 2017).

El aumento de las concentraciones de MDR provocó un aumento significativo ( $p < 0,05$ ) en los °Brix de todas las muestras; otros estudios similares, reportaron que la adición de fibra prebiótica condujo a un aumento de los °Brix en bebidas de frutas, lo cual se muestra en concordancia con los resultados obtenidos (Igual *et al.*, 2019; Pimentel *et al.*, 2015). También se puede observar que, la presencia de pulpa reduce ligeramente los °Brix de las muestras. La MDR, al ser una fibra soluble en matrices acuosas, aumentará la concentración de sólidos solubles totales en el zumo, mientras que la pulpa de naranja, al tratarse de una fibra insoluble, reducirá ligeramente el valor de grados Brix. Por tanto, los prebióticos van más allá de sus propiedades funcionales aportando al dulzor, la textura y la sensación en boca y se han propuesto como sustitutos del azúcar (Priya, 2020; Singla y Chakkaravarthi, 2017).

Las diferencias observadas en los valores de pH aunque significativas algunas de ellas son muy pequeñas (Tabla 1). Por lo tanto, las muestras fueron similares en cuanto al pH de estas.

Tabla 4: Valores medios (y desviación estándar) de pH y °Brix para zumo de naranja pasteurizado

Muestra	°Brix		pH	
OJP0	11,5	(0,2) <sup>g</sup>	3,64	(0,02) <sup>b</sup>
OJP2,5	13,8	(0,2) <sup>e</sup>	3,63	(0,02) <sup>b</sup>
OJP5	16,6	(0,2) <sup>c</sup>	3,62	(0,02) <sup>bc</sup>
OJP7,5	18,4	(0,2) <sup>a</sup>	3,64	(0,02) <sup>b</sup>
OJWP0	11,2	(0,2) <sup>h</sup>	3,62	(0,02) <sup>c</sup>
OJWP2,5	13,6	(0,2) <sup>f</sup>	3,66	(0,02) <sup>a</sup>
OJWP5	16,4	(0,2) <sup>d</sup>	3,66	(0,02) <sup>a</sup>
OJWP7,5	18,2	(0,2) <sup>b</sup>	3,59	(0,02) <sup>d</sup>

La letra indicada en superíndice dentro de las columnas hace referencia a los grupos homogéneos establecidos por ANOVA ( $p < 0,05$ ).

En la Tabla 5 se muestran los valores medios y desviaciones estándar de los compuestos bioactivos analizados en todos los zumos. Se obtuvieron valores significativamente mayores ( $p < 0,05$ ) de carotenoides totales (CT) en las muestras con presencia de pulpa, probablemente porque el contenido de CT es mayor en la pulpa que en el zumo de naranja. La adición de

maltodextrina resistente (MDR) protegió de manera significativa ( $p < 0,05$ ) a los zumos ante la pasteurización de la degradación de CT. Además, mayores concentraciones de MDR en el zumo de naranja mostraron significativamente ( $p < 0,05$ ) mayores valores de CT tanto en los zumos OJP como OJWP. Existen estudios que indican, que el tratamiento térmico y mecánico de los alimentos puede aumentar la biodisponibilidad de los carotenoides al favorecer su liberación de la matriz, esto se debe a que el procesamiento contribuye a la rotura de paredes celulares, orgánulos intracelulares, asociaciones proteína-carotenoide y al incremento en la digestibilidad del alimento (Ornelas-Paz *et al.*, 2008; Canene-Adams y Erdman Jr, 2009; Yahia y Ornelas-Paz, 2010). Sin embargo, si bien el procesamiento puede favorecer la absorción de carotenoides, es importante controlar la temperatura, tiempo y otras condiciones, ya que tratamientos muy severos pueden producir pérdidas excesivas de carotenoides (Rodríguez-Amaya, 1997; Van Jaarsveld *et al.*, 2006; Gibson, Perlas y Hotz, 2007; Maiani *et al.*, 2009). Los resultados obtenidos sugieren que la presencia de MDR realiza un papel protector frente a la degradación de los carotenoides durante su pasteurización. Estudios similares en zumos de naranjas, reportaron un menor contenido de CT en productos frescos, homogeneizados a alta presión y zumos de naranja pasteurizados. (Stinco *et al.*, 2020; Velázquez-Estrada *et al.*, 2013). También se obtuvieron valores de CT más bajos en zumos de naranja comerciales almacenados a temperatura ambiente, fría y congelada (Sánchez-Moreno *et al.*, 2003) y en una mezcla de zumos de fruta de naranja, piña y kiwi. (Rodríguez-Roque *et al.*, 2021). La evaluación de los carotenoides en los productos cítricos es difícil debido a su complejo perfil de carotenoides y a la acidez inherente de estos productos (Melendez-Martinez *et al.*, 2007; Melendez-Martinez *et al.*, 2008), esto puede explicar los diferentes resultados obtenidos en distintos estudios realizados.

Tabla 5. Promedios (y desviaciones estándar) del contenido en carotenoides totales (CT), ácido ascórbico (AA), Vitamina C, fenoles totales (FT) y la actividad antioxidante de los zumos estudiados.

Muestra	CT (mg <sub>β</sub> caroteno/100g de zumo)	AA (mg <sub>AA</sub> /100g de zumo)	Vitamina C (mg <sub>vitamina c</sub> /100g de zumo)	FT (mg <sub>GAE</sub> /100g de zumo)	AC (mg <sub>TE</sub> /100g de zumo)
OJP0	4,19 (0,02) <sup>e</sup>	4,54 (0,13) <sup>e</sup>	4,88 (0,05) <sup>cd</sup>	50,4 (0,4) <sup>e</sup>	51,88 (1,9) <sup>d</sup>
OJP2,5	4,54 (0,04) <sup>c</sup>	4,69 (0,05) <sup>d</sup>	5,02 (0,12) <sup>bc</sup>	53,65 (0,4) <sup>c</sup>	52,02 (2,4) <sup>d</sup>
OJP5	4,76 (0,01) <sup>b</sup>	4,6 (0,00) <sup>de</sup>	4,97 (0,03) <sup>bcd</sup>	55,29 (0,5) <sup>b</sup>	53,1 (0,4) <sup>cd</sup>
OJP7,5	5 (0,08) <sup>a</sup>	4,66 (0,02) <sup>de</sup>	5,53 (0,02) <sup>a</sup>	56,71 (0,3) <sup>a</sup>	54,06 (0,6) <sup>cd</sup>
OJWP0	3,25 (0,02) <sup>g</sup>	4,71 (0,04) <sup>cd</sup>	4,85 (0,02) <sup>d</sup>	49,01 (0,9) <sup>f</sup>	53,07 (0,6) <sup>cd</sup>
OJWP2,5	3,57 (0,00) <sup>f</sup>	4,83 (0,05) <sup>c</sup>	5,1 (0,10) <sup>b</sup>	51,64 (0,9) <sup>d</sup>	53,33 (0,1) <sup>cd</sup>
OJWP5	3,86 (0,02) <sup>e</sup>	5 (0,00) <sup>b</sup>	4,98 (0,01) <sup>bcd</sup>	53,8 (0,17) <sup>c</sup>	55,65 (0,3) <sup>bc</sup>
OJWP7,5	4,36 (0,08) <sup>d</sup>	5,17 (0,02) <sup>a</sup>	4,95 (0,09) <sup>bcd</sup>	53,77 (0,4) <sup>c</sup>	57,01 (1,2) <sup>a</sup>

La letra indicada en superíndice dentro de las columnas hace referencia a los grupos homogéneos establecidos por ANOVA ( $p < 0,05$ ).

