



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Escola Tècnica Superior
d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica
y del Medio Natural

CARACTERIZACIÓN DEL BAGAZO PROCEDENTE DE
ZUMO DE CLEMENTINA. INFLUENCIA DEL ESTADO DE
MADURACIÓN

Trabajo Fin de Grado

Grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

AUTOR/A: Martínez Lozano, Alba

Tutor/a: Hernando Hernando, María Isabel

Cotutor/a: Quiles Chuliá, María Desamparados

Director/a Experimental: MARTINEZ MARTI, JOANA

CURSO ACADÉMICO: 2022/2023

TÍTULO: Caracterización del bagazo procedente de zumo de clementina. Influencia del estado de maduración

RESUMEN: El procesado de cítricos para obtener zumo genera grandes cantidades de bagazo, subproducto fuente de fibra, con elevado contenido en compuestos bioactivos y capacidad antioxidante y con propiedades tecno-funcionales de interés en la industria alimentaria.

En este proyecto se estudia la composición química, el contenido en compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante de bagazo de clementina en dos estados de maduración diferentes. Concretamente, se determinó el contenido en humedad, cenizas, proteínas, fibra dietética total (FDT), insoluble (FDI) y soluble (FDS), vitamina C, carotenoides, fenoles totales (solubles y polimerizados) y la capacidad antioxidante por DPPH y FRAP. El porcentaje más alto de humedad y proteínas se encontró en el bagazo de mayor estado de madurez. El contenido en FDT y FDI disminuyó con la maduración mientras que el contenido en FDS aumentó. El bagazo de clementinas de maduración más avanzada presentó el mayor contenido en carotenoides, fenoles totales y capacidad antioxidante. El contenido en vitamina C no se vio afectada por el estado de maduración.

También se estudia su potencial uso como estructurante/emulgente en la preparación de emulsiones. Para ello, se prepararon emulsiones con diferente proporción O/W (10/90; 25/75; 50/50; 75/25) y porcentaje de bagazo (1, 2,5 y 5%) en la fase acuosa de la emulsión y se estudió su capacidad emulsionante y su microestructura. El uso de bagazo mejoró la estabilidad de la emulsión O/W cuando el contenido de aceite era bajo (10/90 y 25/75). Este efecto fue mayor a mayor concentración de bagazo. El efecto estructurante del bagazo parece deberse a propiedades emulgentes y estabilizantes. Sin embargo, el estado de maduración del bagazo no pareció influir en el efecto estructurante de emulsiones.

PALABRAS CLAVE: subproducto, capacidad antioxidante, fibra dietética, compuestos bioactivos, cítricos, propiedades tecno-funcionales, capacidad emulsionante, emulsión, compuestos fenólicos, carotenoides, vitamina C, microestructura.

TÍTOL: Caracterització del bagàs procedent de suc de clementina. Influència de l'estat de maduració

RESUM: El processament de cítrics per a obtenir suc genera grans quantitats de bagàs, subproducte font de fibra, amb elevat contingut en compostos bioactius i capacitat antioxidant i amb propietats tecno-funcionals d'interès en la indústria alimentària.

En aquest projecte s'estudia la composició química, el contingut en compostos bioactius i la capacitat antioxidant de bagàs de clementina en dos estats de maduració diferents. Concretament, es va determinar el contingut en humitat, cendres, proteïnes, fibra dietètica total (FDT), insoluble (FDI) i soluble (FDS), vitamina C, carotenoides, fenols totals (solubles i polimeritzats) i la capacitat antioxidant per DPPH i FRAP. El percentatge més alt d'humitat i proteïnes es va trobar en el bagàs de major estat de maduració. El contingut en FDT i FDI va disminuir amb la maduració mentre que el contingut en FDS va augmentar. El bagàs de clementines de maduració més avançada va presentar el major contingut en carotenoides, fenols totals i capacitat antioxidant. El contingut en vitamina C no es va veure afectat per l'estat de maduració.

També s'estudia el seu potencial ús com a estructurant/emulgent en la preparació d'emulsions. Per a això, es van preparar emulsions amb diferent proporció O/W (10/90; 25/75; 50/50; 75/25) i percentatge de bagàs (1, 2,5 i 5%) en la fase aquosa de l'emulsió i es va estudiar la seua capacitat emulsionant i la seua microestructura. L'ús de bagàs va millorar l'estabilitat de l'emulsió O/W quan el contingut d'oli era baix (10/90 i 25/75). Aquest efecte va ser major a major concentració de bagàs. L'efecte estructurant del bagàs sembla deure's a propietats emulgentes i estabilitzants. No obstant això, l'estat de maduració del bagàs no va semblar influir en l'efecte estructurant d'emulsions.

PARAULES CLAU: subproducte, capacitat antioxidant, fibra dietètica, compostos bioactius, cítrics, propietats tecno-funcionals, capacitat emulsionant, emulsió, compostos fenòlics, carotenoides, vitamina C, microestructura.

TITLE: Characterization of bagasse from clementine juice. Influence of the ripening state

ABSTRACT: The processing of citrus fruits to obtain juice generates large quantities of bagasse, a by-product source of fiber, with a high content of bioactive compounds and antioxidant capacity and with techno-functional properties of interest in the food industry.

In this project it is studied the chemical composition, bioactive compound content and antioxidant capacity of clementine bagasse at two different stages of ripening. Specifically, the moisture, ash, protein, total dietary fiber (TDF), insoluble (TDI) and soluble (SDF), vitamin C, carotenoids, total phenols (soluble and polymerised) and antioxidant capacity by DPPH and FRAP were determined. The highest percentage of moisture and protein was found in the bagasse at the highest stage of maturity. The TDF and FDI content decreased with ripening while the SDS content increased. The bagasse from the later ripening clementines had the highest carotenoid, total phenol, and antioxidant content. Vitamin C content was not affected by ripening stage.

Its potential use as a structurant/emulsifier in the preparation of emulsions is also being studied. For this purpose, emulsions with different O/W ratio (10/90; 25/75; 50/50; 75/25) and percentage of bagasse (1, 2.5 and 5%) in the aqueous phase of the emulsion were prepared and their emulsifying capacity and microstructure were studied. The use of bagasse improved the stability of the O/W emulsion when the oil content was low (10/90 and 25/75). This effect was greater the higher the bagasse concentration. The structuring effect of bagasse seems to be due to emulsifying and stabilising properties. However, the maturation stage of bagasse did not seem to influence the structuring effect of emulsions.

KEYWORDS: by-product, antioxidant capacity, dietary fiber, bioactive compounds, citrus, techno-functional properties, emulsifying capacity, emulsion, phenolic compounds, carotenoids, vitamin C, microstructure.

Autora: Alba Martínez Lozano

Tutora: M^a Isabel Hernando Hernando

Cotutora: Amparo Quiles Chuliá

Directora experimental: Joana Martínez Martí

Valencia, España. Junio 2023

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo no hubiera sido posible sin la ayuda de Isabel, Amparo y Joana, mis dos tutoras y mi directora experimental. Gracias por todo el apoyo, por la paciencia y por confiar en mí. Me habéis enseñado mucho y, sin duda, ha sido un placer trabajar con vosotras.

Gracias también a todos mis compañeros del laboratorio y a Empar, por haber estado siempre para echar una mano y hacerlo todo más fácil.

Muchas gracias a mi familia, especialmente a mi hermana Estela y a Álvaro, por haberme acompañado, escuchado y apoyado incondicionalmente incluso desde la distancia.

Por último, gracias a todos mis amigos por haber estado a mi lado. Os quiero.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Problemática de los subproductos cítricos que se generan en la industria alimentaria	1
1.2. Composición química del bagazo de clementina	2
1.2.1. Fibra dietética del bagazo de clementina. Propiedades tecno-funcionales.....	2
1.2.2. Compuestos antioxidantes del bagazo de clementina	3
1.3. Influencia del estado de maduración en las propiedades del fruto cítrico	5
2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO	8
2.1. Objetivo general	8
2.2. Objetivos específicos	8
2.3. Plan de trabajo	8
3. MATERIALES Y MÉTODOS	9
3.1. Materiales	9
3.2. Métodos	9
3.2.1. Determinación del contenido en humedad	9
3.2.2. Determinación del contenido en cenizas	10
3.2.3. Determinación del contenido en proteína.....	10
3.2.4. Determinación del contenido en FDT, FDI y FDS.....	11
3.2.4.1. Digestión de la muestra	11
3.2.4.2. Fibra dietética total (FDT).....	11
3.2.4.3. Fibra dietética insoluble (FDI)	12
3.2.5. Determinación del contenido en vitamina C	12
3.2.6. Determinación del contenido en carotenoides.....	13
3.2.7. Obtención de los extractos para la determinación de los fenoles solubles y de los fenoles polimerizados.....	13
3.2.8. Determinación del contenido en fenoles solubles totales (FST)	14
3.2.9. Capacidad antioxidante	14
3.2.9.1. DPPH.....	14
3.2.9.2. FRAP.....	14
3.2.10. Capacidad emulsionante.....	15
3.2.11. Microestructura de las emulsiones	16
3.2.12. Análisis estadístico.....	16
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
4.1. Contenido en humedad, cenizas y proteínas	17
4.2. Contenido en fibra dietética total, insoluble y soluble	18
4.3. Contenido en Vitamina C	19
4.4. Contenido en carotenoides	20

4.5. Contenido de fenoles totales	21
4.6. Capacidad antioxidante	21
4.7. Capacidad emulsionante.....	22
4.8. Microestructura.....	24
5. CONCLUSIÓN.....	27
6. REFERENCIAS	27
7. ANEXO I. RELACIÓN DEL TRABAJO CON LOS OBJETIVOS DE DESARROLLO SOSTENIBLE DE LA AGENDA 2030	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Principales países productores de cítricos del mundo.....	1
Figura 2. Estructura química general de los flavonoides con tres anillos aromáticos.....	3
Figura 3. Estructura química molecular del β -caroteno, pigmento rojo-anaranjado de muchas frutas y plantas	4
Figura 4. Estructura química molecular del ácido ascórbico o vitamina C.....	5
Figura 5. Cambios de color que se producen durante la madurez de dos frutos cítricos, la naranja (<i>Citrus sinensis</i>) y el pomelo (<i>Citrus maxima</i>).....	7
Figura 6. Capacidad antioxidante en los extractos de fenoles solubles obtenida por DPPH (A) y de los fenoles solubles y polimerizados (B) obtenida por FRAP expresados en b.s. (base seca)..	22
Figura 7. Capacidad emulsionante (%) del polvo de bagazo de clementina procedente de zumo obtenido de frutos en dos estados de maduración (b1 y b2). Emulsión (O/W-%bagazo): A (10/90-1); B (10/90-2,5); C (10/90-5); D (25/25-1); E (25/75-2,5); F (25/75-5); G (50/50-1); H (50/50-2,5); I (50/50-5); J (75/25-1); K (75/25-2,5); L (75/25-5).....	23
Figura 8. Gráfico de interacciones obtenido al hacer Anova multifactorial en Statgraphics, en el que se muestra la emulsionabilidad promedio en cada combinación de los factores Proporción O/W (B) y % de bagazo de clementina (A). Eje Y: Emulsionabilidad; Eje X: Proporción O/W; Emulsiones A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L	23
Figura 9. Imágenes de microscopía en campo claro de las emulsiones obtenidas utilizando el polvo de bagazo de clementina de octubre b1 (A1, B1, C1, D1, E1, F1, G1, H1, I1, J1, K1, L1). Aumentos 10x. Emulsión (O/W-%bagazo): A (10/90-1); B (10/90-2,5); C (10/90-5); D (25/25-1); E (25/75-2,5); F (25/75-5); G (50/50-1); H (50/50-2,5); I (50/50-5); J (75/25-1); K (75/25-2,5); L (75/25-5).....	25
Figura 10. Imágenes de microscopía en campo claro de las emulsiones obtenidas utilizando el polvo de bagazo de clementina de abril b2 (A2, B2, C2, D2, E2, F2, G2, H2, I2, J2, K2, L2). Aumentos 10x. Emulsión (O/W-%bagazo): A (10/90-1); B (10/90-2,5); C (10/90-5); D (25/25-1); E (25/75-2,5); F (25/75-5); G (50/50-1); H (50/50-2,5); I (50/50-5); J (75/25-1); K (75/25-2,5); L (75/25-5).....	26

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Emulsiones con diferente % de bagazo de clementina y proporción O/W	15
Tabla 2. Resultados de contenido en humedad, cenizas y proteína en polvo de bagazo de clementina procedente de zumo obtenido de frutos en dos estados de maduración (b1 y b2). b.h: base húmeda, b.s: base seca.	17
Tabla 3. Valores de fibra dietética total (FDT), fibra dietética insoluble (FDI) y fibra dietética soluble (FDS) en polvo de bagazo de clementina procedente de zumo obtenido de frutos en dos estados de maduración (b1 y b2). b.s.: base seca.	18
Tabla 4. Resultados de contenido en Vitamina C, expresados como mg/100 g en b.s. (base seca), en polvo de bagazo de clementina procedente de zumo obtenido de frutos en dos estados de maduración (b1 y b2).....	19
Tabla 5. Resultados de contenido en carotenoides en bagazo de clementina procedente de zumo obtenido de frutos en dos estados de maduración (b1 y b2) expresados en mg β -caroteno/100 g en b.s. (base seca).....	20
Tabla 6. Contenido de compuestos fenólicos en el polvo de bagazo de clementina procedente de zumo obtenido de frutos en dos estados de maduración (b1 y b2), expresados en b.s. (base seca).	21

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Problemática de los subproductos cítricos que se generan en la industria alimentaria

El género *Citrus* es uno de los cultivos frutales de mayor importancia económica a nivel mundial. Pese a su origen asiático, en la actualidad, se distribuye y cultiva por todo el mundo (Figura 1), principalmente en regiones tropicales, subtropicales y templadas (Ferreira et al., 2018). España cuenta con una superficie de cultivo de cítricos de aproximadamente 300.000 ha, que ha producido un valor medio de 6.635.000 t en las campañas 2015/16 a 2019/20, lo que lo ha situado como el primer país productor de la Unión Europea. A su vez, la Comunidad Valenciana cuenta con un 54% de la superficie que se dedica al cultivo de cítricos en el país (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2020). En cuanto a los cítricos pequeños, como la clementina, España es el segundo productor mundial después de China y el principal país productor de Europa (Cebadera et al., 2020).



