



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



INSTITUTO DE INGENIERÍA DE
ALIMENTOS PARA EL DESARROLLO

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para
el Desarrollo

IMPACTO FISIOLÓGICO DE LA FIBRA PRESENTE EN
EL COPRODUCTO DEL ZUMO DE NARANJA

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Ciencia e Ingeniería de los Alimentos

AUTOR/A: Ustero Patiño, Isabel

Tutor/a: Martínez Navarrete, Nuria

Cotutor/a: Camacho Vidal, M^a Mar

CURSO ACADÉMICO: 2021/2022



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Impacto fisiológico de la fibra presente en el coproducto del zumo de naranja

TRABAJO FIN DE MÁSTER UNIVERSITARIO EN CIENCIA E
INGENIERÍA DE LOS ALIMENTOS

ALUMNO/A:

Isabel Ustero Patiño

TUTOR/A ACADÉMICO:

María del Mar Camacho Vidal

COTUTOR/A:

Nuria Martínez Navarrete

Curso académico: 2021-20

VALENCIA, SEPTIEMBRE DE 2022

IMPACTO FISIOLÓGICO DE LA FIBRA PRESENTE EN EL COPRODUCTO DEL ZUMO DE NARANJA

Ustero, I., Camacho, M.M., Martínez, N.

RESUMEN:

La ingesta de fibra entre la población se encuentra muy por debajo de la recomendación actual de las Autoridades de seguridad alimentaria. Para aumentar estos valores, se recomienda el consumo de mayor cantidad de legumbres, cereales, frutas y verduras. Por otra parte, en la actualidad, nos enfrentamos al gran problema medioambiental que genera el desperdicio alimentario. Si aunamos ambos aspectos, y teniendo como objetivo la estrategia de la economía circular, puede ser una oportunidad aprovechar estos residuos como una fuente natural de fibra. Diferentes estudios recogen las propiedades físicas, químicas y funcionales de la fibra procedente del subproducto de cítricos. En cambio, este trabajo se ha centrado en profundizar en el impacto fisiológico del coproducto del zumo de naranja, indagando en su efecto sobre la glucemia postprandial, lo que parecía una tarea pendiente. Para ello se ha estudiado, además de la composición, el índice glucémico, el índice de retardo de diálisis de la glucosa, la capacidad de adsorción de glucosa, la capacidad de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa y la capacidad de retención de agua y de aceite. Los resultados obtenidos permiten concluir que el producto estudiado podría ser propuesto por la industria alimentaria como un ingrediente interesante, formando parte de una dieta saludable, incluida la de personas que padecen diversos tipos de trastornos metabólicos.

PALABRAS CLAVE: coproducto del zumo de naranja; economía circular; fibra dietética; glucemia.

RESUM:

La ingesta actual de fibra es troba molt per sota de la recomanació actual de les autoritats de seguretat alimentària. Per augmentar aquests valors, es recomana el consum de major quantitat de llegums, cereals, fruites i verdures. D'altra banda, en l'actualitat, ens enfrontem al gran problema mediambiental que genera el rebuig alimentari. Si unim ambdós aspectes, i tenint com a objectiu l'estratègia de l'economia circular, pot ser una oportunitat l'ús d'aquests residus com una font natural de fibra. Diferents estudis recullen les propietats físiques, químiques i funcionals de la fibra procedent del subproducte de cítrics, en canvi aquest treball s'ha centrat a aprofundir en l'impacte fisiològic del coproducte del

suc de taronja indagant en el seu efecte sobre la glucèmia postprandial el que semblava una tasca pendent. Per a això s'ha estudiat la composició, l'índex glucèmic, l'índex de retard de diàlisi de la glucosa, la capacitat d'adsorció de glucosa, la capacitat d'inhibició de α -amilasa i α -glucosidasa i la capacitat de retenció d'aigua i d'oli. Els resultats obtinguts permeten concloure que el producte estudiat podria ser una interessant oportunitat per a la indústria alimentària com a ingredient formant part d'una dieta saludable, inclosa la de persones que pateixen diversos tipus de trastorns metabòlics.

PARAULES CLAU: coproducte del suc de taronja; economia circular, fibra dietètica; glucèmia.