El contenido en AA y vitamina C de las muestras OJP0 y OJWP0 fueron ligeramente inferiores a los obtenidos por otros autores en naranja fresca y zumo pasteurizado (Aschoff *et al.*, 2015). El contenido de compuestos bioactivos en los zumos de frutas está influenciado por muchos aspectos, como el sistema de postcosecha, cultivo o procesamiento. Por lo tanto, puede resultar difícil encontrar rangos similares de compuestos bioactivos, ya que muchos aspectos influyen en su cuantificación. El contenido en AA y vitamina C de las muestras con presencia de MDR fue significativamente ( $p < 0,05$ ) mayor en comparación con aquellas muestras control OJP0 y OJWP0. La adición de pulpa en los zumos no afectó de manera significativa al contenido de AA y vitamina C ( $p > 0,05$ ). El aumento de la concentración de MDR no presentó efecto significativo en los valores de AA para OJP, aunque, sí supuso un aumento significativo ( $p < 0,05$ ) al aumentar

el % de MDR en OJWP. Las muestras de zumo de naranja OJP presentaron menores concentraciones de AA, y mayores valores de vitamina C que OJWP. Los valores de vitamina C fueron máximos para OJP7,5, sin embargo, no se encontró ningún efecto significativo en la adición de MDR para el resto de muestras OJP. Para las muestras OJWP, la adición de MDR en diferentes concentraciones no provocó diferencia significativa en los valores de vitamina C ( $p > 0,05$ ). Tal y como sugieren Rodríguez-Roque *et al.*, (2013) la pulpa de naranja podría interactuar con la MDR para aumentar la protección de la vitamina C contra enzimas oxidativas cuando se altera la matriz alimentaria por tratamiento térmico, en este caso la pasteurización. La adición de MDR parece ejercer un efecto protector sobre la vitamina C. Acorde a nuestros resultados, un estudio similar sobre el efecto de fibras prebióticas en jugo de acerola tratado térmicamente demostró que los prebióticos pueden ejercer una función protectora sobre la vitamina C (Alves Filho *et al.*, 2018).

En cuanto a la concentración de fenoles totales (FT), las muestras sin presencia de pulpa registraron menores valores que aquellas muestras con pulpa. Estos resultados coinciden con De Ancos *et al.*, (2017) que determinaron que la pulpa de naranja tenía una concentración de FT 1,6 veces mayor que el zumo de naranja; por lo tanto, podemos decir que la presencia de pulpa aporta al zumo de naranja un mayor contenido en FT. Un estudio sobre los componentes bioactivos en zumo de pomelo reportó valores similares de FT (Igal *et al.* 2009) sin embargo, otro estudio realizado por Rodríguez-Roque *et al.*, (2015) en zumo de fruta a partir de naranja, kiwi, piña y mango obtuvo menores concentraciones de FT. El efecto del procesamiento sobre la concentración de FT depende del tipo de alimento, su matriz alimentaria y la naturaleza de los compuestos fenólicos en los alimentos, así como la intensidad y duración del tratamiento térmico (Chandrasekara *et al.*, 2012); esto puede explicar la variación de los valores obtenidos en los diferentes estudios. La presencia de MDR protegió durante la pasteurización de manera significativa ( $p < 0,05$ ) la degradación de los FT, además, se observaron diferencias significativas entre las muestras en función del % de MDR, excepto en el caso de OJWP7,5. A mayor % MDR en el zumo de naranja, el contenido de FT fue mayor.

La actividad antioxidante (AC) de las muestras sin pulpa fue superior a la de las muestras con pulpa. En ambos casos la adición de MDR provocó una mayor actividad antioxidante en las muestras después de la pasteurización. Sin embargo, únicamente OJWP7,5 mostró diferencias significativas con el resto de las muestras ( $p < 0,05$ ). Agregar fibras prebióticas, como MDR, podría desempeñar un papel clave en la preservación de los compuestos bioactivos. Un estudio informó que la adición de inulina (prebiótico) al jugo de acerola mostraba un efecto protector en la conservación compuestos bioactivos (vitamina C y FT) después del procesamiento térmico, lo que conduce a una AC más alta (Alves Filho *et al.*, 2018). Podemos sugerir que, la MDR ayuda a mantener en mayor medida la concentración de la mayoría de los compuestos bioactivos, por tanto, su actividad antioxidante también se verá positivamente afectada (Liu, 2003). Para poder establecer las relaciones entre los compuestos bioactivos analizados y la actividad antioxidante se obtuvieron los coeficientes de correlación de Pearson. AA mostró la mayor contribución positiva significativa a la actividad antioxidante presentando un coeficiente de 0.7310 ( $p < 0,05$ ). En los zumos de frutas, está ampliamente aceptada la relación del AC principalmente con el contenido de AA y TP (Sanchez-Moreno *et al.*, 2003; Xu *et al.*, 2008; Igal *et al.*, 2016).

## **5.2 Efecto de la MDR en la digestibilidad *in vitro* y la bioaccesibilidad de los compuestos bioactivos:**

En la figura 3 se muestran los valores medios y las desviaciones estándar del porcentaje de digestibilidad *in vitro* (IVD) de los zumos estudiados. Todas las muestras de zumo de naranja presentaron un alto % de IVD ya que el zumo de naranja tiene una matriz acuosa con monosacáridos (glucosa y fructosa) y disacáridos (sacarosa) (Wibowo *et al.*, 2015) que son fáciles

de digerir. Aunque la adición de MDR al zumo de naranja cambió ligeramente su digestibilidad, especialmente cuando se aplicaron dosis más altas de MDR, no se observa una tendencia clara. OJWP5 tuvo el % de IVD significativamente más bajo ( $p < 0,05$ ) mientras que OJWP7,5 tuvo una digestibilidad significativamente mayor ( $p < 0,05$ ). Además, a pesar de no ejercer un efecto significativo ( $p > 0,05$ ), la pulpa de naranja redujo levemente la digestibilidad del zumo de naranja, debido a que las muestras de OJP presentaron menor % de IVD que OJWP. Esto podría deberse, a que la pulpa de naranja es una fibra insoluble que normalmente contiene grandes cantidades de polisacáridos de la pared celular (Schalow *et al.*, 2018), lo que podría presentar una digestibilidad difícil en comparación con los jugos de naranja sin pulpa.

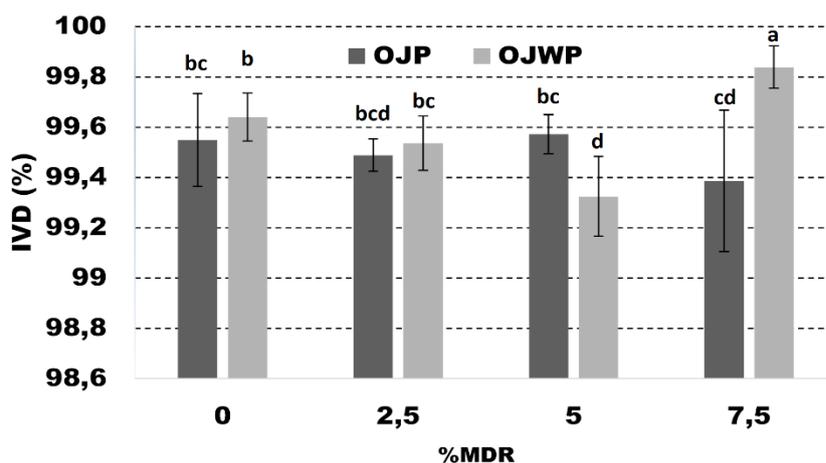


Figura 3: Valores medios y desviación estándar del % de IVD de zumo de naranja pasteurizado (OJP y OJWP) con 0, 2.5, 5 y 7.5 %MDR. Las letras indican los grupos homogéneos establecidos por el ANOVA ( $p < 0,05$ ). OJP, zumo de naranja con pulpa; OJWP, zumo de naranja sin pulpa.