Figura 1. Principales países productores de cítricos del mundo

La clementina (*Citrus clementina*) es una fruta cítrica híbrida entre mandarina (*Citrus reticulata*) y naranja (*Citrus sinensis*) (He et al., 2021a). De entre los cítricos que se cultivan en todo el mundo, la clementina es uno de los más apreciados debido a su pequeño tamaño, sabor dulce y a su piel fina fácil de pelar. El 70% de la producción total de cítricos en España en 2018 fue de clementina (Cebadera et al., 2020).

El procesado industrial de los cítricos para la obtención de zumo genera grandes cantidades de subproductos, como cáscara, semillas y pulpa, que constituyen, aproximadamente, el 50% del peso de la fruta fresca (Mamma & Christakopoulos, 2014). Estos subproductos suponen un problema grave de contaminación (Kang et al., 2006) y suelen utilizarse como fertilizantes, combustible o para la alimentación animal (Barros et al., 2012). Sin embargo, los cítricos, como la clementina, son una fuente importante de fibra dietética y compuestos bioactivos, por lo que el

aprovechamiento del bagazo de clementina para su introducción en la cadena alimentaria podría resultar interesante a la industria alimentaria y a los consumidores (Cebadera et al., 2020).

1.2. Composición química del bagazo de clementina

El bagazo que queda después de la extracción del zumo está constituido por pulpa, piel y semillas, por lo que, los componentes mayoritarios son los carbohidratos, principalmente, la fibra dietética. El bagazo de cítrico es una fuente excelente de fibra dietética al ser rico en pectina y estar disponible en grandes cantidades (Figuerola et al., 2005). Además, la fibra es de mayor calidad que la procedente de otras fuentes al contener compuestos bioactivos asociados, tales como polifenoles o carotenoides (Fernandez-Gines et al., 2003). El bagazo de clementina también contiene, aunque en menor cantidad, proteínas y grasa. La pulpa de clementina contiene, aproximadamente, entre $10,95 \pm 0,01$ g/100 g de carbohidratos, $1,63 \pm 0,44$ g/100 g de proteínas, $0,31 \pm 0,08$ g/100 g de minerales y un bajo contenido en grasa, con un valor aproximado de entre $0,07 \pm 0,03$ g/100 g (Cebadera et al., 2020).

1.2.1. Fibra dietética del bagazo de clementina. Propiedades tecno-funcionales

Como ya se ha comentado en el apartado anterior, los hidratos de carbono son el componente mayoritario del bagazo de clementina, representando aproximadamente el 80% de la composición total (Lundberg et al., 2014). Por tanto, este bagazo es una fuente importante de fibra dietética que se caracteriza por poseer unas propiedades tecno-funcionales interesantes, como solubilidad, viscosidad, fermentabilidad y capacidad de retención de agua. Dependiendo de su solubilidad en agua, la fibra dietética se clasifica como fibra soluble, donde destaca la pectina, o como fibra insoluble, cuyo principal componente es la celulosa (Macagnan et al., 2015). Estos son los polisacáridos predominantes en la fibra de los cítricos, constituyendo la pectina el 42,25% y la celulosa el 15,95% aproximadamente de los hidratos de carbono totales. Según un estudio realizado por He et al. (2021b), la piel de la clementina contiene $34,76 \pm 0,25$ g/100 g de fibra dietética soluble y $42,55 \pm 0,55$ g/100 g de fibra dietética insoluble.

La pectina es un polisacárido hidrocoloide muy utilizado en la industria alimentaria y con propiedades gelificantes, espesantes y emulsionantes. Se utiliza en la elaboración de jaleas, mermeladas o bebidas lácteas acidificadas y yogures (Wang et al., 2021), entre otras aplicaciones. La pectina es muy utilizada por sus propiedades de estabilización de emulsiones, ya que pese a ser un biopolímero soluble en agua, posee grupos acetilo y ésteres metílicos que le aportan cierto carácter hidrofóbico. Se ha demostrado que la pectina de cítrico tiene la capacidad de reducir la tensión interfacial de una gota de aceite (Verkempinck et al., 2018), dificultando de esta forma la agregación de las gotas (Zhu et al., 2019), reduciendo la energía libre de la interfaz y, con ello, favoreciendo la emulsificación y la estabilidad de la emulsión (Schroën et al., 2020).

La celulosa es el polímero natural más abundante de la biosfera. Se compone exclusivamente de unidades de anillo de D-glucopiranososa unidos por enlaces β -1,4-glucosídicos en mayor o menor número en función de su grado de polimerización. Tiene una estructura lineal, que le confiere cierto grado de cristalinidad (Gandini & Belgacem, 2016). El grado de cristalización y de polimerización de la celulosa puede variar dependiendo de la procedencia del cuerpo vegetal y afectando así a sus propiedades mecánicas (Gañán et al., 2017). Por otro lado, la celulosa no es soluble en agua debido a los fuertes enlaces de hidrógeno inter e intramoleculares (Sescousse et al., 2010), por lo que aporta viscosidad en una solución. Cabe destacar que la viscosidad intrínseca de las disoluciones de celulosa y derivados de celulosa en disolventes adecuados dependen principalmente del peso molecular (Qi et al., 2008).

1.2.2. Compuestos antioxidantes del bagazo de clementina

Los compuestos polifenólicos, los carotenoides y la vitamina C presentes en el bagazo de clementina tienen una capacidad antioxidante que resulta interesante para la industria alimentaria. Según un estudio realizado por Pfkwa et al., (2019), el bagazo de este cítrico tiene un contenido aproximado en polifenoles totales de $6,49 \pm 0,620$ g ácido gálico/100 g b.s., y, en concreto, en flavonoides de $1,00 \pm 0,017$ g equivalentes catequina/100 g b.s., en ácido ascórbico de $2,69 \pm 0,37$ g/100 g b.s. y en carotenos totales de $0,005 \pm 0,0001$ g de β -caroteno/100 g b.s. El uso de bagazo de clementina en la formulación de productos alimenticios podría prevenir la oxidación de los mismos y sustituir a los antioxidantes sintéticos (Barros et al., 2012).

Entre los compuestos polifenólicos destacan los flavonoides (Figura 2), entre los que se incluyen flavanonas, flavonas, flavan-3-oles, flavonoles y antocianinas. Por sus propiedades, estos compuestos podrían utilizarse como conservantes alimentarios (Damián-Reyna et al., 2017). Tanto la piel del cítrico como la pulpa y las semillas contienen compuestos fenólicos, aunque el contenido es superior en la piel y el zumo, teniendo estos, por ello, mayor capacidad de captación de radicales libres (Hua et al., 2018). La capacidad antioxidante, debida principalmente a las flavanonas, se relaciona con un menor riesgo de desarrollar enfermedades cardíacas, degenerativas y, además evitan la peroxidación lipídica, por lo que se utilizan en compuestos anticancerígenos (Barros et al., 2012).

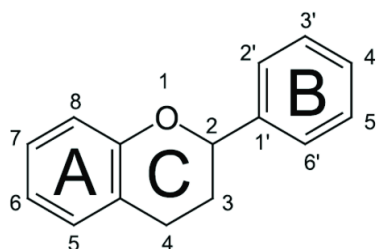


Figura 2. Estructura química general de los flavonoides con tres anillos aromáticos

Por otro lado, los carotenoides son compuestos liposolubles conocidos por ser pigmentos naturales responsables de la coloración externa e interna del fruto, atributo muy importante al ser la primera percepción del consumidor y, con ello, un factor crítico para su aceptación (Alquézar et al., 2008). Entre los carotenoides, se pueden diferenciar los carotenos, constituidos solo por átomos de carbono e hidrógeno, y las xantofilas, que tienen al menos un átomo de oxígeno (Stahl & Sies, 2003). Los cítricos son una fuente compleja de carotenoides en la que se han llegado a reportar hasta 110 carotenoides y xantofilas diferentes, aunque muchas de ellas podrían ser isómeros (Stewart, 1977). La función biológica que desempeñan se relaciona con su estructura, caracterizada por tener cuarenta átomos de carbono y un número variable de dobles enlaces conjugados, lo que hace que tengan determinado color en el espectro visible y capacidad antioxidante (Stahl & Sies, 2003). Se ha relacionado su consumo con un menor riesgo de padecer cáncer, enfermedades cardiovasculares y oftalmológicas (Mayne, 1996).

La estructura de los carotenoides es muy similar a la de la molécula de retinol, por lo que estos compuestos se caracterizan por tener actividad provitamina A. Aunque dicha actividad es característica de cualquier carotenoide con una estructura cíclica y la posesión de un anillo β -ionona (Ribeiro et al., 2011), puede destacarse concretamente el β -caroteno (Figura 3), que es el carotenoide que posee la bioactividad más alta como precursor de la vitamina A (Bogacz-Radomska & Harasym, 2018). Además, también actúa como eliminador de radicales lipídicos y como inhibidor de oxígeno singulete. El β -caroteno es diferente estructural y funcionalmente a otros carotenoides (Grune et al., 2010) al tener en cada extremo de su estructura un anillo β -ionona, lo que hace posible que forme dos moléculas de retinol en lugar de solo una (Thurnham, 2007).

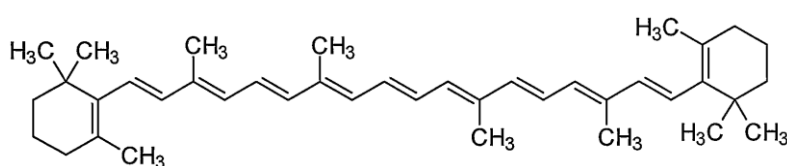


Figura 3. Estructura química molecular del β -caroteno, pigmento rojo-anaranjado de muchas frutas y plantas

Por último, la vitamina C o ácido ascórbico (Figura 4) se encuentra también en los cítricos (Rey et al., 2020) y es un importante antioxidante soluble en agua gracias a su facilidad para perder electrones, actuando en los sistemas biológicos como agente reductor para diversas especies oxidantes reactivas. Actúa como eliminador de radicales libres producidos por las condiciones térmicas (Abdulameer, 2019) en el medio intra y extracelular, además de reducir los radicales tocoferoles a su forma activa en las membranas de las células (Kaur & Kapoor, 2008).

Es preciso mencionar, además, que el contenido de ácido ascórbico de los cítricos no es estable, dado que varía con algunos factores como son el estado de madurez de la fruta y su posición en el árbol, las condiciones climáticas y ambientales, la etapa de maduración, la especie, la variedad del cítrico y la temperatura (Tareen et al., 2015).

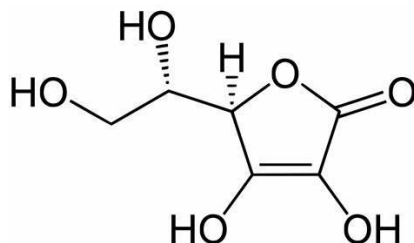


Figura 4. Estructura química molecular del ácido ascórbico o vitamina C

1.3. Influencia del estado de maduración en las propiedades del fruto cítrico

El fruto tiene diferentes propiedades bioquímicas, estructurales y fisiológicas dependiendo de su madurez. La composición química y la concentración de compuestos bioactivos del bagazo varía a lo largo de la maduración (Costanzo et al., 2022). Conocer cómo se producen dichas variaciones resulta de gran interés, puesto que así es posible optimizar el uso del bagazo en función de su estado de maduración.

En un estudio realizado sobre pomelos (*Citrus maxima*) se determinó que la fruta sufría cambios composicionales durante la maduración. Se vio que cosechar de forma tardía, estando el fruto más maduro, suponía un contenido en fibra dietética menor (Liu et al., 2012). Las propiedades químicas y estructurales de la pectina de cítricos cambiaron como consecuencia de la solubilización y degradación enzimática, siendo estos los principales procesos responsables del ablandamiento de la fruta durante la maduración (Zdunek et al., 2021). A medida que el cítrico madura, la pectina insoluble existente en la pared celular, conocida también como ‘protopectina’ (García-Amezquita et al., 2018), se va transformando en pectina de forma gradual y luego en ácido poligalacturónico, lo que determina la textura del fruto. Así pues, en el fruto hay una etapa de rápido crecimiento en la que la pectina aumenta, pero conforme avanza la madurez disminuye gradualmente (Lu et al., 2021).