ABSTRACT:

Current fiber intake is well below the current recommendation of food safety authorities. To increase these values, it is recommended to consume more legumes, cereals, fruits and vegetables. On the other hand, at present, we face the great environmental problem generated by food waste. If we combine both aspects, and with the objective of the circular economy strategy, it may be an opportunity to use this waste as a natural source of fiber. Different studies collect the physical, chemical and functional properties of fiber from the citrus by-product, instead this work has focused on deepening the physiological impact of the co-product of orange juice investigating its effect on postprandial glycemia which seemed a pending task. To this end, the composition, the glycemic index, the glucose dialysis delay index, the glucose adsorption capacity, the inhibition capacity of α -amylase and α -glucosidase and the water and oil retention capacity have been studied. The results obtained allow us to conclude that the product studied could be an interesting opportunity for the food industry as an ingredient forming part of a healthy diet, including that of people suffering from some types of metabolic disorders.

KEY WORDS: co-product of orange juice; circular economy, dietary fiber; glycemia.

INTRODUCCIÓN:

Uno de los intereses actuales de la industria agroalimentaria es la utilización de los residuos generados siguiendo el modelo de economía circular, concepto económico relacionado con la sostenibilidad, cuyo objetivo es mantener el valor de los productos, materiales y recursos el mayor tiempo posible, además de reducir al máximo los desechos generados (Consellería de Hacienda y Modelo Económico, 2022). Esto permitiría contribuir a la sostenibilidad del planeta, tal y como se propone en el Objetivo de Desarrollo Sostenible (ODS 12) “garantizar modalidades de consumo y producción sostenibles”. Es decir, hacer más y mejor con menos, aumentar la eficiencia de recursos y promover estilos de vida sostenibles. Esto puede, a su vez, contribuir a la mitigación de la pobreza (ODS 1) y a poner fin al hambre y a la malnutrición (ODS 2) garantizando una vida sana (ODS 3).

En este sentido, centrándonos en el sector de los cítricos, sabiendo que la industria elaboradora de zumos procesa anualmente algo más del 27 % de la producción mundial de naranjas, lo que representa una cifra de unos 28 millones de toneladas (Maluenda, 2021) y teniendo en cuenta que aproximadamente el 50% del peso total del fruto se convierte en residuo, es interesante buscar una manera de aprovechar el bagazo basándonos, especialmente, en su alto contenido en fibra dietética, ya que se sabe que la piel de los cítricos tiene un alto contenido de ésta (Figuerola et al., 2005).

Son muchas las propiedades que se le atribuyen a la fibra, entre las que encontramos: la regulación del sobrepeso y la obesidad, la disminución del índice glucémico, la prevención de cáncer de colon y de recto, al mismo tiempo que de enfermedades cardiovasculares, así como su acción contra el estreñimiento (Sánchez et al., 2015). No obstante, se ha evidenciado en varios estudios realizados con el objetivo de conocer la ingesta real de fibra dietética en España, que ésta es menor a la recomendación de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) de 25 g/día.

Con el fin de entender mejor que es la fibra dietética (FD), la AACCC (*American Association for Clinical Chemistry*) la define como la parte comestible de las plantas o carbohidratos análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado, con fermentación parcial o completa en el intestino grueso. La FD incluye polisacáridos, oligosacáridos y lignina. Podemos clasificar la fibra de acuerdo con su solubilidad en agua, en fibra insoluble (celulosa, gran parte de las hemicelulosas y lignina) y soluble (pectinas, gomas, mucílagos y ciertas hemicelulosas) (Robles, 2002).

Los mecanismos de acción de la fibra están basados en el tiempo prolongado de masticación, aumento de la saciedad, retraso en el vaciamiento gástrico

(Vilcanqui-Perez & Vilches-Perales, 2017) y su capacidad para reducir los niveles de glucosa sérica (Flores-Fernández et al., 2017). Esto último se debe al aumento de la viscosidad en el intestino que dificulta la difusión de la glucosa, a su aptitud para adsorber glucosa y a su poder de inhibición de la actividad de la α -amilasa (Flores-Fernández et al., 2017), enzima clave en la digestión y absorción de hidratos de carbono (CHO) hidrolizando los enlaces glicosídicos α -1,4 dentro de los polímeros de glucosa ingeridos con la dieta.