La bioaccesibilidad de CT obtenida para todas las muestras se puede observar en la Figura 4. Sus valores se encuentran en el mismo rango que las reportadas en otros estudios elaborados en zumos de naranja (Rodríguez-Roque *et al.*, 2013; Stinco *et al.*, 2020). La adición de pulpa de naranja al jugo de naranja disminuyó significativamente la bioaccesibilidad de CT ( $p < 0,05$ ). Los resultados obtenidos son comparables con los obtenidos en otros estudios similares (Rodríguez-Roque *et al.*, 2021), que sugirieron que la bioaccesibilidad y la tasa de absorción de los carotenoides se ve afectada negativamente por la presencia de fibra. Además, estos datos se muestran en concordancia con ciertos estudios realizados sobre el efecto negativo de diferentes fibras en la bioaccesibilidad y absorción de carotenoides (Pasquier *et al.*, 1996; Canene-Adams y Erdman Jr, 2009) y como la presencia de pulpa reduce el % de bioaccesibilidad de estos. Otros estudios que sugieren que la pectina cítrica intrínseca puede tener un fuerte efecto inhibitor en la absorción del  $\beta$ -caroteno (Yonekura y Nagao, 2007; Aschoff *et al.*, 2015). Esto también podría explicar por qué la adición de MDR al jugo de naranja disminuyó moderadamente ( $p < 0,05$ ) la bioaccesibilidad de TC en comparación con las muestras de control, aunque el aumento de las concentraciones de MDR no provocaron un efecto más fuerte ( $p > 0,05$ ).

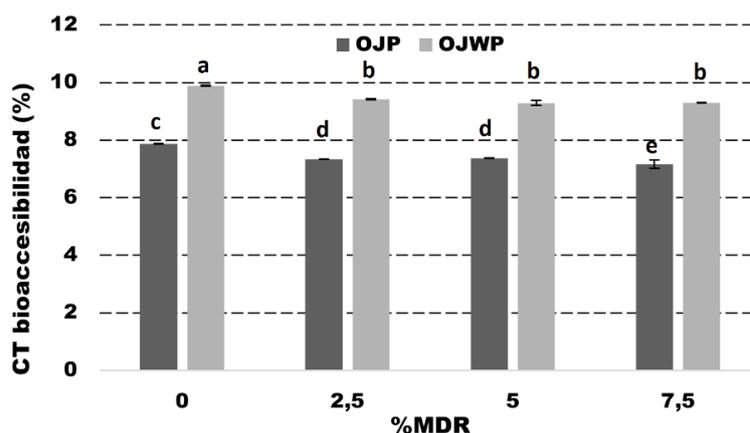


Figura 4 Valores medios y desviación estandar del % de bioaccesibilidad de carotenoides totales (CT) del zumo de naranja pasteurizado (OJP y OJWP) con 0, 2,5, 5 y 7,5 %MDR. Las letras indican los grupos homogéneos establecidos por el ANOVA ( $p < 0,05$ ). OJP, zumo de naranja con pulpa; OJWP, zumo de naranja sin pulpa.

La bioaccesibilidad de los FT (Figura 5) fue ligeramente mayor ( $p < 0,05$ ) para las muestras OJWP en comparación con OJP, lo que sugiere que la pulpa de naranja, a pesar de incluir hesperidina al zumo de naranja (Iglesias-Carres *et al.*, 2019), disminuye la liberación de fenoles de las matrices alimentarias. Algunos estudios similares en bebidas de frutas afirman que la interacción de los fenoles con la fibra alimentaria en la digestión in vitro puede llegar a reducir la solubilidad y biodisponibilidad de estos. (Argyri *et al.*, 2006; Saura-Calixto *et al.*, 2007; Schallow *et al.*, 2018). Por otro lado, la presencia de MDR mejoró significativamente su bioaccesibilidad, sin embargo, la adición de diferentes concentraciones de MDR no tuvo efectos significativos ( $p > 0,05$ ). Factores como el pH bajo y la acción enzimática de la digestión gástrica podría hidrolizar algunas sustancias fenólicas unidas a proteínas y carbohidratos de la matriz alimentaria, lo cual puede aumentar la concentración de estos compuestos bioactivos (Saura-Calixto *et al.*, 2007). El efecto de la fibra en la bioaccesibilidad de los fenoles está más relacionado a la capacidad de solubilización de la fibra en la matriz alimentaria; la pulpa del zumo de naranja, al ser insoluble, reducirá los valores de bioaccesibilidad, sin embargo, la adición de MDR (soluble) la mejora.

Se sabe que el procesamiento cambia algunos aspectos fisicoquímicos de los compuestos fenólicos y, por lo tanto, también puede modificar (aumentar o reducir) la bioaccesibilidad de estos compuestos. En un estudio realizado por Rodríguez-Roque *et al.*, (2014) sobre el efecto de diferentes tratamientos en los compuestos bioactivos, el procesamiento tuvo una influencia variable en la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos en bebidas a base de fruta. La bioaccesibilidad más baja de compuestos fenólicos se encontró en bebidas tratadas térmicamente. Podemos concluir que, la adición de MDR realiza un papel protector en los compuestos fenólicos frente a los tratamientos térmicos.

Diferencias entre estos resultados y aquellos obtenidos en la presente investigación podría explicarse por el hecho de que los constituyentes fenólicos pueden mostrar antagonistas o interacciones sinérgicas entre ellos o con otras sustancias, dependiendo de la matriz alimentaria (Rice-Evans *et al.*, 1997).

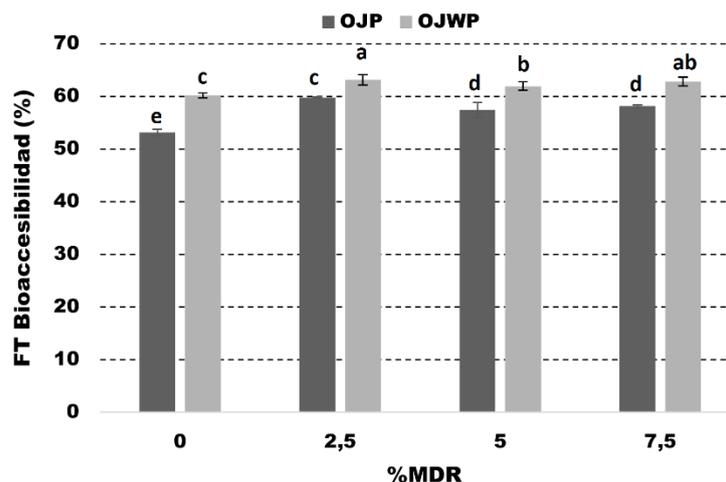


Figura 5 Valores medios y desviación estandar del % de bioaccesibilidad de fenoles totales (FT) del zumo de naranja pasteurizado (OJP y OJWP) con 0, 2,5, 5 y 7,5 %MDR. Las letras indican los grupos homogéneos establecidos por el ANOVA ( $p < 0,05$ ). OJP, zumo de naranja con pulpa; OJWP, zumo de naranja sin pulpa.