La pectina está esterificada con metilo en el grupo carboxilo de algunos de sus residuos de ácido galacturónico, clasificándose en función de esto en pectina de alto metoxilo, si el grado de esterificación es superior al 50%, o de bajo metoxilo, si es inferior al 50% (Talekar et al., 2020). De manera natural, la pectina de los frutos cítricos se sintetiza de forma altamente esterificada con metilo, pero debido a la maduración de la fruta se reduce la esterificación a través de la acción enzimática. Según el grado de esterificación, la funcionalidad de la pectina es diferente,

produciéndose más zonas de unión y entrecruzamiento del calcio con un menor grado de esterificación (Lundberg et al., 2014).

Los compuestos fenólicos se encuentran en mayor cantidad en la piel de frutos poco maduros y en las semillas de frutos maduros. En cuanto a la pulpa, no existen diferencias significativas al cambiar el grado de madurez de los frutos. En relación con la capacidad antioxidante de los cítricos, se observan las mismas tendencias que en los compuestos fenólicos al avanzar el grado de madurez. Con independencia del estado de madurez, la piel y las semillas tienen mayor capacidad antioxidante que la pulpa (Costanzo et al., 2022).

Independientemente de la variedad del fruto, el contenido en vitamina C es mayor en la piel que en la pulpa, disminuyendo en la pulpa a medida que el fruto madura. Pese a que no se conoce con exactitud la razón de estas diferencias, se cree que podrían deberse a que la piel es la primera barrera del fruto y puede verse afectada por la radiación o el clima, entre otras cosas, siendo necesario que posea un sistema antioxidante más eficiente (Alós et al., 2014). Por otro lado, las frutas inmaduras contienen una cantidad mayor de ácido ascórbico, pero durante la maduración se sintetizan varias enzimas que degradan los fitoconstituyentes, además de producirse una degradación oxidativa al generarse una serie de radicales libres, viéndose de esta forma reducido el contenido de Vitamina C (Rekha et al., 2012).

El color de la piel del cítrico se ve modificado a medida que el fruto madura (Figura 5), cambiando de verde a amarillo-anaranjado debido al rápido aumento en la concentración de carotenoides (Nam et al., 2021). En los cítricos inmaduros el pigmento que predomina es la clorofila (Conesa et al., 2019), pero conforme la temperatura disminuye en el otoño y la maduración avanza este pigmento empieza a degradarse. Esto conduce a la aparición y acumulación de nuevos pigmentos, antes enmascarados por la clorofila, como son los carotenoides y los flavonoides (Casas & Mallent, 1988), adquiriendo así el fruto maduro un color amarillo-anaranjado en lugar de verde (Nam et al., 2021). Por otro lado, los cítricos presentan una amplia gama de colores que va desde el amarillo brillante del limón y el pomelo, al naranja característico de la naranja, mandarina o, en este caso, de la clementina, y pudiendo adquirir además una coloración más rojiza en ciertos casos. Estas diferencias se deben a los cambios cualitativos y cuantitativos que se producen en los frutos tanto en el contenido en carotenoides como en su distribución (Alquézar et al., 2008).

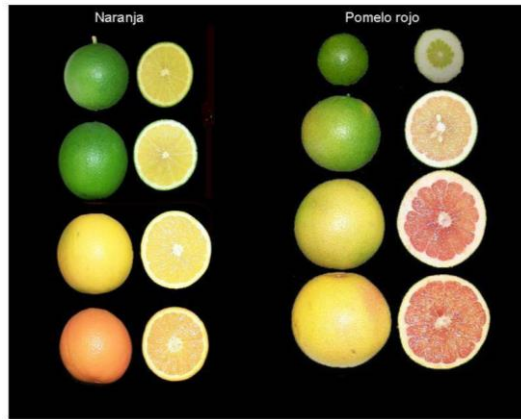


Figura 5. Cambios de color que se producen durante la madurez de dos frutos cítricos, la naranja (*Citrus sinensis*) y el pomelo (*Citrus maxima*)

2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

2.1. Objetivo general

El objetivo general de este trabajo fue caracterizar el bagazo que se genera como subproducto durante la elaboración industrial de zumo de clementina y conocer cómo influye el estado de maduración de la fruta empleada sobre la composición química y capacidad emulsionante del bagazo.

2.2. Objetivos específicos

Para llevar a cabo este objetivo general, se plantearon diferentes objetivos específicos:

- Caracterizar la composición química del bagazo procedente de la elaboración de zumo de clementinas en dos estados de maduración diferentes.
- Determinar el contenido en compuestos bioactivos y las propiedades antioxidantes de los bagazos procedentes de la elaboración de zumo de clementinas en los dos estados de maduración.
- Evaluar la capacidad emulsionante de los bagazos.
- Evaluar la microestructura de las emulsiones desarrolladas con los bagazos.

2.3. Plan de trabajo

Para la consecución de los objetivos planteados se estableció el siguiente plan de trabajo:

- Revisión de estudios previos sobre el aprovechamiento de subproductos procedentes de procesado de cítricos y su uso en la formulación de alimentos.
- Determinación del contenido en humedad, proteínas, fibra dietética total, fibra dietética soluble y fibra dietética insoluble en los bagazos de mandarina.
- Determinación del contenido en vitamina C, carotenoides y compuestos fenólicos solubles y polimerizados en los bagazos.
- Determinación de la capacidad antioxidante mediante los métodos de DPPH y FRAP en los bagazos.
- Evaluación de la capacidad emulsionante en los bagazos de mandarina en los dos estados de maduración.
- Caracterización de la microestructura de las emulsiones desarrolladas con los bagazos.
- Análisis y discusión de los resultados obtenidos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

El bagazo de clementina estudiado en este trabajo fue proporcionado por la empresa “Zumos valencianos del mediterráneo S.L.”. Se empleó bagazo de zumo obtenido de clementinas procedentes de dos periodos de recolección: octubre y abril y, por lo tanto, en dos estados de maduración diferentes.

Preparación del bagazo

Para obtener el polvo a partir del bagazo, en primer lugar, el bagazo se trituró en una picadora emulsionadora Eurofred (modelo CUP 8 Tr Barcelona, España) durante 10 min. A continuación, se secó a 60°C hasta peso constante en una estufa de secado por aire caliente Binder (modelo ED, Tuttlingen, Germany). El bagazo seco se trituró durante 1 min en una Thermomix TM31 (Vorwerk, Wuppertal, Alemania) para obtener un polvo que se envasó a vacío y se almacenó a temperatura ambiente y en oscuridad en un desecador hasta su uso.

Se obtuvieron 2 polvos diferentes: el b1 procedente de zumo de clementina de la recolección de octubre y, por lo tanto, de clementinas de menor estado de maduración y el b2 de la recolección de abril, por lo tanto, de clementinas en estado de maduración más avanzado.

3.2. Métodos

3.2.1. Determinación del contenido en humedad

Para determinar la humedad de las muestras b1 y b2 se utilizó el método de secado en estufa a vacío a 60°C hasta peso constante. Se pesaron aproximadamente 5 g de muestra en cada cápsula. Los cálculos se realizaron siguiendo la Ecuación 1. Cada muestra se analizó por triplicado.

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{P2-P3}{P2-P1} \times 100 \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde:

P1 = Cápsula + arena + varilla (g).

P2 = Cápsula + arena + varilla + muestra húmeda (g).

P3 = Cápsula + arena + varilla + muestra seca (g).

3.2.2. Determinación del contenido en cenizas

Para esta determinación se pesó aproximadamente 1 g de polvo de bagazo en crisoles que se llevaron al horno mufla a 550°C durante 8 h. Transcurrido ese tiempo y una vez atemperadas, las muestras se pesaron en una balanza analítica. El resultado se expresó como % de cenizas (g de cenizas en 100 g de muestra). La determinación se realizó por triplicado para cada muestra.

3.2.3. Determinación del contenido en proteína

Para determinar el contenido proteínico de las muestras, analizando ambas por triplicado, se utilizó el método Kjeldahl. Este método mide el contenido en nitrógeno de una muestra y mediante el factor de conversión de 6,25 se expresa el resultado en cantidad de proteínas. El método se divide en tres etapas:

La primera etapa es la de digestión o mineralización, para la que se añadieron a cada tubo de digestión 3 g aproximadamente de catalizador (K₂SO₄, CuSO₄, Se 10:1:0,1), ácido esteárico y alrededor de 1 g de cada muestra de polvo de bagazo. Se llevaron los tubos a la unidad de digestión FOSS Tecator™ Basic 8 (Höganäs, Suecia) y se añadieron 10 mL de H₂SO₄ y 10 mL de H₂O₂. Tras 1 h y 30 min a 420°C, la disolución de los tubos adquirió un color verde esmeralda, indicando que se había producido correctamente la digestión.

La segunda etapa es la de destilación, para la que se llevaron los tubos al equipo de destilación Foss Tecator del modelo Kjeltec™ 2200 Auto Distillation (Höganäs, Suecia), donde se alcalinizó la muestra y se recogió el amoníaco destilado sobre una cantidad de H₃BO₃ en exceso.

La última etapa es la de valoración, en la que se cuantificó el nitrógeno amoniacal mediante una volumetría ácido-base, utilizando HCl 0,1 N e indicador de Tashiro (azul de metileno y rojo de metilo). Para el cálculo del contenido en proteínas se siguió la Ecuación 2.

$$Proteína\ bruta = \left(\frac{(V_{HCl} - V_b) \times N \times 14 \times F}{m} \right) \times 100 \quad (Ec. 2)$$

Donde:

V_{HCl} = Volumen de HCl (mL) gastados para la muestra.

V_b = Volumen de HCl (mL) gastados para el blanco.

$N = 0,1$.

$F = 6,25$.

M = Peso (mg) de la muestra.

3.2.4. Determinación del contenido en FDT, FDI y FDS

Para la determinación de la fibra dietética total (FDT) y la fibra dietética insoluble (FDI) se siguió el método oficial AOAC 991.43. Para ello se empleó el equipo Fibertec E system® (model TM1023, Foss Analytical AB, Höganäs, Suecia) y el Megazyme Total Dietary Fiber Kit (K-TDFR-200A). La fibra dietética soluble (FDS) se calculó con posterioridad a partir de la fibra total y la fibra insoluble como se puede ver en la Ecuación 3.

$$FDS = FDT - FDI \quad (\text{Ec. 3})$$

3.2.4.1. Digestión de la muestra

Inicialmente se pesó por duplicado 1 g de cada una de las muestras en los matraces de fibra y se añadieron 40 mL de tampón MES-TRIS (pH 8,2). Para la posterior digestión enzimática, se añadieron primero 50 μL de α -amilasa termoestable y se incubaron las muestras en un baño a 95-100°C durante 15 min. A continuación, se añadieron 100 μL de proteasa y se volvieron a incubar las muestras durante 30 min en un baño con agitación a 60°C. Después se añadieron 5 mL de HCl 0,561N, se ajustó el pH a 4.0-4.7 y se adicionaron 300 μL de amiloglucosidasa, volviéndose a incubar en el baño con las condiciones anteriores. La muestra digerida se empleó para la determinación de FDT y FDI

3.2.4.2. Fibra dietética total (FDT)

A la muestra digerida, se le adicionaron 225 mL de etanol al 96% y la mezcla se dejó precipitar durante 1h a 60°C. A continuación, se colocaron los matraces y los crucibles con el celite en el equipo de filtración Fibertec E system®. Cuando las muestras estuvieron filtradas, se realizaron lavados por duplicado con 15 mL de etanol al 96 %, 15 mL de etanol al 78 % y 15 mL de acetona y se secaron los crucibles con el residuo obtenido a 103°C durante toda la noche.

De cada muestra, se realizó el proceso en dos crisoles simultáneamente junto con dos crisoles destinados al blanco. Uno de los crisoles se utilizó para determinar el contenido en cenizas y el otro crisol se utilizó para determinar la cantidad de proteínas. El proceso se realizó tres veces para

cada una de las muestras. Finalmente, para el cálculo de la fibra dietética total se siguieron las Ecuaciones 4 y 5.

$$B = \frac{B1 + B2}{2} - B_{prot} - B_{cen} \quad (\text{Ec. 4})$$

$$TDF \left(\frac{g}{100} \right) = \left(\frac{\frac{R1 + R2}{2} - R_{prot} - R_{cen} - B}{\frac{M1 + M2}{2}} \right) \times 100 \quad (\text{Ec. 5})$$

Donde:

B1 = Peso del residuo seco de blanco 1 (mg).

B2 = Peso del residuo seco de blanco 2 (mg).

B_{prot} = Cantidad de proteína (mg) en el blanco.

B_{cen} = Cantidad de cenizas (mg) en el blanco.

R_{prot} = Cantidad de proteína (mg) en el residuo de la muestra.

R_{cen} = Cantidad de cenizas (mg) en el residuo de la muestra.

R1 + R2 = peso (mg) del residuo de los duplicados de muestra.

M1 + M2 = peso (mg) de los duplicados de muestra.

3.2.4.3. Fibra dietética insoluble (FDI)

Tras la digestión de la muestra, se llevaron los crucibles con el celite y los matraces de fibra al equipo Fibertec E system®. Para esta determinación, se limpiaron las tapas y las paredes de los matraces por duplicado con 10 mL de H₂O a 70°C para extraer la fibra soluble. Una vez realizado el filtrado y los lavados con etanol al 96 %, etanol al 78 % y acetona, se llevaron los crucibles a la estufa a 103°C para que se secara el residuo durante toda la noche.