Teniendo en cuenta lo anterior y ante un aumento en la incidencia de enfermedades no transmisibles, como la obesidad y la diabetes, relacionadas con la elevación frecuente de la glucemia postprandial es lógico ahondar en el concepto de índice glucémico (IG) (Díaz-Osorio et al., 2019). El IG es definido por la FAO/OMS como el incremento del área bajo la curva de respuesta glucémica que produce la ingesta de 50 g de CHO del alimento testeado, expresado como un porcentaje de la respuesta de la misma cantidad de CHO de un alimento estándar (glucosa o pan blanco), tomados por el mismo sujeto. El valor obtenido para el alimento de referencia es 100 y el del alimento analizado se expresa como porcentual de esta referencia (Manuzza et al., 2018).

También hay que hacer hincapié en que el IG no depende únicamente de la sustancia en sí, sino que además, está relacionado con una serie de factores físicos y químicos que interactúan en el alimento entre los que destacan: las técnicas de procesamiento (molienda y congelación), culinarias (calor, agua y tiempo de preparación), tipo de almidones (amilosa y amilopectinas), contenido de fibra, tipo de hidratos de carbono, contenido de grasas y acidez (utilización de vinagre y jugo de limón) (Arteaga, 2006).

Un IG alto produce fluctuaciones considerables en el nivel de azúcar en sangre, mientras que los alimentos con IG bajo provocan un aumento menor del mismo (American Diabetes Association, 2013). Cabe recalcar que el IG se usa cada vez con mayor frecuencia para establecer el régimen de alimentación de pacientes con diabetes, sobrepeso, obesidad y enfermedades cardiovasculares (Neuhouser et al., 2006).

Es por esto que el objetivo principal de este trabajo es, además de la caracterización proximal del coproducto del zumo de naranja en polvo, en cuanto a humedad, azúcares, grasas, proteínas, cenizas y fibra dietética, tanto soluble como insoluble, conocer su potencial como regulador de la glucemia postprandial, analizando el índice glucémico, índice de retardo de diálisis de la glucosa, capacidad de adsorción de glucosa, capacidad de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa y capacidad de retención de agua y de aceite.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Obtención del coproducto del zumo de naranja en polvo:

El residuo del zumo de naranja utilizado como materia prima, fue cedido por la cafetería *Belles Arts Sant Carles* de la Universitat Politècnica de València en febrero de 2022.

Para la obtención del coproducto en polvo (CoZ), se trituró y emulsionó (Eurofred, España) el residuo, adicionando agua en relación 1/0,38 con la intención de facilitar el proceso y crear una mezcla homogénea (Ustero, 2021). La emulsificación se llevó a cabo durante 5 minutos por cada 750 g de residuo.

La mezcla fue vertida en bandejas de aluminio de 16,8 cm de radio hasta cubrir 1 cm de espesor, se congeló y almacenó en un arcón congelador (Liebherr LGT 2325, Alemania) a -45° C, durante al menos 24 h hasta su secado por liofilización (Telstar LYOQUEST-55, España). Las condiciones del proceso fueron de -50 °C en el condensador, una presión de 0,05 mbar y con las bandejas calefactadas a 50 °C durante 21 h.

Una vez obtenidas las tortas liofilizadas, se trituraron (Thermomix®, Vorwerk, España) en tandas de 40 g a 2000 rpm durante 20 s, repitiendo la operación hasta conseguir que todo el polvo obtenido pasara por un tamiz de 200 µm (CISA 200/50, Barcelona, España), con la ayuda de una tamizadora (RP 200 N CISA, Barcelona, España).

Determinaciones analíticas:

Todos los análisis que se detallan en este apartado se realizaron al CoZ por triplicado. Los resultados se expresan como la media ± desviación estándar.

HUMEDAD

El contenido en agua de la muestra liofilizada se determinó con el valorador automático Karl Fisher (Mettler Toledo, Compact Coulometric Titrator C10S, Worthington, USA).