La figura 6 muestra los valores medios y desviaciones estándar de la bioaccesibilidad de AA (a) y vitamina C (b). En cuanto a la bioaccesibilidad del AA (Figura 5a), todas las muestras OJP presentaron valores de bioaccesibilidad significativamente mayor ( $p < 0,05$ ) de AA en comparación con OJWP. Los resultados sugieren que la presencia de pulpa en el zumo de naranja realiza un papel protector frente a la degradación del AA. En las frutas y verduras, la fibra y otros compuestos como flavonas y taninos son capaces de quelar metales e impedir la oxidación del AA, favoreciendo su absorción. (Clemetson, 1989). La presencia de MDR apenas tuvo diferencias significativas con las muestras control tanto para OJP como para OJWP, sin embargo, cabe destacar un aumento en la bioaccesibilidad de AA para OJP5 en relación con el resto de muestras. Pese a la existencia de una diferencia notable entre las muestras con y sin pulpa en la bioaccesibilidad de AA, los niveles de bioaccesibilidad de vitamina C se mantienen similares entre OJP y OJWP. Otros estudios similares, sugieren que la continua reacción de degradación oxidativa del ácido ascórbico a otras formas oxidadas, como como ácido dehidroascórbico, también presenta actividad biológica como vitamina C (Russell, 2004). Rodríguez-Roque *et al.* (2013) afirma que, el pH alcalino y algunos factores inherentes a la digestión gastrointestinal in vitro, como la temperatura, el oxígeno, la luz y la actividad enzimática mejoran la oxidación de la vitamina C o la formación de complejos con otros componentes. Este puede ser el motivo por el cual los valores de bioaccesibilidad de vitamina C fueron mayores que los de AA. (Igual *et al.*, 2009).

Todas las muestras de OJP y OJWP mostraron resultados comparables de vitamina C (Figura 5b) con aquellos reportados por De Ancos *et al.*, (2017), que estudio la influencia de los cultivos de naranja y mandarina postcosecha en la vitamina C, durante la digestión in vitro. Sin embargo, otros estudios basados en bebidas a base de frutas reportaron menores % de bioaccesibilidad de la vitamina C. (Rodríguez-Roque *et al.*, 2013; Rodríguez-Roque *et al.*, 2015; Uğur *et al.*, 2020). Esto puede ser debido a que la matriz y el procesamiento afectan a la bioaccesibilidad de la vitamina C y los compuestos fenólicos en las bebidas a base de zumo de frutas. (Rodríguez-Roque *et al.*, 2015). Excepto para las muestras control donde OJWP obtuvo una mayor bioaccesibilidad de vitamina C que OJP ( $p < 0,05$ ), el resto de muestras de zumo de naranja con pulpa OJP mostraron una mayor bioaccesibilidad que las muestras sin pulpa OJWP. Esto sugiere que la adición de MDR en el zumo de naranja puede llegar a interactuar con la pulpa de la naranja y aumentar la concentración de DHAA durante la digestión in vitro. La adición de MDR

aumentó significativamente la bioaccesibilidad de la vitamina C en OJP, especialmente cuanto mayor son las concentraciones de MDR (OJP7,5), sin embargo, no se encontraron efectos significativos ( $p > 0,05$ ) para las muestras OJWP. Estudios similares realizados con inulina han demostrado una mejora en la bioaccesibilidad de la vitamina C en el zumo de acerola (Alves Filho *et al.*, 2018).

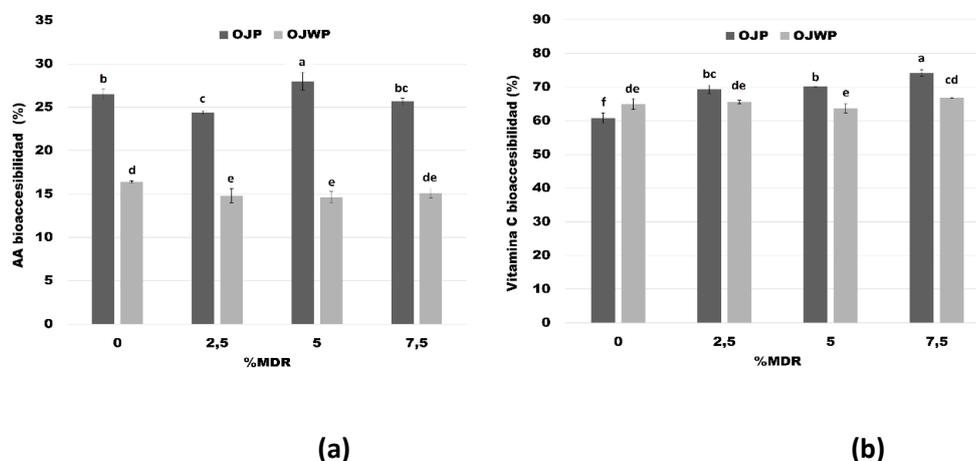


Figura 6: (a) Valores medios y desviación estandar del % de bioaccesibilidad del ácido ascórbico (AA) del zumo de naranja pasteurizado (OJP y OJWP) con 0, 2,5, 5 y 7,5 %MDR. (b) Valores medios y desviación estandar del % de bioaccesibilidad de la vitamina C del zumo de naranja pasteurizado (OJP y OJWP) con 0, 2,5, 5 y 7,5 %MDR. Las letras indican los grupos homogéneos establecidos por el ANOVA ( $p < 0,05$ ). OJP, zumo de naranja con pulpa; OJWP, zumo de naranja sin pulpa.

La Figura 6, muestra los valores medios y la desviación estandar de la AC después de la digestión gastrointestinal *in vitro* de los zumos de naranja pasteurizados. Los valores de AC oscilaron entre  $19.0 \pm 1.2$  y  $21.0 \pm 0.7$ . OJWP0 mostró los valores más altos de AC ( $p < 0,05$ ) mientras que OJP0 los más bajos ( $p < 0,05$ ), probablemente a causa del efecto provocado por la presencia de pulpa en la bioaccesibilidad de los compuestos bioactivos. La adición de MDR también provocó un ligero descenso ( $p < 0,05$ ) en los valores de AC, principalmente a mayores concentraciones de MDR, tanto OJP7,5 como OJWP7,5 obtuvieron los valores más bajos de AC.

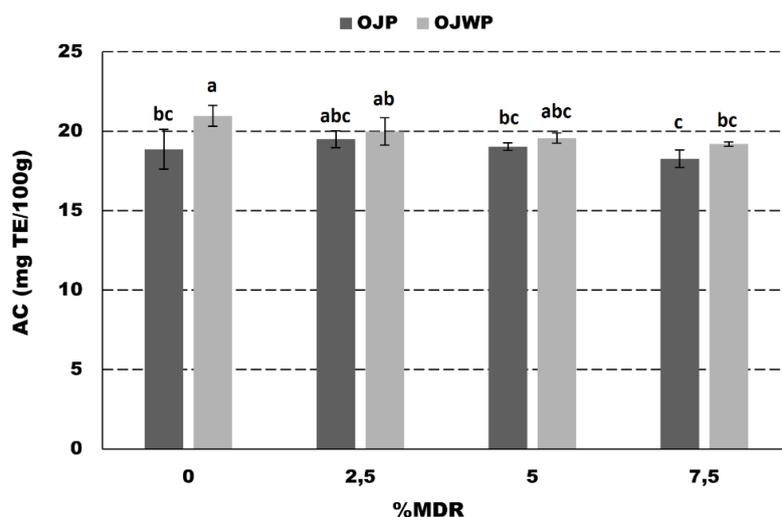


Figura 7: Valores medios y desviación estandar de la actividad antioxidante (AC) del zumo de naranja pasteurizado (OJP y OJWP) con 0, 2,5, 5 y 7,5 %MDR. Las letras indican los grupos homogéneos establecidos por el ANOVA ( $p < 0,05$ ). OJP, zumo de naranja con pulpa; OJWP, zumo de naranja sin pulpa.