A partir del residuo seco contenido en los crucibles se determinó la proteína y las cenizas. El proceso se realizó tres veces para cada una de las muestras y se procedió al cálculo de la fibra insoluble siguiendo también las Ecuaciones 4 y 5.

3.2.5. Determinación del contenido en vitamina C

Para determinar el contenido en Vitamina C de las muestras de polvo de bagazo de clementina, se realizó una valoración potenciométrica. Para ello se utilizó un titulador automático (Metrohm 905) con un electrodo de plata. A 50 mL de agua destilada se añadieron 2 mL de H₂SO₄ (2 mol/L) y 5 g de muestra, que corresponden a aproximadamente entre 1 y 5 mg de vitamina C. Se añadieron 100 mg de yoduro potásico y la mezcla se valoró con cloramina T (0,005 mol/L). Para

el cálculo de los mg de vitamina C, se tuvo en cuenta que cada mL de cloramina T (0,005 mol/L) correspondía a 0,88 mg de vitamina C. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

3.2.6. Determinación del contenido en carotenoides

Para determinar el contenido en carotenoides se pesó 1 g de los polvos de bagazo de clementina en botes de 100 mL y se añadieron 50 mL de disolución de extracción (hexano:acetona:etanol 50:25:25 + 1 g/L BHT). La mezcla se homogeneizó en un Ultraturax (IKA-Ultraturax T25 Basic, Staufen, Alemania) a 3.000 rpm durante 30 s, se agitó en un agitador magnético durante 20 min y de nuevo, se homogeneizó en Ultraturax a 3.000 rpm durante 30 s. Se adicionaron 15 mL de NaCl 10% para separar fases y la mezcla se homogeneizó en el Ultraturax y se sometió a agitación durante 20 min.

La mezcla se vertió en un embudo de decantación, se adicionaron 10 mL de Na₂SO₄ 2% para separar fases de nuevo y se descartó la fase acuosa. El proceso de extracción se repitió dos veces y la fase orgánica se guardó en un matraz aforado, enrasando posteriormente a 50 mL con hexano. Se dejó reposar 3 min y se midió la absorbancia a 450 nm en el espectrofotómetro UV-VIS 1000, CECIL® (Cambridge, Reino Unido).

Se realizó una curva de calibrado de β-caroteno en hexano con concentraciones entre 0 y 300 ppm. El blanco se hizo con hexano y las determinaciones se realizaron por triplicado.

3.2.7. Obtención de los extractos para la determinación de los fenoles solubles y de los fenoles polimerizados

Para obtener el extracto de fenoles solubles se añadió en tubo Falcon 0,5 g de polvo de bagazo y 25 mL de etanol al 96%, se homogeneizaron en Ultraturax durante 1 min a 12.000 rpm y se centrifugaron en la centrífuga Sorvall del modelo Super-T21 (Refrigerated Centrifuge, Waltham, EEUU) a 14.000 rpm durante 20 min a 4°C. El proceso se repitió dos veces. El sobrenadante obtenido tras cada centrifugación se guardó y mezcló en un matraz aforado, para posteriormente aforar hasta 100 mL con etanol al 96%. De este proceso, se obtuvo un extracto que se empleó para la determinación de compuestos fenólicos solubles y su capacidad antioxidante por los métodos ensayo de eliminación de radicales 1,1-difenil-2-picrilidracilo (DPPH) y poder antioxidante de la reducción férrica (FRAP).

A continuación, se añadió a los tubos Falcon anteriores, que contenían el pellet residual de los extractos solubles, 25 mL de HCl al 1% en etanol al 96% para hidrolizar y solubilizar los compuestos polimerizados. La mezcla se homogeneizó en Ultraturax durante 1 min a 12.000 rpm, se agitó durante 30 min a 100 rpm en un agitador orbital Rotabit P selecta (Barcelona, España) y se centrifugó a 14.000 rpm durante 20 min a 20°C. La extracción se realizó por

duplicado. El sobrenadante obtenido tras cada centrifugación se guardó y mezcló en un matraz aforado, para posteriormente aforar hasta 100 mL con HCl al 1% en etanol al 96%. El extracto de fenoles polimerizados se usó para determinar los compuestos fenólicos polimerizados y su capacidad antioxidante por FRAP.

3.2.8. Determinación del contenido en fenoles solubles totales (FST)

Se determinó el contenido en fenoles solubles totales en los extractos obtenidos según se explica en el apartado anterior (3.2.7.). A partir de 1 mL de cada extracto se realizó una dilución 1:7 en agua bidestilada, se añadieron 0,5 mL de reactivo Folin-Ciocalteu y se agitó brevemente. Transcurridos 3 min se adicionó 1 mL de Na₂CO₃ saturado (20 %). Finalmente, se agregaron 1,5 mL de agua bidestilada y la mezcla se dejó reposar en oscuridad durante 90 min a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se midió la absorbancia a 765 nm un espectrofotómetro UV-VIS 1000, CECIL®.

Se realizó una curva de calibrado empleando ácido gálico en etanol al 96% con puntos entre 0 y 100 mg/L. La concentración se expresó como mg de ácido gálico/100 g de muestra en base seca. Todos los extractos se analizaron por triplicado.

3.2.9. Capacidad antioxidante

3.2.9.1. DPPH

En tubos de ensayo se mezcló 1mL de extracto soluble y 4 mL del reactivo DPPH (40 µg/mL), preparándose a su vez un blanco con 1 mL de extracto y 4 mL de etanol al 96%. Los tubos se agitaron en vórtex y se guardaron durante 30 min en oscuridad. Transcurrido el tiempo, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 517 nm empleando un espectrofotómetro UV-VIS 1000, CECIL®.

Se preparó con anterioridad una curva patrón de Trolox con concentraciones entre 0 y 120 µM, por lo que a partir de la absorbancia de los extractos se pudo conocer su concentración, expresándose los resultados como µmoles de Trolox equivalente/100 g de muestra en base seca. Se determinaron todos los extractos fenólicos solubles por triplicado.

3.2.9.2. FRAP

En cada cubeta se colocaron 30 µL de agua destilada, 30 µL del extracto (etanol 96 % para el blanco) y 900 µL de reactivo FRAP. Se incubaron las cubetas durante 30 min en un baño a 37°C y se midió la absorbancia a 595 nm empleando un espectrofotómetro UV-VIS 1000, CECIL®.

La curva de calibrado de Trolox en etanol al 96% se realizó con anterioridad con concentraciones entre 0 y 1.000 μM . Los resultados se expresaron como mg de Trolox equivalente/100 g de muestra en base seca. El análisis se realizó por triplicado.

3.2.10. Capacidad emulsionante

La capacidad emulsionante proporciona información sobre el efecto emulgente que ejerce el bagazo de clementina y su capacidad para estabilizar una emulsión. Para determinar la propiedad techno-funcional capacidad emulsionante, de cada polvo de bagazo se elaboraron 12 emulsiones aceite en agua (O/W) (Tabla 1) siguiendo el siguiente procedimiento: En primer lugar, el polvo de bagazo de clementina, a diferentes concentraciones (1%, 2,5% y 5%), se hidrató con agua destilada para obtener diferentes concentraciones de fases acuosas (90%, 75%, 50%, 25%). Estas fases acuosas se mantuvieron 2 h en agitación y posteriormente se guardaron a 4°C durante toda la noche para asegurar una correcta hidratación del polvo. A continuación, se prepararon emulsiones aceite en agua (O/W) con las diferentes fases acuosas. Para preparar la emulsión, la fase acuosa se sometió a homogeneización a 10.000 rpm empleando un Ultraturrax y el aceite se fue añadiendo lentamente durante 2 min a la misma.

Tabla 1. Emulsiones con diferente % de bagazo de clementina y proporción O/W

O/W	Bagazo de clementina (%)		
	1%	2,5%	5%
10/90	A	B	C
25/75	D	E	F
50/50	G	H	I
75/25	J	K	L

* A cada emulsión se le asignó una letra en función de su % de CP y la proporción O/W.

Para determinar la capacidad emulsionante, las emulsiones se introdujeron en tubos Falcon y se centrifugaron (centrífuga Super-T21 de la serie Sorvall, Thermo Scientific™, Waltham, EEUU) a 9.550 rpm durante 5 min, se dejaron reposar 10 min y se midió el volumen total y el de la emulsión. Para el cálculo de la capacidad emulsionante se siguió la Ecuación 6. Las determinaciones se realizaron por duplicado.

$$Emulsionabilidad (\%) = \frac{EV_1}{VT} \times 100 \quad (\text{Ec. 6})$$

Donde:

EV_1 = Volumen de emulsión.

VT = Volumen total.

3.2.11. Microestructura de las emulsiones

Se estudió la microestructura de las emulsiones elaboradas con el polvo de bagazo de clementina mediante microscopía óptica (LM) en campo claro. Para ello, se tomó una pequeña porción de muestra, se depositó en un portaobjetos cóncavo de vidrio sin emplear cubre objetos, para evitar alterar la estructura, y se observó en el microscopio utilizando lentes de objetivo 10x. Las observaciones por LM se realizaron empleando un microscopio Nikon Eclipse 80i® (Nikon Co. Ltd., Tokio, Japón) con una cámara incorporada (Exwave HAD, n° DXC-19, Sony Electronics Inc., Park Ridge, Nueva Jersey, Estados Unidos). Todas las imágenes fueron capturadas y almacenadas a 1280 x 1024 píxeles utilizando el software del microscopio (NIS-Element M, versión 4.0, Nikon, Tokio, Japón).

3.2.12. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados se llevó a cabo con el programa Statgraphics Centurion XVII. Se realizaron análisis de la varianza (ANOVA) simples, donde el factor analizado fue el estado maduración, para todos los resultados excepto para la capacidad emulsionante, donde se realizó análisis de la varianza (ANOVA) multifactorial, analizando los factores A: % de bagazo de clementina, B: Proporción O/W y C: Estado maduración. Para determinar las diferencias significativas entre las muestras se utilizó el Test Turkey de LSD (Least Significant Difference) a un nivel de significancia del 95%.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Contenido en humedad, cenizas y proteínas

En la Tabla 2 se presentan los resultados del contenido en humedad, cenizas y proteínas del polvo de bagazo de clementina de las recolecciones de octubre (b1) y abril (b2) y, por lo tanto, de distintos estados de maduración.

Tabla 2. Resultados de contenido en humedad, cenizas y proteína en polvo de bagazo de clementina procedente de zumo obtenido de frutos en dos estados de maduración (b1 y b2). b.h: base húmeda, b.s: base seca.

	b1	b2
Humedad (g/100 g, b.h)	3,45 ± 0,12 ^a	4,27 ± 0,30 ^b
Cenizas (g/100g, b.s)	3,75 ± 0,16 ^a	3,56 ± 0,04 ^a
Proteína (g/100 g, b.s)	7,38 ± 0,11 ^a	9,65 ± 0,20 ^b

* Diferentes letras minúsculas en superíndice en la misma fila indican valores con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,5$) para el factor estado de maduración.

En cuanto al contenido en humedad, existieron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras b1 y b2 (Tabla 2). Las muestras en un estado de maduración más avanzado presentaron mayor contenido en humedad probablemente porque hay una mayor proporción de agua ligada a estructuras celulares (Cercós et al., 2006).

Los valores de contenido en humedad fueron bastante similares a los obtenidos por Rafiq et al. (2019) en piel de mandarina (*Citrus reticulata Blanco*) secada a vacío ($3,03 \pm 0,06$ g/100 g) y secada a 60°C ($4,93 \pm 0,09$ g/100 g). Además, según un estudio realizado por Suri et al., 2022, el contenido en humedad de la piel de la lima (*Citrus limetta*) secada a vacío fue de $4,40 \pm 0,21$ g/100 g, secada con aire caliente de $5,77 \pm 0,16$ g/100 g y secada en un secador de bandejas de $5,45 \pm 0,25$ g/100 g, asemejándose, también, estos valores a los obtenidos en el presente estudio para el polvo de bagazo de clementina.

En cuanto al contenido en ceniza no existieron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las muestras (Tabla 2). Consultando otros estudios, se ha podido comprobar que los resultados de contenido en ceniza para el bagazo de cítrico seco fueron similares a los obtenidos por Njokweni et al. (2021) ($3,03$ g/100 g b.s.) y por Tayengwa et al. (2021) ($4,90$ g/100 g b.s.). A su vez, se asemejaron a los publicados por Ghanem et al. (2012) para la piel de mandarina (*Citrus reticulata v. tangerine*) y naranja (*Citrus sinensis v. Thompson navel*), y que fueron de $3,966 \pm 0,012$ y $3,46 \pm 0,18$ g/100 g b.s., respectivamente.

En relación con el contenido en proteína, existieron diferencias significativas ($p < 0,5$) entre las muestras estudiadas (Tabla 2). La muestra b2, por lo tanto, la de mayor grado de maduración, fue la que presentó una mayor cantidad de proteína. Esto está relacionado con la síntesis de proteínas enzimáticas que se produce durante la maduración.