AZÚCARES TOTALES

El contenido de azúcares totales se determinó siguiendo el método químico de Bertrand, basado en la reducción del cobre. Para ello se realizó una primera hidrólisis, en la que a 0,6 g de CoZ se adicionaron 40 mL de agua destilada y 2,8 mL de HCl (37%) y se sometió durante 150 minutos a calentamiento directo con reflujo. En la etapa de alcalinización, una vez se enfrió la solución hidrolizada, se agregaron 2 mL de alúmina y se ajustó el pH a 8 con NaOH (6N) y se aforó a 100 mL con agua. Finalmente se filtró. Para la etapa de reducción se vertieron, a 5 mL de la disolución filtrada, 10 mL de la disolución Fehling A y 10 mL de disolución Fehling B, se tapó y se dejó hervir durante 3 minutos. Tras la aparición de óxido cuproso en el fondo, se enfrió en un baño de hielo y se procedió a su lavado hasta que el sobrenadante se volvió transparente. A continuación, se

vertieron 30 mL de sulfato férrico. La disolución se valoró con una disolución 0,1N de KMnO_4 hasta que el color verde viró a rosa permaneciendo al menos durante 20 segundos. Una vez calculados los mg de cobre, se utilizó la Tabla de Bertrand para establecer la equivalencia en azúcares totales.

GRASA:

Para el análisis de grasa se utilizó el método 920.39c (AOAC, 1990a) o extracción directa Soxhlet. Se pesaron 5 g de CoZ y se introdujeron en el interior de los cartuchos de extracción, se adicionó el disolvente éter de petróleo en cantidad suficiente para garantizar el correcto funcionamiento del extractor. Se extrajo durante 6 h regulando la ebullición de forma que se produzca una sifonada cada 4 minutos. Después, se recuperó el disolvente primero en un rotavapor y luego en estufa a 105 °C durante media hora, se enfrió en el desecador y se pesó. El porcentaje de grasa se calculó por diferencia de pesos.

CENIZAS

Para la determinación del contenido de cenizas se utilizó el método gravimétrico 942.05/90 (AOAC, 1990b). Se pesaron 2 g de muestra (Mettler Toledo XS204DR, Suiza) en los crisoles de porcelana y, semitapados, se colocaron en el horno mufla a 250 - 300 °C (J.P. Selecta 367 PE, España), para que la materia orgánica se quemara y una vez cesó el desprendimiento de humos (30-45 minutos) se aumentó la temperatura hasta 550 °C y se mantuvo calcinando 8 h. Seguidamente se dejaron enfriar las cenizas por debajo de 200 °C dentro de la mufla y se llevaron a un desecador hasta temperatura ambiente. Se ratificó que las cenizas fuesen blancas y se procedió a pesar la muestra calcinada. El contenido en cenizas se calculó por diferencia de peso.

PROTEINAS:

El contenido de proteínas se determinó mediante el método Kjeldhal 955.04/90 (AOAC, 1990c). A 1 g de muestra se añadieron 3 g de catalizador Kjeldhal junto con 10 mL de H_2SO_4 (98%) y 5 mL de agua oxigenada de 30 volúmenes. La disolución se digirió a 420 °C durante 35-40 minutos. El digesto se diluyó en frío con 50 mL de agua destilada y se llevó a la unidad de destilación. Se adicionaron 50 mL de NaOH (10 N) y se destiló en corriente de vapor durante 4 min. El destilado se recogió sobre 50 mL de H_3BO_3 4% y tres gotas del indicador. El NH_4OH recogido se valoró con H_2SO_4 0,1N hasta que la disolución viró de verde a violeta. El resultado se multiplicó por el factor 6,25, característico de las frutas, para obtener la proteína. Además, se realizó un blanco y se calculó el contenido total de nitrógeno expresado como porcentaje.

FIBRA:

El contenido en fibra dietética total (FDT) y sus fracciones soluble (FDS) e insoluble (FDI) se analizaron mediante el método enzimático gravimétrico propuesto por Johansson et al. (1983) utilizando un kit para cuantificación de fibra dietética total (1.12979.0001, Sigma-Aldrich, Darmstadt, Alemania).

Según este kit, el ensayo consta de una primera etapa de degradación enzimática común para la determinación de la FDT, FDS y FDI. Se pesó 1,0 g de CoZ y se adicionaron 40 mL de disolución tampón MES/TRIS ajustada a un pH 8,3 con NaOH (5%), se agregaron 50 µL de α-amilasa, se taparon y se incubaron en un baño de agua a 95-100 °C durante 30 minutos en agitación constante. Pasado ese tiempo se enfriaron a 60 °C y se añadieron 50 µL de proteasa. Transcurridos otros 30 minutos se adicionaron 5 mL de HCl (0,56 M) y se ajustó el pH a un valor entre 4,0 y 4,7 con HCl (5%). Finalmente se agregaron 150 µL de amiloglucosidasa y se incubaron 30 minutos a 60 °C. Al mismo tiempo se preparó un blanco para cada fracción de fibra siguiendo el mismo procedimiento, pero sin añadir el CoZ.