La actividad antioxidante en zumos de frutas depende de la composición y concentración de sus antioxidantes, como vitaminas, fenoles y carotenoides (Liu, 2003; Sádecká *et al.*, 2014). Aunque la adición de MDR al zumo de naranja mostró un ligero efecto significativo ( $p < 0,05$ ) al disminuir la bioaccesibilidad de algunos compuestos bioactivos, la cantidad total de compuestos bioactivos que permanecieron disponibles para ser absorbidos en el intestino humano fueron mayores que los de las muestras control OJP0 y OJWP0. Las muestras a las que se le añadió MDR antes de la digestión *in vitro*, mostraron un mayor contenido de compuestos bioactivos, en términos absolutos, que las muestras de control.

## **6.CONCLUSIONES:**

La adición de MDR antes del proceso de pasteurización del zumo de naranja realizó un efecto protector en los compuestos bioactivos estudiados, TP, TC, AA, Vitamina C, así como AC. Además, este efecto fue mayor para concentraciones de MDR más altas. Por otro lado, el zumo de naranja con pulpa presentó valores significativamente más altos de compuestos bioactivos; la pulpa de naranja puede ser un factor clave en las propiedades antioxidantes del zumo de naranja pasteurizado.

En relación con la bioaccesibilidad, la adición de RMD mejoró la bioaccesibilidad de TP y Vitamina C, pero disminuyó la bioaccesibilidad de TC y AA. El valor de AC de las muestras después de la digestión gastrointestinal se redujo ligeramente mediante la adición de RMD.

Este estudio muestra que la MDR podría tener aplicaciones interesantes en el campo de la tecnología alimentaria ya que genera beneficios relacionados con la salud. Además de las propiedades prebióticas de la MDR, también desarrolla otra función protectora en los compuestos que promueven la salud, de la degradación causada por el tratamiento térmico, que es el medio más común para preservar zumos de fruta. Sería interesante el desarrollo de estudios para conocer la evolución y estabilidad de los compuestos bioactivos en presencia de MDR durante el almacenamiento.

## 7.BIBLIOGRAFÍA

ALVES FILHO, E.G.; SILVA, L.M.A.; DE BRITO, E.S.; WURLITZER, N.J.; FERNANDES, F.A.N.; RABELO, M.C.; FONTELES, T.V.; RODRIGUES, S. (2018). Evaluation of thermal and non-thermal processing effect on non-prebiotic and prebiotic acerola juices using <sup>1</sup>H qNMR and GC-MS coupled to chemometrics. *Food Chem.*,265:23–31. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.038>

ARGYRI, K., KOMAITIS, M. & KAPSOKEFALOU, M. (2006). Iron decreases the antioxidant capacity of red wine under conditions of in vitro digestion. *Food Chem.*, 96:281–289. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.02.035>

ASCHOFF, J.K., KAUFMANN, S., KALKAN, O., NEIDHART, S., CARLE, R. & SCHWEIGGERT, R.M. (2015). In vitro bioaccessibility of carotenoids, flavonoids, and Vitamin C from differently processed oranges and orange juices [Citrus sinensis (L.) Osbeck]. *J. Agric. Food Chem.* 63:578–587. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/jf505297t>

BALL, G. F. M. (2006). *Vitamins in Foods: Analysis, Bioavailability, And Stability*; CRC/Taylor & Francis. Boca Raton, FL, Vol. 156. Disponible en: <https://www.routledge.com/Vitamins-In-Foods-Analysis-Bioavailability-and-Stability/Ball/p/book/9781574448047>

BALTES, W. (2006). *Química de los alimentos*. Editorial Acribia D.L. Zaragoza, España.

BATISTA, A.P., NICCOLAI, A., FRADINHO, P., FRAGOSO, S., BURSIC, I., ...& RAYMUNDO, A. (2017). Microalgae biomass as an alternative ingredient in cookies: Sensory, physical, and chemical properties, antioxidant activity and in vitro digestibility. *Algal Res.* 26:161–171.

BERNAL CASTRO, C.A., DÍAZ-MORENO, C. & GUTIÉRREZ-CORTÉS, C. (2017). Probióticos y prebióticos en matrices de origen vegetal: Avances en el desarrollo de bebidas de frutas. *Revista chilena de nutrición*, 44(4):383-392. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.4067/s0717-75182017000400383>

BINNS, NINO. (2013). Probiotics, prebiotics and the gut microbiota. *ILSI Europe a.i.s.b.l.*

BENZIE, I. F. F. & STRAIN, J. J. (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified versión for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*, 299:15-27. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(99\)99005-5](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(99)99005-5)

BRAGA, HF. & CONTI-SILVA, AC. (2015). Papaya nectar formulated with prebiotics: Chemical characterization and sensory acceptability. *LWT - Food Sci Technol*, 62(1): 854-860. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.12.064>

BRODERICK G. (1994). Quantifying forage protein quality. En: FAHEY G, (Ed.) *Forage quality, evaluation and utilization*. American Society of Agronomy Inc. Madison, WI.

BOCHI-BRUM O, CARRO D, VALDÉS C, GONZÁLEZ J Y LÓPEZ S. (1999). Digestibilidad in vitro de forrajes y concentrados: efecto de la ración de los animales donantes de líquido ruminal. *Arch Zoot*, 48:51-61. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4119.pdf>

CANENE-ADAMS, K. & ERDMAN JR, J.W. (2009). En: G. Britton, S. Liaaen-Jensen, H. Pfander (eds.) *Carotenoids. Vol. 5. Nutrition and Health*. Birkhäuser. Basilea, Boston, Berlín. pp. 115 - 148. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/321612824\\_Carotenoids\\_Volume\\_5\\_Nutrition\\_and\\_Health](https://www.researchgate.net/publication/321612824_Carotenoids_Volume_5_Nutrition_and_Health)

CHANDRASEKARA, A., NACZK, M., & SHAHIDI, F. (2012). Effect of processing on the antioxidant activity of millet grains. *Food Chemistry*, 133(1):1–9. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.043>

CHURCH, D. C. Y W. G. POND. (1994). Fundamentos de nutrición y alimentación de animales. *Editorial Limusa, S. A. de C. V. Grupo Noriega Editores*. México. pp 438.

CLEMETSON, B.A. (2009). *Vitamin C* Vol. 1. CRC Press. United States. pp. 336. Disponible en: <https://www.routledge.com/Vitamin-C-Volume-I/Clemetson/p/book/9781315898469>

CORZO, N., ALONSO, J., AZPIROZ, F., CALVO, M., CIRICI, M., LEIS, R., ... CLEMENTE, A. (2015). Prebióticos; concepto, propiedades y efectos beneficiosos. *Nutrición Hospitalaria*, 3: 99-118 Disponible en: <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.sup1.8715>

COURRAUD J, BERGER J, CRISTOL JP, AVALLONE S. (2013). Stability and bioaccessibility of different forms of carotenoids and vitamin A during in vitro digestion. *Food Chem* 136(2):871–7. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.076>

DE ANCOS, B.; CILLA, A.; BARBERÁ, R.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; CANO, M.P. (2017). Influence of orange cultivar and mandarin post-harvest storage on polyphenols, ascorbic acid and antioxidant activity during gastrointestinal digestion. *Food Chem.*, 225:114–124. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.098>

DIPLOCK, A. T.; CHARLEUX, J. L.; CROZIER-WILLI, G.; KOK F.J.; RICE-EVANS, C. ...& VINA-RIBES, J. (1998). Functional food science and defense against reactive oxidative species. *British Journal of Nutrition*, 80:77-112.