Comparando los valores de proteína obtenidos en este estudio con los encontrados en bibliografía, cabe destacar que fueron similares a los obtenidos por Ghanem et al. (2012) para la piel de mandarina (*Citrus reticulata v. tangerine*) y limón (*Citrus limon v. lunari*), siendo estos valores de $8,6 \pm 0,5$ y $5,9 \pm 1,2$ g/100 g b.s., respectivamente. A su vez, también fueron similares a los publicados por Marín et al. (2007) para la piel ($9,1 \pm 0,4$ g/100 g b.s.) y la pulpa ($6,6 \pm 0,3$ g/100 g b.s.) de naranja procedente de la industria del zumo y al que mostró Barbosa et al., (2018) para los subproductos cítricos de la industria del zumo y que fue de $6,67 \pm 0,08$ g/100g b.s.

4.2. Contenido en fibra dietética total, insoluble y soluble

La Tabla 3 presenta los contenidos promedio de fibra dietética total (FDT), fibra dietética insoluble (FDI) y fibra dietética soluble (FDS) de las dos muestras de polvo de bagazo de clementina (b1 y b2).

Tabla 3. Valores de fibra dietética total (FDT), fibra dietética insoluble (FDI) y fibra dietética soluble (FDS) en polvo de bagazo de clementina procedente de zumo obtenido de frutos en dos estados de maduración (b1 y b2). b.s.: base seca.

	b1	b2
FDT (g/100 g, b.s.)	$48,6 \pm 0,8^b$	$36,6 \pm 2,0^a$
FDI (g/100 g, b.s.)	$43,9 \pm 2,9^b$	$29,6 \pm 2,8^a$
FDS (g/100 g, b.s.)	4,71	7,04

* Diferentes letras minúsculas en superíndice en la misma fila indican valores con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,5$) para el factor estado de maduración.

En cuanto al contenido en FDT y FDI existieron diferencias significativas ($p < 0,5$) entre las muestras estudiadas (Tabla 3), siendo la muestra b2 la que presentó el menor contenido y la b1 el mayor. El avance del estado de maduración produjo una disminución en el contenido en FDT y FDI. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Larrauri et al. (1997), en su trabajo sobre fibra de pomelo: el contenido disminuyó significativamente con el avance de la maduración. Mahattanatawee et al., (2006) también observaron que la papaya inmadura presentaba niveles más altos de FDT. A medida que el fruto madura hay una disminución de prácticamente todas las fracciones de polisacáridos; por ejemplo, la piel del cítrico maduro tiene menor cantidad de celulosa (Muramatsu et al., 1999), disminuyendo de esta forma la fracción de FDT y FDI. Los

resultados de FDS se obtuvieron a partir de la diferencia entre los valores de FDT y de FDI, siendo la muestra b2 la que presentó un mayor contenido en fibra soluble y la b1 un menor contenido.

Los cambios producidos en estas fracciones se deben a procesos enzimáticos que ocurren durante la maduración de los frutos; disminuye la FDT, ya que existen celulasas, hemicelulasas y pectinasas que degradan la fibra convirtiéndola en polisacáridos de cadena más corta (Dong et al., 2009).

En cuanto a los resultados obtenidos en otros trabajos, Rincón et al. (2005) obtuvieron valores de fibra en polvo de piel de mandarina, semejantes a los presentados en este trabajo, concretamente, los valores fueron de $52,89 \pm 0,02$ g/100 g b.s. para la FDT, de $51,66 \pm 0,02$ g/100 g b.s. para la FDI y de $1,23 \pm 0,01$ g/100 g b.s. para la FDS. Los valores de FDT, FDI y FDS publicados por Figuerola et al. (2005) para el bagazo de naranja *Valencia*, fueron de $64,3 \pm 0,3$, $54,0 \pm 0,23$ y $10,28 \pm 0,3$ g/100 g b.s, respectivamente. La pulpa de naranja contiene pectina que constituye aproximadamente un 6% de la FDT (Mahattanatawee et al., 2006). La pectina podría estar presente tanto de forma soluble como insoluble (Thompson & Brick, 2016), pero en la naranja la mayor parte se encuentra en forma insoluble (Klavons et al., 1994). Esto podría explicar que los valores de FDI sean, en general, elevados en el bagazo de clementina y superiores a los de la FDS. Romero-Lopez et al. (2011) publicaron en su estudio unos valores de fibra del bagazo de naranja bastante similares a los obtenidos en este estudio, siendo el contenido en FDT de $41,5 \pm 0.0$ g/100 g b.s, en FDI de $22,9 \pm 0.6$ g/100 b.s y en FDS de $18,6 \pm 0,8$ g/100 g b.s.

4.3. Contenido en Vitamina C

La Tabla 4 muestra los valores de vitamina C obtenidos en las dos muestras estudiadas. No existieron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las muestras. A medida que el fruto madura, el contenido en ácido ascórbico disminuye en la pulpa, pero, en cambio, aumenta en la piel y en las semillas del cítrico (Costanzo et al., 2022). Esto explica que no se produzcan variaciones en el contenido en vitamina C entre las muestras de bagazo a pesar de presentar diferente estado de maduración.

Tabla 4. Resultados de contenido en Vitamina C, expresados como mg/100 g en b.s. (base seca), en polvo de bagazo de clementina procedente de zumo obtenido de frutos en dos estados de maduración (b1 y b2).

	b1	b2
Vitamina C (mg/100 g, b.s)	$20,30 \pm 2,02^a$	$22,15 \pm 1,72^a$

* Diferentes letras minúsculas en superíndice en la misma fila indican valores con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,5$) para el factor estado de maduración.

Los valores obtenidos en este trabajo son similares a los encontrados en otros estudios de frutos cítricos. El valor de contenido en vitamina C publicado por Ani & Abel (2018) para el extracto de piel de pomelo (*Citrus máxima*) maduro fue de $19,34 \pm 3,75$ mg/100 g b.s., valor bastante parecido al obtenido para las muestras de este trabajo.

4.4. Contenido en carotenoides

Los resultados del contenido en carotenoides en el polvo de bagazo de clementina procedente de zumo obtenido de frutos en dos estados de maduración (b1 y b2) se exponen en la Tabla 5.

Tabla 5. Resultados de contenido en carotenoides en bagazo de clementina procedente de zumo obtenido de frutos en dos estados de maduración (b1 y b2) expresados en mg β -caroteno/100 g en b.s. (base seca).

	b1	b2
Carotenoides (mg β-caroteno/100 g b.s)	$10,9 \pm 0,5^a$	$49,9 \pm 0,8^b$

* Diferentes letras minúsculas en superíndice en la misma fila indican valores con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,5$) para el factor estado de maduración.

Se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las dos muestras estudiadas. El mayor contenido en carotenoides lo presentó la muestra b2, es decir, el polvo de bagazo de clementina recolectada en un estado de maduración mayor y el más bajo la muestra b1, o bagazo de clementina recolectada en un estado temprano de maduración. La coloración es un indicador fenotípico crítico de la maduración de los cítricos y se debe principalmente a la gran acumulación de carotenoides, de forma que a medida que avanza la maduración aumenta el contenido de dicho pigmento (Lu et al., 2021).

Xu et al. (2006) en su trabajo sobre piel de naranja (*C.sinensis* (L.) Osbeck) obtuvieron resultados de contenido en carotenoides de $15,16$ mg β -caroteno /100 g b.s, resultado inferior al obtenido en el presente estudio. Wang et al. (2008) determinaron también el contenido de carotenoides de la piel de naranja (*C. sinensis* (L.) Osbeck) y obtuvieron un valor de $44,5 \pm 0,8$ mg/100 g b.s., valor similar al de la muestra b2, o polvo de bagazo de clementina recolectada en un estado de maduración avanzado.

4.5. Contenido de fenoles totales

Los valores obtenidos del contenido en compuestos fenólicos solubles y polimerizados en el polvo de bagazo de clementina procedente de zumo obtenido de frutos en dos estados de maduración (b1 y b2) se encuentran en la Tabla 6.

Tabla 6. Contenido en compuestos fenólicos en el polvo de bagazo de clementina procedente de zumo obtenido de frutos en dos estados de maduración (b1 y b2), expresados en b.s. (base seca).

	b1	b2
Solubles (mg de ácido gálico/100g, b.s)	714,9 ± 13,4 ^a	870,7 ± 9,4 ^b
Polimerizados (mg de ácido gálico/100g, b.s)	554,7 ± 41,1 ^a	859,8 ± 13,5 ^b

* Diferentes letras minúsculas en superíndice en la misma fila indican valores con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,5$) para el factor estado de maduración.

La muestra b2, de mayor estado de maduración, presentó una cantidad significativamente mayor ($p < 0,05$) en compuestos fenólicos, tanto solubles como polimerizados. Según estudios como los de Costanzo et al. (2022) sobre el efecto de la maduración en bagazo de mandarina, el contenido en compuestos fenólicos disminuyó en la piel de los frutos maduros, se mantuvo constante en la pulpa y aumento notablemente en las semillas durante el avance de la madurez. Esto podría explicar los resultados obtenidos ya que las semillas fueron unos de los componentes del bagazo de clementina estudiado en este trabajo.

En el estudio realizado por Barbosa et al. (2018) se determinó la cantidad de fenoles en los subproductos de limón persa (*Citrus latifolia*) y naranja (*Citrus sinensis*) obtenidos tras el procesamiento industrial para la obtención de zumo. Se concluyó que los subproductos contenían 386 ± 23 mg de ácido gálico/100 g b.s. En el estudio realizado por Sun et al. (2013) en mandarina Ponkan, los valores obtenidos fueron de $284,84 \pm 7,64$ mg/100 g b.s. para la fracción soluble y de $94,54 \pm 1,57$ mg/100 g b.s. para la fracción polimerizada, siendo todos estos valores inferiores a los obtenidos en este trabajo.

4.6. Capacidad antioxidante

Los resultados obtenidos de capacidad antioxidante asociada a las dos fracciones de los compuestos fenólicos del polvo de bagazo de clementina procedente de zumo obtenido de frutos en dos estados de maduración (b1 y b2) se muestran en la Figura 6.

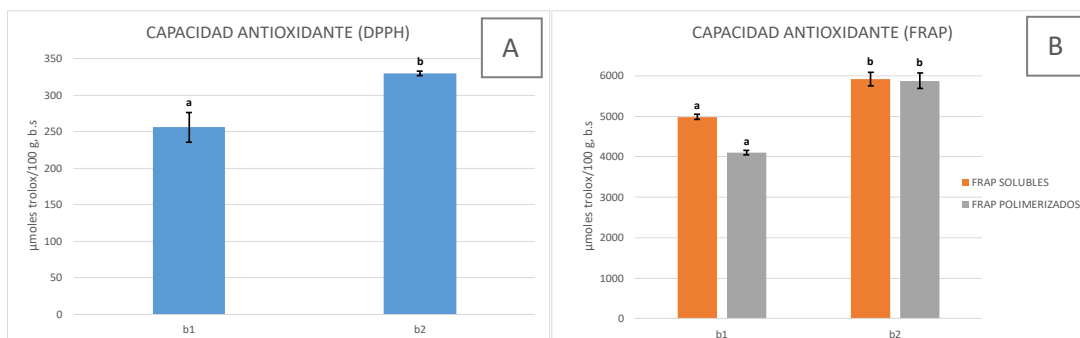


Figura 6. Capacidad antioxidante en los extractos de fenoles solubles obtenida por DPPH (A) y de los fenoles solubles y polimerizados (B) obtenida por FRAP expresados en b.s. (base seca).

* Diferentes letras minúsculas en columnas del mismo color indican valores con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,5$) para el factor estado de maduración.

Los resultados obtenidos en la fracción de fenoles solubles, tanto por DPPH como por FRAP, y para la fracción de fenoles polimerizados por FRAP mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las dos muestras estudiadas, siendo la muestra b2 (bagazo más maduro) la que presentó los mayores valores.

Los polifenoles y el ácido ascórbico son los principales contribuyentes a la actividad antioxidante total en vegetales y frutas (Mansour, 2019), por lo que al relacionarse estos resultados con los expuestos en los apartados 4.1.3. y 4.1.5. se ve que la tendencia que se sigue para la capacidad antioxidante tanto en la fracción soluble como en la polimerizada es la misma que para los fenoles totales y la vitamina C.

4.7. Capacidad emulsionante

En la Figura 7 se puede observar una representación gráfica de la capacidad emulsionante (%) de todas las emulsiones (A, B, C, D, E, F G, H, I, J, K, L) que se elaboraron utilizando los bagazos de clementina b1 y b2.