En la determinación de FDT, al resultado de la degradación se le añadieron 220 mL de etanol (95%) a 60 °C y se dejó reposar 1 h a temperatura ambiente. A continuación, la mezcla se decantó con ayuda de un ligero vacío sobre crisoles filtrantes (previamente activados y pesados) y los residuos se lavaron 3 veces con 15 mL de etanol (78%), 2 veces con 10 mL de etanol (95%) y 3 veces con 10 mL de acetona. Se dejaron secar toda la noche en una estufa a 105 °C, se enfriaron y se pesaron. A una de las muestras de las dos repeticiones se le determinó proteínas y a la otra se le analizó cenizas según los procedimientos explicados con anterioridad.

En cambio, para la determinación de FDI, el resultado de la degradación se filtró directamente sobre los crisoles filtrantes y los residuos se lavaron 2 veces con 10 mL de agua destilada a 70 °C. La disolución del filtrado más el agua de lavado se guardó para la determinación de FDS. Después los residuos se siguieron lavando 2 veces con 15 mL de etanol (78%), 2 veces con 15 mL de etanol (95%) y 2 veces con 15 mL de acetona. Se dejaron secar toda la noche en una estufa a 105 °C, se enfriaron y se pesaron. A una de las muestras de las dos repeticiones se le determinó proteínas y a la otra se le analizó cenizas.

Por último, en la determinación de FDS, a las disoluciones del filtrado con el agua de lavado se les aplicó el mismo procedimiento que para la FDT.

CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA (CRA):

El análisis de la capacidad de retención de agua del coproducto del zumo de naranja fue realizado según Fuentes-Alventosa et al. (2009). Se agregaron 15 mL de agua destilada a 250 mg de muestra liofilizada. Las suspensiones se mantuvieron en agitación durante 24 horas a temperatura ambiente, se vertieron en tubos de centrifuga (previamente pesados) y se centrifugaron (GYROZEN 1236R, Korea) a 1400 x g una hora, se desechó el sobrenadante y se pesaron las fibras hidratadas. El resultado se calculó por diferencia de pesos.

CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE ACEITE (CRO):

El análisis de la capacidad de retención de aceite del CoZ fue realizado según De Morales-Crizel et al. (2013). Se agregaron 30 mL de aceite de girasol

a 1 g de muestra liofilizada. Las suspensiones se homogenizaron en un vórtex (VELP SCIENTIFICA F202A0176, Italia) durante 1 minuto y se dejaron 24 h a temperatura ambiente, se vertieron en tubos de centrifuga (previamente pesados) y se centrifugaron a 3000 x g durante 20 minutos, se desechó el sobrenadante y se pesó el residuo. El resultado se calculó por diferencia de pesos.

CAPACIDAD INHIBITORIA DE LAS ACTIVIDADES α - AMILASA Y α -GLUCOSIDASA:

La extracción de los compuestos fenólicos de la muestra, responsables de la inhibición de enzimas digestivos, se realizó según la metodología descrita por Mccue et al. (2005), que consiste en agregar 10 g de CoZ a 50 mL de agua destilada, homogeneizar, centrifugar a 11200 x g a 4 °C durante 20 minutos y hacer pasar el sobrenadante por papel de filtro Whatman.

Inhibición de α -amilasa:

Se determinó la inhibición de α -amilasa siguiendo el método descrito por Alu'datt et al. (2017). Para ello se disolvieron 0,125 g de almidón (R05YI, ROQUETTE, Benifaió, España) en 25 mL de tampón fosfato, se ajustó el pH a 6,9 y se mantuvo a 65 °C durante 20 minutos en agitación constante. Por otro lado, se preparó una disolución de α -amilasa (A3176-500U, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) agregando 30 mg de ésta a 100 mL de agua destilada. Para la realización del ensayo, a 40 μ L de extracto o control (agua destilada) se añadieron 400 μ L de la disolución de almidón y 200 μ L de la de α -amilasa, se dejó a temperatura ambiente 3 min y se utilizó el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS) especificado por Burgos (2020) para la determinación de la maltosa. El porcentaje de inhibición de la enzima se calculó siguiendo la **ecuación 1**.