EROSKI. Guía práctica de frutas. Naranja. Consultado el 01/ 09/2020. Disponible en: <https://frutas.consumer.es/naranja/propiedades>

FUNDACIÓN ESPAÑOLA DE NUTRICIÓN (FEN) *Valor Nutricional de las Naranjas y Clementinas*. Consultado el 03-04-2021. Disponible en: <https://www.fen.org.es/storage/app/media/imgPublicaciones/432011819.pdf>

FERNÁNDEZ-GARCÍA, E., CARVAJAL-LÉRIDA, I., & PÉREZ-GÁLVEZ, A. (2009). In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. *Nutrition research (New York, N.Y.)*, 29(11), 751–760. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2009.09.016>

GEY, K.F., STAHELIN, H.B., EICHHOLZER, M. (1993). Poor plasma status of carotene and vitamin C is associated with higher mortality from ischemic heart disease and stroke: Basel prospective study. *Clinical Investigator*, 71(1):3-6. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/bf00210955>

GIBSON, G., PROBERT, H., VAN LOO, J., RASTALL, R., ROBERFROID, M. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, 17:257-9. Disponible en: <https://doi.org/10.1079/NRR200479>

GIL-IZQUIERDO, A., GIL, M. & FERRERES. F. (2002). Effect of Processing Techniques at Industrial Scale on Orange Juice Antioxidant and Beneficial Health Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50:5107- 5117. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/jf020162+>

GIONFRIDDO, F., POSTORINO, E., & BOVALO, F. (1996). I flavanoni glucosidici nel succo di bergamotto. *Essenze-Derivati Agrumari*, 66:404–416.

GRAY, J. (2006) *Dietary fibre: Definition, analysis, physiology & health*. En ILSI Europe Concise Monograph Series. ILSI Europe. Bruselas. 35 pp. Disponible en: [https://ilsi.eu/wp-content/uploads/sites/3/2016/06/CM\\_fibre\\_Spanish.pdf](https://ilsi.eu/wp-content/uploads/sites/3/2016/06/CM_fibre_Spanish.pdf)

HASHIZUME, C. & OKUMA, K. (2009). Fibersol<sup>®</sup>-2 resistant maltodextrin: Functional dietary fiber ingredient. En CHO, S.S. & SAMUEL, P. (Eds) *Fiber. Ingredients—Foods Applications and Health Benefits*, 1st ed. CRC Press: Boca Raton, FL, USA. pp. 61–78.

HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ, A., CORONEL RODRÍGUEZ, C., MONGE ZAMORANO, M., QUINTANA HERRERA, C. (2015). Microbiota, probióticos, prebióticos y simbióticos. *Pediatría Integral*, 19(5):337-54. Disponible en: <https://www.pediatriaintegral.es/publicacion-2015-06/microbiota-probioticos-prebioticos-y-simbioticos/>

HERNÁNDEZ, M.; SASTRE, A. (1999). Tratado de nutrición. Díaz de Santos. Madrid.

HERVALEJO, A., SALGUERO, A. y ARENAS, F.J. (2010). Variedades de cítricos de interés para la industria del zumo. *Vida Rural*, 317:62-66. Disponible en: [https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/Biblioteca/Revistas/pdf\\_Vrural/Vrural\\_2010\\_317E\\_34\\_38.pdf](https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/Biblioteca/Revistas/pdf_Vrural/Vrural_2010_317E_34_38.pdf)

IGUAL, M. G. M. E., GARCÍA-MARTÍNEZ, E., CAMACHO, M. M., & MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. (2010). Effect of thermal treatment and storage on the stability of organic acids and the functional value of grapefruit juice. *Food Chemistry*, 118(2), 291-299. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.118>

IGUAL, M., CEBADERA, L., CÁMARA, R.M., AGUDELO, C., MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. & CÁMARA, M.(2019). Novel ingredients based on grapefruit freeze-dried formulations: Nutritional and bioactive value. *Foods*, 8:506. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/foods8100506>

IGUAL, M., GARCÍA-MARTÍNEZ, E., CAMACHO, M. M., & MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. (2016). Stability of micronutrients and phytochemicals of grapefruit jam as affected by the obtention process. *Food science and technology international*,22(3):203–212. Disponible en: <https://doi.org/10.1177/1082013215585417>

INFOAGRO. *Agroalimentación: La Naranja: Cultivo y manejo de la naranja*: Visto el 06-04-2021. Disponible en: <https://www.infoagro.com/citricos/naranja.htm>

INFOAGRO. *Variedades de cítricos de interés para la industria del zumo*. Visto el 08-04-2021. Disponible en: [https://infoagro.com/citricos/variedades\\_citricos\\_industria\\_zumo.htm](https://infoagro.com/citricos/variedades_citricos_industria_zumo.htm)

JAKŠE, B., JAKŠE, B., PAJEK, M., & PAJEK, J. (2019). Uric Acid and Plant-Based Nutrition. *Nutrients*, 11(8):1736. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/nu11081736>

JHONNSON T.M. (2001). La Producción De Zumo De Cítricos Y La Aplicación De Tecnología Al Mercado De Productos Frescos. China/FAO Simposio Sobre Cítricos. Lakeland, Florida, USA. 79-85 pp. Disponible en: <http://www.fao.org/3/x6732s/x6732s11.pdf>

JIMÉNEZ, M.; ESCRIBANO-CEBRIÁN, J.; GARCÍA-CARMONA, F. (1998). Oxidation of the flavonol fisetin by polyphenol oxidase. *Biochim Biophys Acta*, 1425(3): 534-542. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/s0304-4165\(98\)00108-1](https://doi.org/10.1016/s0304-4165(98)00108-1)

JOHNSON CL, VERSALOVIC J. (2012). The human microbiome and its potential importance to pediatrics. *Pediatrics*,129:950-60. Disponible en: <https://doi.org/10.1542/peds.2011-2736>

Koleva, I.I.; Beek, T.A., Linszen, J.P.H., Groot, A. & Evstatieva, L.N. (2002). Screening of plant extracts for antioxidant capacity: a comparative study on 3 testing methods. *Phytochemistry Analysis*, 13(1): 8-17. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/pca.611>

LIU, R. H. (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *Am. J. Clin. Nutr.*, 78:517S–520S. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/ajcn/78.3.517S>

LIVESEY, G. & TAGAMI, H. (2009). Interventions to lower the glycemic response to carbohydrate foods with a low-viscosity fiber (resistant maltodextrin): Meta-analysis of randomized controlled trials. *Am. J. Clin. Nutr.*, 89:114–125 Disponible en: <https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.26842>

LOCKYER, S. & NUGENT, A.P. (2017). Health effects of resistant starch. *Nutr. Bull.* 42: 10–41 Disponible en: <https://doi.org/10.1111/nbu.12244>

LOZANO, C; TORRES, J.L.; JULIÀ L.; JIMÉNEZ, A; CENTELLES, J.J.; CASCANTE, M. (2005). Effect of new antioxidant cysteinyl-flavanol conjugates on skin cancer cells. *FEBS Lett*, 579: 4219-4225.