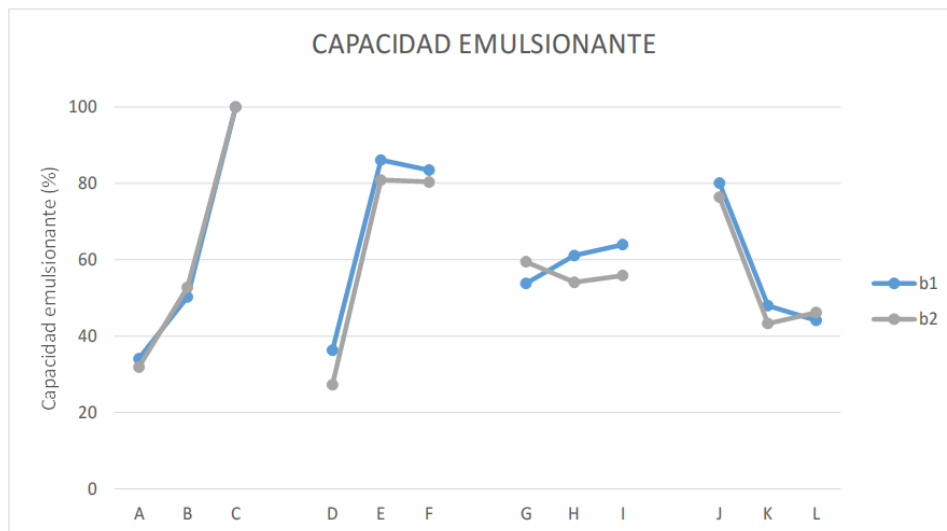


Figura 7. Capacidad emulsionante (%) del polvo de bagazo de clementina procedente de zumo obtenido de frutos en dos estados de maduración (b1 y b2). Emulsión (O/W-%bagazo): A (10/90-1); B (10/90-2,5); C (10/90-5); D (25/25-1); E (25/75-2,5); F (25/75-5); G (50/50-1); H (50/50-2,5); I (50/50-5); J (75/25-1); K (75/25-2,5); L (75/25-5)

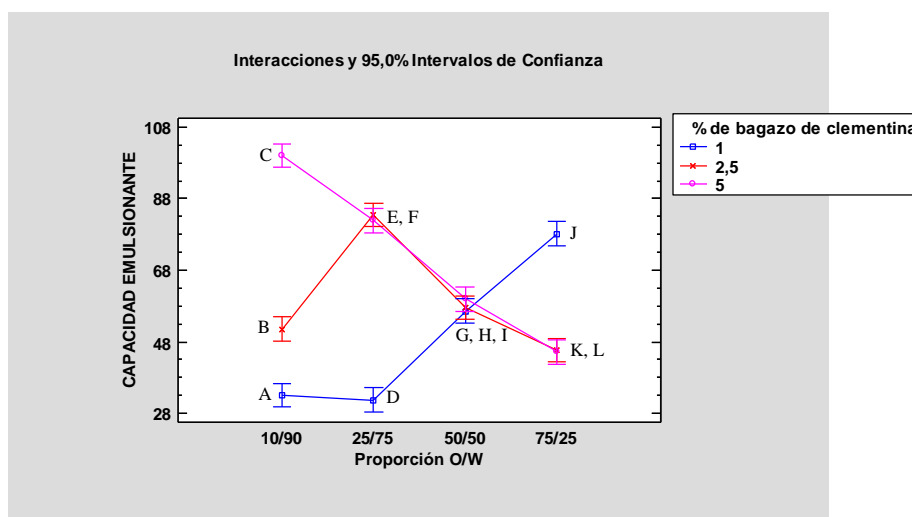


Figura 8. Gráfico de interacciones obtenido al hacer Anova multifactorial en Statgraphics, en el que se muestra la capacidad emulsionante promedio en cada combinación de los factores Proporción O/W (B) y % de bagazo de clementina (A). Eje Y: Emulsionabilidad; Eje X: Proporción O/W; Emulsiones A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L.

Al hacerse el análisis de la varianza (ANOVA) multifactorial se vio que los tres efectos principales son estadísticamente significativos, así como la interacción triple ABC y la interacción doble entre los factores % de bagazo (A) y Proporción O/W (B) (Figura 8).

Como se puede observar en la Figura 7, cuando la proporción de la emulsión fue de 10/90 O/W, al aumentar el porcentaje de bagazo de un 1% a un 5% sí hubo un incremento importante de la capacidad emulsionante. Además, existen diferencias significativas entre los valores de capacidad emulsionante de las emulsiones A, B y C como puede verse en la Figura 8. En las 25/75, con una proporción de bagazo del 2,5% ya se alcanzaron valores elevados de capacidad emulsionante, no

existiendo diferencias entre las emulsiones E y F. En las emulsiones 50/50 no influyó la cantidad de bagazo empleada y no existen diferencias entre las emulsiones G, H e I. En las 75/25 el aumento en la proporción de bagazo produjo un descenso importante de la capacidad emulsionante, siendo la capacidad emulsionante mayor con el uso de bagazo al 1% y no habiendo diferencias entre las emulsiones K y L, es decir, entre el uso de bagazo al 2,5% y al 5% respectivamente.

De forma general, en las emulsiones con bajas concentraciones de aceite el aumento en el porcentaje de bagazo produjo un incremento de la capacidad emulsionante, sin embargo, en las emulsiones con alto contenido en aceite el aumento de bagazo produjo un descenso en esta propiedad tecno-funcional. La emulsión O/W más emulsionada por el bagazo fue la de proporción 10/90 y con un 5% de bagazo.

4.8. Microestructura

El estudio de la microestructura de las diferentes emulsiones permitió observar la forma de los glóbulos de aceite y localizar la ubicación del bagazo en la emulsión. Esta información puede ayudar a comprender el efecto estructurante (estabilizante o emulgente) del bagazo en la emulsión y, en general, como influye en la estabilidad del sistema. En la Figura 9, se pueden observar, por microscopía óptica de campo claro, las emulsiones realizadas utilizando el bagazo de clementinas menos maduras, es decir, de la recolección de octubre (A1, B1, C1, D1, E1, F1, G1, H1, I1, J1, J1, L1) y en la Figura 10 el de las de maduración más avanzada, de la recolección de abril (A2, B2, C2, D2, E2, F2, G2, H2, I2, J2, K2, L2).

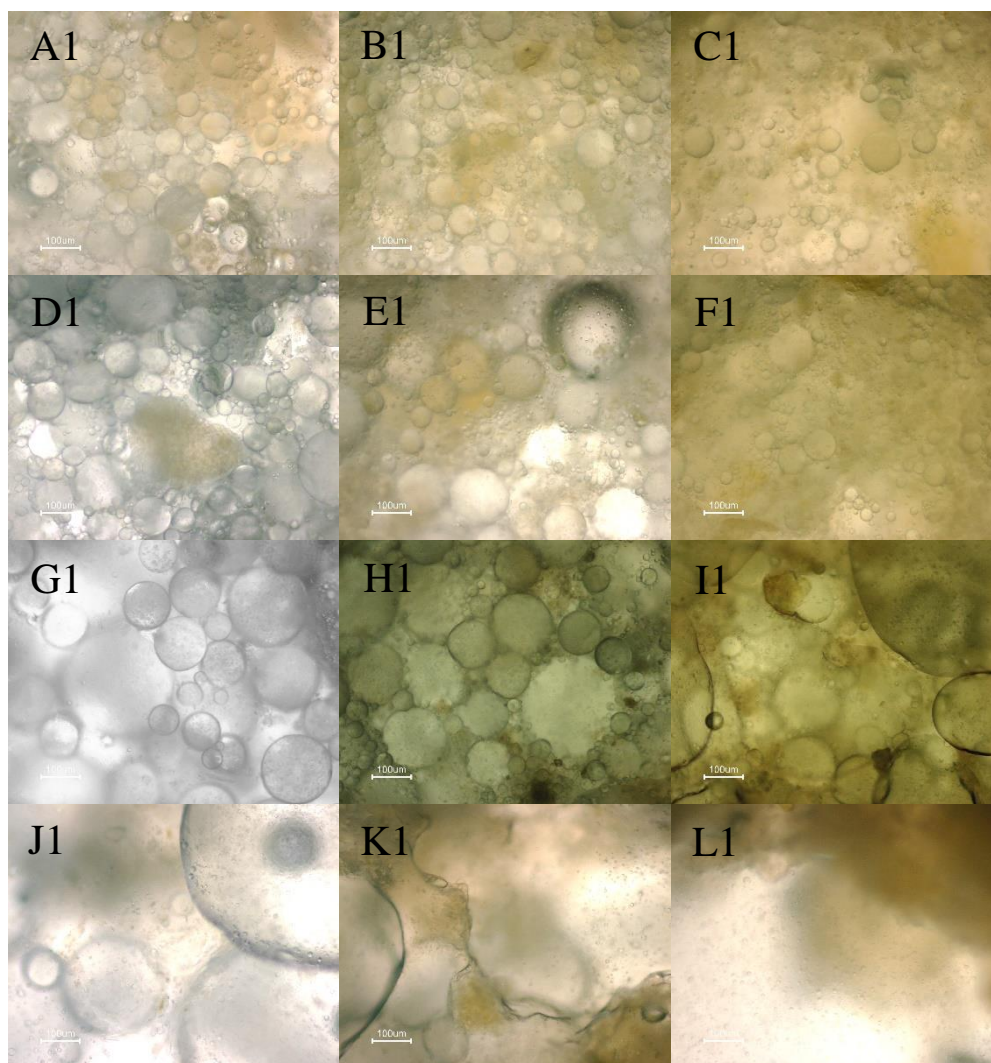


Figura 9. *Imágenes de microscopía en campo claro de las emulsiones obtenidas utilizando el polvo de bagazo de clementina de octubre b1 (A1, B1, C1, D1, E1, F1, G1, H1, I1, J1, K1, L1). Aumentos 10x. Emulsión (O/W-%bagazo): A (10/90-1); B (10/90-2,5); C (10/90-5); D (25/25-1); E (25/75-2,5); F (25/75-5); G (50/50-1); H (50/50-2,5); I (50/50-5); J (75/25-1); K (75/25-2,5); L (75/25-5)*

En las emulsiones elaboradas con el polvo de bagazo b1 y con baja concentración de aceite, es decir, con una proporción de 10/90 (Figuras 9 A1, B1 y C1) y 25/75 O/W (Figuras 9 D1, E1 y F1), se pudo observar que al aumentar la proporción de polvo de bagazo mejoraba la estabilidad de la emulsión. Estas emulsiones presentaron glóbulos pequeños, homogéneos y bien definidos. En general, el bagazo pareció reforzar la fase continua que soporta a los glóbulos, probablemente aportándole consistencia a dicha fase. Algunos glóbulos se observaron rodeados de bagazo, por lo que, es posible que este ejerciera, además de un efecto estabilizante, un efecto emulgente. El efecto estructurante del bagazo en estas emulsiones probablemente sea una combinación de efecto emulgente y estabilizante. En las emulsiones elaboradas con una proporción de 50/50 O/W (Figuras 9 G1, H1 e I1) la mayor proporción de bagazo no influyó en la estabilidad de la emulsión. Al aumentar la cantidad de aceite, llegando a una proporción de 75/25 O/W (Figuras 9 J1, K1 y

L1), el aumento de bagazo no favoreció la estabilidad del sistema, observándose en estas emulsiones gran proporción de grasa libre.

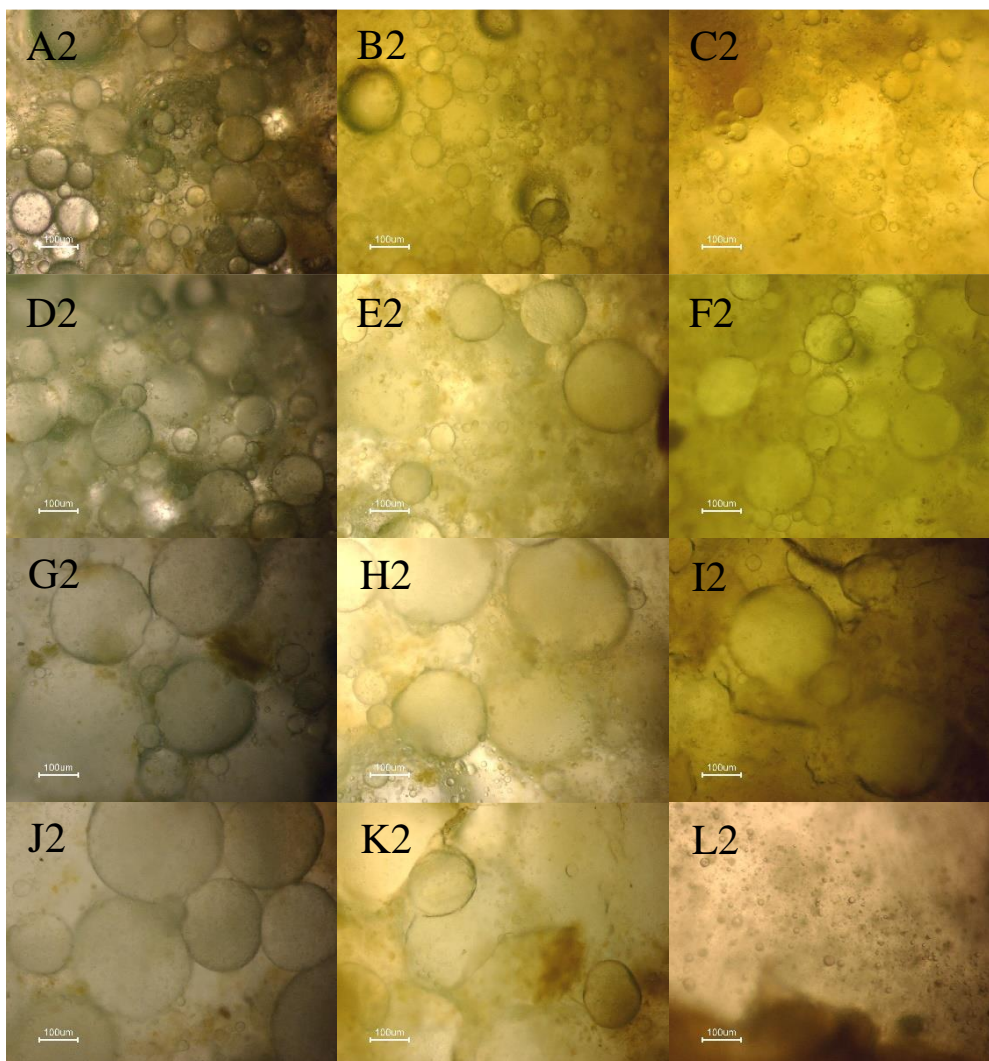


Figura 10. Imágenes de microscopía en campo claro de las emulsiones obtenidas utilizando el polvo de bagazo de clementina de abril b2 (A2, B2, C2, D2, E2, F2, G2, H2, I2, J2, K2, L2). Aumentos 10x. Emulsión (O/W-%bagazo): A (10/90-1); B (10/90-2,5); C (10/90-5); D (25/25-1); E (25/75-2,5); F (25/75-5); G (50/50-1); H (50/50-2,5); I (50/50-5); J (75/25-1); K (75/25-2,5); L (75/25-5)