$$\% \text{ Inhibición}_{\alpha-A} = \left(1 - \left(\frac{\text{maltosa muestra}}{\text{maltosa control}} \right) \right) * 100 \quad (1)$$

Inhibición de α -glucosidasa:

La inhibición de α -glucosidasa se determinó siguiendo el método descrito por Alu'datt et al. (2017), usando un kit de ensayo de la actividad de la α -glucosidasa (MAK123, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA). La realización del ensayo consistió en añadir a 50 μ L de extracto o el control proporcionado con el kit, 100 μ L del reactivo α -glucosidasa con tampón fosfato, se incubó a 25 °C durante 10 minutos, posteriormente se agregaron 50 μ L de sustrato α -NPG y se dejó incubar a la misma temperatura 5 minutos más. Se midió la absorbancia a una longitud de onda de 405 nm y se calculó el porcentaje de inhibición enzimática siguiendo la **ecuación 2**.

$$\% \text{ Inhibición}_{\alpha-G} = \left(\frac{\text{Abs control} - \text{Abs muestra}}{\text{Abs control}} \right) * 100 \quad (2)$$

CAPACIDAD DE ADSORCIÓN DE LA GLUCOSA

El análisis de la capacidad de adsorción de la glucosa fue realizado según Flores-Fernández et al. (2017). Se pesaron 6 muestras de 0,25 g de CoZ y se le añadieron 25 mL de una disolución de glucosa (100 mM). A 3 de ellas se les midió la glucosa inicial siguiendo el método de la glucosa oxidasa-peroxidasa (GOD-POD) para muestras sin almidón resistente (Starch assay kit, STA-20, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), utilizando los reactivos glucosa oxidasa/peroxidasa (G3660), o-dianisidina dihydrochloride (D2679-1VL) y D-(+) disolución de glucosa, todos ellos Sigma (Vidra-Foc, Barcelona, España). Las 3 muestras restantes se llevaron a una cámara de incubación (Nüve Test Gabinet chamber TK120, Estambul, Turquía) a 37 °C durante 6 h a agitación constante. Posteriormente, el contenido se centrifugó a 4000 x g durante 20 minutos, se tomó el sobrenadante y se le analizó la glucosa final siguiendo la **ecuación 3**. Se midió la absorbancia a 540 nm.

$$\text{Adsorción Glucosa} = \left(\frac{\text{Abs final} - \text{Abs inicial}}{\text{Peso muestra}} * \text{volumen solución} \right) \quad (3)$$

ÍNDICE DE RETARDO DE DIALISIS DE LA GLUCOSA (IRDG):

Para la determinación de este índice, se siguió el procedimiento descrito por Fuentes-Alventosa et al. (2009). La fibra del coproducto se extrajo dos veces con etanol al 85%. Por una parte, se pesaron 400 mg del extracto y se le añadieron 15 mL de agua destilada y 30 mg de glucosa. Por otra parte, se preparó una disolución control (sin el extracto). Todas las disoluciones se mantuvieron en agitación continua durante 1 h y se transfirieron a membranas de diálisis (D9777-100FT, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) de 15 cm previamente activadas. Posteriormente se introdujeron en vasos de precipitados con 400 mL de agua destilada y se mantuvieron una hora a 37 °C con agitación continua. Una vez transcurrido ese tiempo, se midió la glucosa difundida al agua de los vasos precipitados con el método GOD-POD. El índice del retardo glucémico se calculó mediante la **ecuación 4**.

$$\text{IRDG} = 100 - \left(\frac{\text{glucosa difundida muestra}}{\text{glucosa difundida control}} * 100 \right) \quad (4)$$

ÍNDICE GLUCÉMICO ESTIMADO:

Se realizó una digestión in vitro según Loachamín (2015) con ligeras modificaciones. Para ello, 2 g de CoZ se agitaron con 20 mL de tampón de fosfato sódico potásico. Se ajustó el pH a 1,5 (HCl 8 M) y se añadieron 5 mL de solución de pepsina (P7125-100G, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA). La mezcla se incubó durante 30 min a 37 °C. Después, el pH se reajustó a 6,9 con NaOH 6 N y se añadió 1 mL de solución alfa-amilasa pancreática porcina (A3176-500U, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA). La mezcla se transfirió a las mismas membranas de

diálisis antes mencionadas. Las bolsas se colocaron en vasos de precipitados de vidrio que contenían 225 mL de tampón de fosfato sódico potásico (pH 9,6) y se incubaron durante 120 min a 37 °C. Cada 15 min, se retiraron alícuotas de 1 mL de dializado. Se realizó el mismo procedimiento con un control de glucosa. El contenido de azúcares reductores de los dializados retirados se determinó utilizando el método DNS. Para realizar los cálculos se siguió la **ecuación 5** para obtener el índice de hidrólisis, donde A representa el “área bajo la curva de respuesta glucémica (cantidad de glucosa dializada en función del tiempo)”, y la **ecuación 6**, descrita por Granfeldt et al. (2006), para el índice glucémico estimado.