LORENTE, J., VARELO, M., ANCOS DE, B., MARTÍN GARCÍA, S., LÓPEZ, N., ... ESTURRO A. (2011). Aspectos industriales, en: *El libro del zumo*: Editorial Agrícola Española: 79-116. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10261/89988>

MACHEIX, J. J., FLEURIET, A. & BILLOT, J. (1990). The main phenolics of fruits. Fruit phenolics. Boca Raton, FL: *CRC Press*, pp. 1–103.

MANOJLOVI, V., NEDOVIC, V.A. & KAILASAPATHY, K. (2010). Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing. En: ZUIDAM NJ, NEDOVIC V, (eds). *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*. Springer New York. New York, NY. pp.269-302. Disponible en: <https://link.springer.com/book/10.1007%2F978-1-4419-1008-0>

MARIÑO GARCÍA, A., NÚÑEZ VELÁZQUEZ, M., BARRETO PENIÉIL, J. (2016). Microbiota, probióticos, prebióticos y simbióticos. *Revista Acta Médica*, 17(1):1-21. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/actamedica/acm-2016/acm161g.pdf>

MARTÍNEZ DE TODA, F. (2002). Viticultura de calidad: factores que afectan al contenido de compuestos fenólicos. *Revista ACE de Enología*. 21.

MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. CAMACHO, M.M.; GARCÍA-MARTÍNEZ, E.; MARTÍN- ESPARZA, M.E. (2007). Development of gel products containing fruit pieces using osmotic treatments without by-product generation. En: *Focus on Food Engineering Research and Developments*. Ed.: V. N. Pletney. Nova Science Publishers Inc. pp. 307-337.

MARTÍNEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M. J.; ROS, G. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Alan*, 50(1):5-18. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S00040622200000100001](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S00040622200000100001)

MARTINS, E.M.F., RAMOS, A.M., VANZELA, E.S.L., STRINGHETA, P.C., OLIVEIRA PINTO, DE C.L., MARTINS, JM. (2013). Products of vegetable origin: A new alternative for the consumption of probiotic bacteria. *Food Res Int*, 51(2): 764-770. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.01.047>

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A.J.; BRITTON, G.; VICARIO, I.M.; HEREDIA, F.J. (2008). The complex carotenoid pattern of orange juices from concentrate. *Food Chem.*, 109: 546–553. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.01.003>

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J., VICARIO, I. M. & HEREDIA, F. J. (2004). Nutritional importance of carotenoid pigments. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 54(2): 149-154. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222004000200003](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222004000200003)

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A.J.; VICARIO, I.M.; HEREDIA, F.J. (2007). Review: Analysis of carotenoids in orange juice. *J. Food Compos. Anal.*, 20:638–649. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2007.04.006>

MENNAH-GOVELA, Y.A. & BORNHORST, G.M. (2017). Fresh-squeezed orange juice properties before and during in vitro digestion as influenced by orange variety and processing method. *J. Food Sci.*, 82:2438–2447. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13842>

MONTES RAMÍREZ, L. (2013). Efecto de la microencapsulación con agentes prebióticos sobre la viabilidad de microorganismos probióticos (*Lactobacillus casei* ATCC 393 y *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 9469). Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/11893>

MOREIRAS O, VARELA-MOREIRAS G, ÁVILA JM, BELTRÁN B, CUADRADO C, DEL POZO S ET AL. (2009). *La alimentación española. Características nutricionales de los principales alimentos de nuestra dieta*. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.

NAVARRO MARTINEZ P. (2013). *Evaluación de parámetros de Calidad y Seguridad en Zumos de Mandarina*. (Tesis de doctorado, Universidad Católica de Murcia). Disponible en: [http://fseneca.es/cms/sites/default/files/Patricia%20Navarro\\_1.pdf](http://fseneca.es/cms/sites/default/files/Patricia%20Navarro_1.pdf)

NICOLETTI, M. Nutraceuticals and botanicals: overview and perspectives. (2012). *Int J Food Sci Nutr.*, 63: 2-6. Disponible en: <https://doi.org/10.3109/09637486.2011.628012>

OLMEDILLA ALONSO, B. (2015). *Biodisponibilidad y aspectos analíticos: fortalezas y debilidades*. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición-ICTANCSIC. Madrid, España.

ORNELAS-PAZ, J. DE J., FAILLA, M.L., YAHIA, E.M., GARDEA, A. (2008). Impact of the Stage of Ripening and Dietary Fat on in Vitro Bioaccessibility of  $\beta$ -Carotene in 'Ataulfo' Mango. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(4): 1511-1516. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/jf072751r>

PAMPLONA, J. (2003). Salud por los alimentos. *Safeliz*. Madrid. 102-103.

PARADA J. & AGULERA, M. *Food Sci*, 2007, 72(2), R21-R32.

PASQUIER, B., ARMAND, M., GUILLON, F., CASTELAIN, C., BOREL, P., BARRY, J.L., PIERONI, G., LAIRON, D. (1996). Viscous soluble dietary fibers alter emulsification and lipolysis of triacylglycerols in duodenal medium in vitro. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 7: 293-302. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/0955-2863\(96\)00030-7](https://doi.org/10.1016/0955-2863(96)00030-7)

PETERSON, J.; DWYER, J. (1998). Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity. *Nutrition Research*, 18(12): 1995–2018.

PIMENTEL, T.C.; MADRONA, G.S.; PRUDENCIO, S.H. (2015). Probiotic clarified apple juice with oligofructose or sucralose as sugar substitutes: Sensory profile and acceptability. *LWT Food Sci. Technol.* 62:838–846. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.08.001>

PRIYADARSHINI, A. & PRIYADARSHINI, A. Market dimensions of the fruit juice industry. En: RAJAURIA, G., TIWARI, B.K., (Eds). *Fruit Juices: Extraction, Composition, Quality and Analysis*, 1st ed. Elsevier: London, UK. pp. 15–32.

PROMCHAN, J. & SHIOWATANA, J. (2015). A dynamic continuous-flow dialysis system with on-line electrothermal atomic absorption spectrometric and pH measurements for in vitro

determination of iron bioavailability by simulated gastrointestinal digestion. *Anal. Bioanal. Chem*, 382:1360–1367.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; HAKKINEN, S.; AARNI, M.; SUORTTI, T.; LAMPI, A.; EUROLA, M.; PIIRONEN, V.; NUUTILA, A.; OKSMAN-CALDENTY. (2003). Blanching and longterm freezing affect various bioactive compounds of vegetables in different ways. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 83: 1389-1402. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/jsfa.1589>

REAL DECRETO 781/2013 de 11 de octubre, por el que se establecen normas relativas a la elaboración, composición, etiquetado, presentación y publicidad de los zumos de frutas y otros productos similares destinados a la alimentación humana. Boletín Oficial del Estado. pp.9.

RENUKA, B., KULKARNI, S.G., VIJAYANAND, P., PRAPULLA, S.G. (2009). Fructooligosaccharide fortification of selected fruit juice beverages: Effect on the quality characteristics. *LWT - Food Sci Technol*, 42(5): 1031-1033. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.11.004>

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci*. 2:152–159. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02227-9](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02227-9)

ROBERFROID, M., GIBSON, G.R., HOYLES L., MCCARTNEY, A.L., RASTALL, R., ROWLAND, I., ... MEHEUST, A. (2010). Prebiotic effects: metabolic and health benefits. *British Journal of Nutrition*, 104 Suppl 2, S1–S63. Disponible en: <https://doi.org/10.1017/S0007114510003363>

ROBINSON, D.; CALVO, M.; SEVILLANO, E. (1991). Bioquímica y valor nutritivo de los alimentos. *Acribia*. Zaragoza.