En relación con las emulsiones que contienen el polvo de bagazo b2, procedente de clementinas en mayor estado de maduración, como en las emulsiones anteriores, se observó un mayor efecto estructurante del bagazo a bajas concentraciones de aceite (10/90 (Figuras 10 A2, B2 y C2) y 25/75 O/W (Figuras 10 D2, E2 y F2) y a mayor proporción de polvo de bagazo empleado. En estas emulsiones se apreciaron glóbulos de tamaño más pequeño y homogéneos. Se apreció bagazo disuelto en la fase continua, probable este bagazo procedente de clementinas más maduras tenga una mayor solubilidad en agua que el b1. También se apreciaron en estas emulsiones glóbulos de aceite rodeados por bagazo. El polvo de bagazo b2 probablemente presente un efecto emulgente. En las emulsiones con proporciones de 50/50 O/W (Figuras 10 G2, H2 e I2), no se

apreció un efecto estructurante con el aumento de bagazo. Cuando la concentración de aceite fue mayor (Figuras 10 J2, K2 y L2), la emulsión se observó desestructurada incluso con proporciones de bagazo del 5%.

5. CONCLUSIÓN

El estado de maduración de la fruta clementina afecta a las propiedades nutricionales del bagazo. Cuanto más avanzado es el estado de maduración mayor es el contenido en proteína, fibra dietética soluble, carotenoides, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante. En cuanto al contenido en vitamina C del bagazo, el estado de maduración de la fruta no parece influir.

El bagazo de clementina presenta capacidad estructurante de emulsiones; sin embargo, el estado de maduración de la fruta no parece influir en esta propiedad tecno-funcional. El bagazo de clementina presenta capacidad emulgente y estabilizante en emulsiones O/W de bajo contenido en aceite (10/90 y 25/75); esta capacidad se ve favorecida al aumentar la concentración de bagazo en la fase acuosa de la emulsión. El uso de bagazo de clementina para la estructuración de emulsiones podría ser interesante en la industria alimentaria, ya que supone una fuente importante de fibra dietética, tiene un alto contenido en compuestos bioactivos y capacidad antioxidante.

6. REFERENCIAS

- Abdulameer, Y. (2019). The effects of dietary vitamin C and Citrus Sinensis peel on growth, hematological characteristics, immune competence, and carcass characteristics in broilers exposed to heat stress. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 32(2), 253–260. <https://doi.org/10.33899/ijvs.2019.153859>
- Alós, E., Rodrigo, M. J., & Zacarías, L. (2014). Differential transcriptional regulation of l-ascorbic acid content in peel and pulp of citrus fruits during development and maturation. *Planta*, 239(5), 1113–1128. <https://doi.org/10.1007/s00425-014-2044-z>
- Alquézar, B., Rodrigo, M. J., & Zacarías, L. (2008). Carotenoid Biosynthesis and its Regulation in Citrus Fruits. *Tree and Forestry Science and Biotechnology*, 2, 23–35.
- Andrade, J. M. de M., Jong, E. V. de, & Henriques, A. T. (2014). Byproducts of orange extraction: influence of different treatments in fiber composition and physical and chemical parameters. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 50(3), 473–482. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502014000300005>
- Ani, P. N., & Abel, H. C. (2018). Nutrient, phytochemical, and antinutrient composition of *Citrus maxima* fruit juice and peel extract. *Food Science & Nutrition*, 6(3), 653–658. <https://doi.org/10.1002/fsn3.604>
- Barbosa, P. de P. M., Ruviano, A. R., & Macedo, G. A. (2018). Comparison of different Brazilian citrus by-products as source of natural antioxidants. *Food Science and Biotechnology*, 27(5), 1301–1309. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0383-4>

- Barros, H. R. de M., Ferreira, T. A. P. de C., & Genovese, M. I. (2012). Antioxidant capacity and mineral content of pulp and peel from commercial cultivars of citrus from Brazil. *Food Chemistry*, *134*(4), 1892–1898. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.090>
- Bogacz-Radomska, L., & Harasym, J. (2018). β -Carotene—properties and production methods. *Food Quality and Safety*, *2*(2), 69–74. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyy004>
- Casas, A., & Mallet, D. (1988). El color de los frutos cítricos. I. Generalidades. II. Factores que influyen en el color. Influencia de la especie, de la variedad y de la temperatura. *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos.*, 184–202.
- Cebadera, L., Dias, M. I., Barros, L., Fernández-Ruiz, V., Cámara, R. M., del Pino, Á., Santos-Buelga, C., Ferreira, I. C. F. R., Morales, P., & Cámara, M. (2020). Characterization of Extra Early Spanish Clementine Varieties (*Citrus clementina* Hort ex Tan) as a Relevant Source of Bioactive Compounds with Antioxidant Activity. *Foods*, *9*(5), 642. <https://doi.org/10.3390/foods9050642>
- Cercós, M., Soler, G., Iglesias, D. J., Gadea, J., Forment, J., & Talón, M. (2006). Global Analysis of Gene Expression During Development and Ripening of Citrus Fruit Flesh. A Proposed Mechanism for Citric Acid Utilization. *Plant Molecular Biology*, *62*(4–5), 513–527. <https://doi.org/10.1007/s11103-006-9037-7>
- Conesa, A., Manera, F. C., Brotons, J. M., Fernandez-Zapata, J. C., Simón, I., Simón-Grao, S., Alfosea-Simón, M., Martínez Nicolás, J. J., Valverde, J. M., & García-Sánchez, F. (2019). Changes in the content of chlorophylls and carotenoids in the rind of Fino 49 lemons during maturation and their relationship with parameters from the CIELAB color space. *Scientia Horticulturae*, *243*, 252–260. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.08.030>
- Costanzo, G., Vitale, E., Iesce, M. R., Naviglio, D., Amoresano, A., Fontanarosa, C., Spinelli, M., Ciaravolo, M., & Arena, C. (2022). Antioxidant Properties of Pulp, Peel and Seeds of Phlegrean Mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) at Different Stages of Fruit Ripening. *Antioxidants*, *11*(2), 187. <https://doi.org/10.3390/antiox11020187>
- Damián-Reyna, A. A., González-Hernández, J. C., Maya-Yescas, R., de Jesús Cortés-Penagos, C., & del Carmen Chávez-Parga, Ma. (2017). Polyphenolic content and bactericidal effect of Mexican Citrus limetta and *Citrus reticulata*. *Journal of Food Science and Technology*, *54*(2), 531–537. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2498-7>
- Dong, T., Xia, R., Xiao, Z., Wang, P., & Song, W. (2009). Effect of pre-harvest application of calcium and boron on dietary fibre, hydrolases and ultrastructure in ‘Cara Cara’ navel orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) fruit. *Scientia Horticulturae*, *121*(3), 272–277. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.02.003>
- Fernandez-Gines, J. M., Fernandez-Lopez, J., Sayas-Barbera, E., Sendra, E., & Perez-Alvarez, J. A. (2003). Effect of Storage Conditions on Quality Characteristics of Bologna Sausages Made with Citrus Fiber. *Journal of Food Science*, *68*(2), 710–714. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb05737.x>
- Ferreira, S. S., Silva, A. M., & Nunes, F. M. (2018). *Citrus reticulata* Blanco peels as a source of antioxidant and anti-proliferative phenolic compounds. *Industrial Crops and Products*, *111*, 141–148. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.009>

- Figuerola, F., Hurtado, M. L., Estévez, A. M., Chiffelle, I., & Asenjo, F. (2005). Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. *Food Chemistry*, *91*(3), 395–401. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.04.036>
- Gañán, P., Zuluaga, R., Castro, C., Restrepo-Osorio, A., Velásquez Cock, J., Osorio, M., Montoya, Ú., Vélez, L., Álvarez, C., Correa, C., & Molina, C. (2017). CELULOSA: UN POLÍMERO DE SIEMPRE CON MUCHO FUTURO. *Revista Colombiana de Materiales*, 01–04.
- Gandini, A., & Belgacem, M. N. (2016). *Cellulose Chemistry and Properties: Fibers, Nanocelluloses and Advanced Materials* (O. J. Rojas, Ed.; Vol. 271). Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-26015-0>
- García-Amezquita, L. E., Tejada-Ortigoza, V., Heredia-Olea, E., Serna-Saldívar, S. O., & Welti-Chanes, J. (2018). Differences in the dietary fiber content of fruits and their by-products quantified by conventional and integrated AOAC official methodologies. *Journal of Food Composition and Analysis*, *67*, 77–85. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.01.004>
- Ghanem, N., Mihoubi, D., Kechaou, N., & Mihoubi, N. B. (2012). Microwave dehydration of three citrus peel cultivars: Effect on water and oil retention capacities, color, shrinkage and total phenols content. *Industrial Crops and Products*, *40*, 167–177. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.03.009>
- Grune, T., Lietz, G., Palou, A., Ross, A. C., Stahl, W., Tang, G., Thurnham, D., Yin, S., & Biesalski, H. K. (2010). β -Carotene Is an Important Vitamin A Source for Humans. *The Journal of Nutrition*, *140*(12), 2268S–2285S. <https://doi.org/10.3945/jn.109.119024>
- He, C., Sampers, I., & Raes, K. (2021a). Isolation of Pectin from Clementine Peel: A New Approach Based on Green Extracting Agents of Citric Acid/Sodium Citrate Solutions. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, *9*(2), 833–843. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c07422>
- He, C., Sampers, I., & Raes, K. (2021b). Dietary fiber concentrates recovered from agro-industrial by-products: Functional properties and application as physical carriers for probiotics. *Food Hydrocolloids*, *111*, 106175. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106175>
- Kang, H. J., Chawla, S. P., Jo, C., Kwon, J. H., & Byun, M. W. (2006). Studies on the development of functional powder from citrus peel. *Bioresource Technology*, *97*(4), 614–620. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.03.037>
- Karam, M. C., Petit, J., Zimmer, D., Baudelaire Djantou, E., & Scher, J. (2016). Effects of drying and grinding in production of fruit and vegetable powders: A review. *Journal of Food Engineering*, *188*, 32–49. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.05.001>
- Kaur, C., & Kapoor, H. C. (2008). Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. *International Journal of Food Science & Technology*, *36*(7), 703–725. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.00513.x>
- KLAVONS, J. A., BENNETT, R. D., & VANNIER, S. H. (1994). Physical/Chemical Nature of Pectin Associated with Commercial Orange Juice Cloud. *Journal of Food Science*, *59*(2), 399–401. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1994.tb06976.x>

- Larrauri, J. A., Rupérez, P., Borroto, B., & Saura-Calixto, F. (1997). Seasonal Changes in the Composition and Properties of a High Dietary Fibre Powder from Grapefruit Peel. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74(3), 308–312. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199707\)74:3<308::AID-JSFA803>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199707)74:3<308::AID-JSFA803>3.0.CO;2-N)
- Liu, Y., Heying, E., & Tanumihardjo, S. A. (2012). History, Global Distribution, and Nutritional Importance of Citrus Fruits. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(6), 530–545. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2012.00201.x>
- Lu, S., Ye, J., Zhu, K., Zhang, Y., Zhang, M., Xu, Q., & Deng, X. (2021). A fruit ripening-associated transcription factor CsMADS5 positively regulates carotenoid biosynthesis in citrus. *Journal of Experimental Botany*, 72(8), 3028–3043. <https://doi.org/10.1093/jxb/erab045>
- Lundberg, B., Pan, X., White, A., Chau, H., & Hotchkiss, A. (2014). Rheology and composition of citrus fiber. *Journal of Food Engineering*, 125, 97–104. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.10.021>
- Macagnan, F. T., Santos, L. R. dos, Roberto, B. S., de Moura, F. A., Bizzani, M., & da Silva, L. P. (2015). Biological properties of apple pomace, orange bagasse and passion fruit peel as alternative sources of dietary fibre. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 6(1), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2015.04.001>
- Mahattanatawee, K., Manthey, J. A., Luzio, G., Talcott, S. T., Goodner, K., & Baldwin, E. A. (2006). Total Antioxidant Activity and Fiber Content of Select Florida-Grown Tropical Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(19), 7355–7363. <https://doi.org/10.1021/jf060566s>
- Mamma, D., & Christakopoulos, P. (2014). Biotransformation of Citrus By-Products into Value Added Products. *Waste and Biomass Valorization*, 5(4), 529–549. <https://doi.org/10.1007/s12649-013-9250-y>
- Mansour, R. (2019). Determination of nutritional composition in citrus fruits (*C. aurantium*) during maturity. *Nutrition & Food Science*, 49(2), 299–317. <https://doi.org/10.1108/NFS-05-2018-0141>
- Marín, F. R., Soler-Rivas, C., Benavente-García, O., Castillo, J., & Pérez-Alvarez, J. A. (2007). By-products from different citrus processes as a source of customized functional fibres. *Food Chemistry*, 100(2), 736–741. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.040>
- Mayne, S. T. (1996). Beta-carotene, carotenoids, and disease prevention in humans. *The FASEB Journal*, 10(7), 690–701. <https://doi.org/10.1096/fasebj.10.7.8635686>
- MINISTERIO DE AGRICULTURA, P. Y. A. M. V. (2020). *Información Subsectorial*. https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/producciones-agricolas/frutas-y-hortalizas/Informacion_subsectorial.aspx
- Muramatsu, N., Takahara, T., Ogata, T., & Kojima, K. (1999). Changes in Rind Firmness and Cell Wall Polysaccharides during Citrus Fruit Development and Maturation. *HortScience*, 34(1), 79–81. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.34.1.79>
- Nam, S.-H., Cho, H.-S., Jeong, H., Lee, B.-B., Cho, Y.-S., Rameeza, F., & Eun, J.-B. (2021). Physicochemical properties, dietary fibers, and functional characterization of three yuzu

- cultivars at five harvesting times. *Food Science and Biotechnology*, 30(1), 117–127. <https://doi.org/10.1007/s10068-020-00850-3>
- Njokweni, S. G., Weimer, P. J., Botes, M., Cruywagen, C. W., & van Zyl, W. H. (2021). Extraruminal Fermentation of Citrus, Grape and Apple Pomaces: Assessing the Potential to Serve as Feedstock for Production of Volatile Fatty acids. *Waste and Biomass Valorization*, 12(7), 3671–3681. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01254-4>
- Ntuli, V., Chatanga, P., Kwiri, R., Gadaga, H. T., Gere, J., Matsepo, T., & Potloane, R. P. (2017). Microbiological quality of selected dried fruits and vegetables in Maseru, Lesotho. *African Journal of Microbiology Research*, 11(5), 185–193. <https://doi.org/10.5897/AJMR2016.8130>
- Pfukwa, T., Fawole, O., Manley, M., Gouws, P., Opara, U., & Mapiye, C. (2019). Food Preservative Capabilities of Grape (*Vitis vinifera*) and Clementine Mandarin (*Citrus reticulata*) By-products Extracts in South Africa. *Sustainability*, 11(6), 1746. <https://doi.org/10.3390/su11061746>
- Pittia, P., & Antonello, P. (2016). Safety by Control of Water Activity: Drying, Smoking, and Salt or Sugar Addition. In *Regulating Safety of Traditional and Ethnic Foods* (pp. 7–28). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800605-4.00002-5>
- Qi, H., Chang, C., & Zhang, L. (2008). Effects of temperature and molecular weight on dissolution of cellulose in NaOH/urea aqueous solution. *Cellulose*, 15(6), 779–787. <https://doi.org/10.1007/s10570-008-9230-8>
- Rafiq, S., Singh, B., & Gat, Y. (2019). Effect of different drying techniques on chemical composition, color and antioxidant properties of kinnow (*Citrus reticulata*) peel. *Journal of Food Science and Technology*, 56(5), 2458–2466. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03722-9>
- REKHA, C., POORNIMA, G., MANASA, M., ABHIPSA, V., DEVI, J. P., KUMAR, H. T. V., & KEKUDA, T. R. P. (2012). Ascorbic Acid, Total Phenol Content and Antioxidant Activity of Fresh Juices of Four Ripe and Unripe Citrus Fruits. *Chemical Science Transactions*, 1(2), 303–310. <https://doi.org/10.7598/cst2012.182>
- Rey, F., Zacarías, L., & Rodrigo, M. J. (2020). Carotenoids, Vitamin C, and Antioxidant Capacity in the Peel of Mandarin Fruit in Relation to the Susceptibility to Chilling Injury during Postharvest Cold Storage. *Antioxidants*, 9(12), 1296. <https://doi.org/10.3390/antiox9121296>
- Ribeiro, B. D., Barreto, D. W., & Coelho, M. A. Z. (2011). Technological Aspects of β -Carotene Production. *Food and Bioprocess Technology*, 4(5), 693–701. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0545-3>
- Rincón, A. M., Vásquez, A. M., & Padilla, F. C. (2005). *Composicion quimica y compuestos bioactivos de las harinas de cascaras de naranja (citrus sinensis), mandarina (citrus reticulata) y toronja (citrus paradisi) cultivadas en Venezuela*. Archivos Latinoamericanos de Nutrición.
- Romero-Lopez, M. R., Osorio-Diaz, P., Bello-Perez, L. A., Tovar, J., & Bernardino-Nicanor, A. (2011). Fiber Concentrate from Orange (*Citrus sinensis* L.) Bagase: Characterization and Application as Bakery Product Ingredient. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(4), 2174–2186. <https://doi.org/10.3390/ijms12042174>

- Schroën, K., de Ruiter, J., & Berton-Carabin, C. (2020). The Importance of Interfacial Tension in Emulsification: Connecting Scaling Relations Used in Large Scale Preparation with Microfluidic Measurement Methods. *ChemEngineering*, 4(4), 63. <https://doi.org/10.3390/chemengineering4040063>
- Sescousse, R., Le, K. A., Ries, M. E., & Budtova, T. (2010). Viscosity of Cellulose–Imidazolium-Based Ionic Liquid Solutions. *The Journal of Physical Chemistry B*, 114(21), 7222–7228. <https://doi.org/10.1021/jp1024203>
- Stahl, W., & Sies, H. (2003). Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular Aspects of Medicine*, 24(6), 345–351. [https://doi.org/10.1016/S0098-2997\(03\)00030-X](https://doi.org/10.1016/S0098-2997(03)00030-X)
- Stewart, I. (1977). Provitamin A and carotenoid content of citrus juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25(5), 1132–1137. <https://doi.org/10.1021/jf60213a048>
- Sun, Y., Qiao, L., Shen, Y., Jiang, P., Chen, J., & Ye, X. (2013). Phytochemical Profile and Antioxidant Activity of Physiological Drop of Citrus Fruits. *Journal of Food Science*, 78(1), C37–C42. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.03002.x>
- Suri, S., Singh, A., Nema, P. K., Malakar, S., & Arora, V. K. (2022). Sweet lime (Citrus limetta) peel waste drying approaches and effect on quality attributes, phytochemical and functional properties. *Food Bioscience*, 101789. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101789>
- Talekar, S., Vijayraghavan, R., Arora, A., & Patti, A. F. (2020). Greener production of low methoxyl pectin via recyclable enzymatic de-esterification using pectin methylesterase cross-linked enzyme aggregates captured from citrus peels. *Food Hydrocolloids*, 108, 105786. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105786>
- Tareen, H., Mengal, F., Masood, Z., Mengal, R., Ahmed, S., Bibi, S., Shoaib, S., Sami, U., Mandokhail, F., Riaz, M., Farmanand, N., & Nawaz, Z. (2015). “Determination of vitamin C content in citrus fruits and in non-citrus fruits by titrimetric method, with special reference to their nutritional importance in human diet. *Biological Forum – An International Journal*, 7(2), 367–369.
- Tayangwa, T., Chikwanha, O. C., Raffrenato, E., Dugan, M. E. R., Mutsvangwa, T., & Mapiye, C. (2021). Comparative effects of feeding citrus pulp and grape pomace on nutrient digestibility and utilization in steers. *Animal*, 15(1), 100020. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2020.100020>
- Thompson, H. J., & Brick, M. A. (2016). Perspective: Closing the Dietary Fiber Gap: An Ancient Solution for a 21st Century Problem. *Advances in Nutrition: An International Review Journal*, 7(4), 623–626. <https://doi.org/10.3945/an.115.009696>
- Thurnham, D. I. (2007). Bioequivalence of β -carotene and retinol. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(1), 13–39. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2647>
- Verkempinck, S. H. E., Kyomugasho, C., Salvia-Trujillo, L., Denis, S., Bourgeois, M., van Loey, A. M., Hendrickx, M. E., & Grauwet, T. (2018). Emulsion stabilizing properties of citrus pectin and its interactions with conventional emulsifiers in oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 85, 144–157. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.07.014>

- Wang, C., Qiu, W.-Y., Chen, T.-T., & Yan, J.-K. (2021). Effects of structural and conformational characteristics of citrus pectin on its functional properties. *Food Chemistry*, 339, 128064. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128064>
- Wang, Y.-C., Chuang, Y.-C., & Hsu, H.-W. (2008). The flavonoid, carotenoid and pectin content in peels of citrus cultivated in Taiwan. *Food Chemistry*, 106(1), 277–284. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.05.086>
- Xu, C.-J., Fraser, P. D., Wang, W.-J., & Bramley, P. M. (2006). Differences in the Carotenoid Content of Ordinary Citrus and Lycopene-Accumulating Mutants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(15), 5474–5481. <https://doi.org/10.1021/jf060702t>
- Zdunek, A., Pieczywek, P. M., & Cybulska, J. (2021). The primary, secondary, and structures of higher levels of pectin polysaccharides. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1), 1101–1117. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12689>
- ZHANG, H., YANG, Y., & ZHOU, Z. (2018). Phenolic and flavonoid contents of mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) fruit tissues and their antioxidant capacity as evaluated by DPPH and ABTS methods. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(1), 256–263. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61664-2](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61664-2)
- Zhu, X., Li, L., Li, S., Ning, C., & Zhou, C. (2019). l-Arginine/l-lysine improves emulsion stability of chicken sausage by increasing electrostatic repulsion of emulsion droplet and decreasing the interfacial tension of soybean oil-water. *Food Hydrocolloids*, 89, 492–502. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.11.021>

7. ANEXO I. RELACIÓN DEL TRABAJO CON LOS OBJETIVOS DE DESARROLLO SOSTENIBLE DE LA AGENDA 2030

El uso de bagazo de clementina, un subproducto de la industria alimentaria, como nuevo ingrediente en la producción de alimentos puede contribuir significativamente a varios de los Objetivos de Desarrollo Sostenibles (ODS) establecidos por la ONU.

Objetivos de desarrollo sostenibles	Alto	Medio	Bajo	No procede
ODS 1. Fin de la pobreza			X	
ODS 2. Hambre cero	X			
ODS 3. Salud y bienestar	X			
ODS 4. Educación de calidad				X
ODS 5. Igualdad de género				X
ODS 6. Agua limpia y saneamiento				X
ODS 7. Energía asequible y no contaminante				X
ODS 8. Trabajo decente y crecimiento económico	X			
ODS 9. Industria, innovación e infraestructuras	X			
ODS 10. Reducción de las desigualdades				X
ODS 11. Ciudades y comunidades sostenibles				X
ODS 12. Producción y consumo responsables	X			
ODS 13. Acción por el clima		X		
ODS 14. Vida submarina				X
ODS 15. Vida de ecosistemas terrestres			X	
ODS 16. Paz, justicia e instituciones sólidas				X
ODS 17. Alianzas para lograr objetivos				X

En cuanto a los ODS con un grado de relación más alto con el presente trabajo destacan:

ODS 2 – Hambre cero

Al incorporar el bagazo como ingrediente se fabricarían alimentos de mayor calidad nutricional al ser este subproducto una buena fuente de fibra, además de la reducción del coste de fabricación que supondría su utilización en la industria alimentaria, haciendo que estos alimentos sean más accesibles y ayudando a combatir el hambre y la malnutrición.

ODS 3 – Salud y bienestar

Al producir alimentos nuevos a partir de este subproducto, pueden crearse opciones de alimentos más saludables y sostenibles por tener fibra, un elevado contenido en compuestos bioactivos y poseer propiedades antioxidantes.

ODS 8 – Trabajo decente y crecimiento económico

La incorporación del bagazo de clementina en la industria como nuevo ingrediente podría crear nuevas oportunidades de trabajo, promoviendo por tanto el crecimiento económico, además de alentar el desarrollo empresarial. Los productores de clementina aumentarían sus ingresos al comenzar a utilizarse una parte de la fruta que de otra forma simplemente se desecharía, por lo que mejorarían sus condiciones de trabajo.

ODS 9 – Industria, Innovación e Infraestructuras

El uso de bagazo en la industria alimentaria para producir nuevos alimentos promueve la innovación y la investigación. Se promueve la búsqueda de nuevas tecnologías e ingredientes para producir alimentos más saludables, nutritivos y sostenibles, mejorándose los procesos de producción.

ODS 12 – Producción y consumo responsables

Al utilizarse el bagazo de clementina y darle utilidad a un subproducto que de otra forma supondría un problema grave de contaminación se promueve la producción y el consumo responsable, reduciéndose así el desperdicio de alimentos y fomentándose el uso sostenible de los recursos.

En conclusión, el uso de bagazo de clementina en la industria alimentaria contribuye como se ha visto a lograr varios de los Objetivos de Desarrollo Sostenibles (ODS) establecidos por la ONU, creando productos más nutritivos y sostenibles y fomentándose la innovación y el desarrollo económico.