RODRÍGUEZ ALONSO, P., DURÁN VILLALOBOS, A., RUIZ MORENO, E., VALERO GASPAR, T., ÁVILA TORRES, J.M., VARELA MOREIRAS, G. (2018). Datos actuales sobre el consumo de zumos de frutas en España y sus propiedades nutricionales. Fundación Española de la Nutrición (FEN). Madrid. 50pp. Disponible en: [https://www.fen.org.es/storage/app/media/pdf/FEN\\_DOSSIER\\_VF.pdf](https://www.fen.org.es/storage/app/media/pdf/FEN_DOSSIER_VF.pdf)

RODRÍGUEZ-ROQUE, M. J., ROJAS-GRAÜ, M. A., ELEZ-MARTÍNEZ, P., & MARTÍN-BELLOSO, O. (2013). Changes in vitamin C, phenolic, and carotenoid profiles throughout in vitro gastrointestinal digestion of a blended fruit juice. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(8): 1859–1867. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/jf3044204>

RODRÍGUEZ-ROQUE, M.J., DE ANCOS, B., SÁNCHEZ-MORENO, C., CANO, M.P., ELEZ-MARTÍNEZ, P. & MARTÍN-BELLOSO, O. (2015). Impact of food matrix and processing on the in vitro bioaccessibility of vitamin C, phenolic compounds, and hydrophilic antioxidant activity from fruit juice-based beverages. *J. Funct. Foods*, 14:33–43. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.020>

RODRÍGUEZ-ROQUE, M.J., ROJAS-GRAÜ, M.A., ELEZ-MARTÍNEZ, P., MARTÍN-BELLOSO, O. (2013). Changes in vitamin C, phenolic, and carotenoid profiles throughout in vitro gastrointestinal digestion of a blended fruit juice. *J. Agric. Food Chem*. 1:1859–1867. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/jf3044204>

SÁNCHEZ SERRANO (2017). *Prebióticos en la mejora de la función gastrointestinal*. (Trabajo fin de grado. Universidad Complutense de Madrid.) Disponible en: <https://eprints.ucm.es/id/eprint/57000/>

SÁNCHEZ-MORENO, C., PLAZA, L., DE ANCOS, B. y CANO, M.P. (2003). Quantitative bioactive compounds assessment and their relative contribution to the antioxidant capacity of

commercial orange juices. *J. Sci. Food Agric.*, 83: 430–439. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/jsfa.1392>

SAURA-CALIXTO, F., SERRANO, J., & GOÑI, I. (2007). Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chem.*, 101:492–501. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.006>

SCHALOW, S., BALOUFAUD, M., COTTANCIN, T., FISCHER, J., DRUSCH, S. (2018). Orange pulp and peel fibres: Pectin-rich by-products from citrus processing for water binding and gelling in foods. *Eur. Food Res. Technol.*, 244:235–244. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00217-017-2950-y>

SELVENDRAN, R. R. & RYDEN, P. (1990). Methods in plant biochemistry Vol. 2. *Academic Press. London.* 549.

SMITH, R.C., REEVES, J.C., DAGE, R.C. & SCHNETTLER, R.A. (1987). Antioxidant properties of 2-imidazolones. *Biochem. Pharmacology*, 36(9):1457-1460.

STINCO, C.M.; SENTANDREU, E.; MAPELLI-BRAHM, P.; NAVARRO, J.L.; VICARIO, I.M.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A.J. (2020). Influence of high pressure homogenization and pasteurization on the in vitro bioaccessibility of carotenoids and flavonoids in orange juice. *Food Chem.*, 331:127259. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127259>

THAKUR, N., RAIGOND, P., SINGH, Y., MISHRA, T., SINGH, B., LAL, M.K., DUTT, S. (2020). Recent updates on bioaccessibility of phytonutrients. *Trends Food Sci. Technol.*, 97:336-380. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.019>

TUR, J.A. Y BIBILONI, M.M. (2015). Functional Foods. *Encyclopedia of Food and Health*, 1, 157-161.

TRIPOLI, E., LA GUARDIA, M., GIAMMANCO, S., DI MAJO, D., GIAMMANCO, M. (2007). Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties—A review. *Food Chemistry*, 104:466–479. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.11.054>

TYMCZYSZYN, E., GERBINO, E., ILLANES, A. & GÓMEZ-ZAVAGLIA, A. (2011). Galacto-oligosaccharides as protective molecules in the preservation of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. *Cryobiology*, 62(2): 123-129. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2011.01.013>

UGARTONDO, V. (2009). *Caracterización de derivados polifenólicos obtenidos de fuentes naturales. Citotoxicidad y capacidad antioxidante frente a estrés oxidativo en modelos celulares.* (Tesis doctoral. Facultad de farmacia. Universidad de Barcelona.) Barcelona.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE AGRICULTURAL RESEARCH SERVICE. (2017). *National Nutrient Database for Standard Reference Release 283.*

VÁZQUEZ-MARTÍNEZ, C., COS, A. y LOPEZ-NOMDEDEU, C. (2005). *Alimentación y nutrición: manual teórico-práctico.* Ediciones Díaz de santos. Madrid. 40.

VELÁZQUEZ-ESTRADA, R.M., HERNÁNDEZ-HERRERO, M.M., RÜFER, C.E., GUAMIS-LÓPEZ, B. & ROIG-SAGUÉS, A.X. (2013). Influence of ultra high pressure homogenization processing on bioactive compounds and antioxidant activity of orange juice. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 18: 89–94. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.02.005>

VILLAMIEL, M., MONTILLA, A., OLANO, A. & CORZO, N. (2014). Production and Bioactivity of Oligosaccharides Derived from Lactose. En: F.J. MORENO AND M.L. SANZ (Eds.) *Food*

*Oligosaccharides Production, Analysis and Bioactivity*. Wiley-Blackwell. Chichester, United Kingdom: 67-137.

WIBOWO, S.; GRAUWET, T.; SANTIAGO, J.S.; TOMIC, J.; VERVOORT, L.; HENDRICKX, M.; VAN LOEY, A. (2015). Quality changes of pasteurized Orange juice during storage: A kinetic study of specific parameters and their relation to colour instability. *Food Chem.* 187:140–151. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.131>

WILLS, E.D. (1985). Metal catalysts in the diet. En: Sies, H. (ed.). *Oxidative Stress*. Ed. Academic Press. New York, USA, pp. 206–208.

XU, G.; LIU, D.; CHEN, J.; YE, X.; MA, Y.; SHI, J. (2008). Juice components and antioxidant capacity of citrus varieties cultivated in China. *Food Chem.*, 106:545–551. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.046>Get rights and content

YAHIA, E. M., Y ORNELAS-PAZ, J. DE J. (2010) Chemistry, Stability, and Biological Actions of Carotenoids. En: L. A. DE LA ROSA, E. ALVAREZ-PARRILLA, G. A. GONZALEZ-AGUILAR (eds). *Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry, nutritional value and stability*. Blackwell Publishing. Ames, IA, USA. pp.177-222.

YONEKURA, L. & NAGAO, A. (2007). Intestinal absorption of dietary carotenoids. *Mol. Nutr. Food Res.*, 51:107–115. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/mnfr.200600145>

YE, Z.; ARUMUGAM, V.; HAUGABROOKS, E.; WILLIAMSON, P.; HENDRICH, S. (2015). Soluble dietary fiber (Fibersol-2) decreased hunger and increased satiety hormones in humans when ingested with a meal. *Nutr. Res.* 35, 393–400.

ZAMORA, J.D. (2007). Antioxidantes micronutrientes en lucha por la salud. *Revista Chilena de Nutrición*, 34: 3-7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182007000100002>