$$\text{Índice de Hidrólisis (IH)} = \left(\frac{A_{\text{muestra}}}{A_{\text{control}}} * 100 \right) \quad (5)$$

$$\text{Índice glucémico estimado (IGe)} = 0,862 * IH + 8,198 \quad (6)$$

RESULTADOS:

Para tener caracterizada la muestra, se analizó el contenido de azúcares totales, proteínas, cenizas, grasa y fibra del CoZ (**Tabla 1**). Con estos resultados y la humedad del coproducto antes de liofilizar (75,8 g agua/100 g coproducto del zumo de naranja) se recalculó la composición para poder comparar las cifras con los valores del USDA correspondientes a la piel de naranja (USDA, 2019). Las proporciones de cada componente son muy similares entre sí (**Tabla 1**) pudiéndose explicar las pequeñas diferencias encontradas por la presencia de algo de pulpa de naranja en el coproducto de su zumo y también por posibles diferencias en la variedad y estado de maduración de las piezas de fruta utilizadas en cada caso.

Tabla 1. Caracterización proximal del coproducto del zumo de naranja.

| | Coproducto liofilizado (g/ 100 g CoZ) | Coproducto del zumo (g/ 100 g) | Food Data^(*) (g/ 100 g de piel de naranja) |
|------------------|---|--|---|
| <i>Humedad</i> | 3,57 ± 0,06 | 75,8 | 72,5 |
| <i>Azúcares</i> | 46,0 ± 1,17 | 11,4 | 14,4 |
| <i>Proteínas</i> | 4,38 ± 0,08 | 1,1 | 1,5 |
| <i>Cenizas</i> | 2,75 ± 0,02 | 0,7 | 0,8 |
| <i>Grasas</i> | 0,79 ± 0,05 | 0,2 | 0,2 |
| <i>Fibra</i> | 36,7 ± 0,3 | 9,1 | 10,6 |

* (USDA, 2019)

Con relación al contenido en fibra dietética, se podría declarar a CoZ como un ingrediente alimentario con un alto contenido en fibra, ya que los valores obtenidos son superiores a los establecidos por la legislación europea (6 g de

fibra por 100 g de producto) (REGLAMENTO (CE) N° 1924/2006). Del total de fibra del CoZ, $33,79 \pm 0,11$ g/ 100 g CoZ fue insoluble y $2,88 \pm 0,05$ g/ 100 g CoZ soluble. Casi todos los alimentos que contienen fibra presentan más FDI que FDS, de manera que, en general, entre 2/3 y 3/4 partes de la FDT es insoluble en agua (Robles, 2002). En el caso de CoZ, esta tendencia se mantiene, aunque la relación FDI/FDS fue bastante superior, como se puede observar en la **Figura 1**.

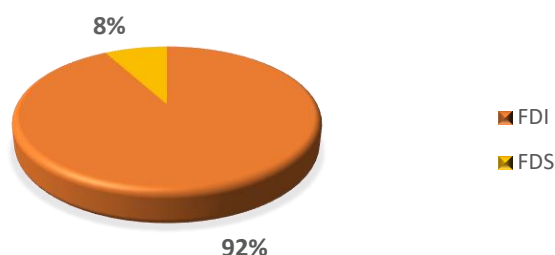


Figura 1. Porcentaje en fibra dietética insoluble (FDI) y fibra dietética soluble (FDS) del coproducto del zumo de naranja en polvo.

La FDS es capaz de reducir la glucosa en sangre mejorando la sensibilidad a la insulina y reduciendo el colesterol, mientras que la FDI ayuda a la salud intestinal promoviendo la regularidad en las deposiciones, retrasando el vaciamiento gástrico y generando un posible efecto laxante (Koç, et al., 2020). Además, esta última es capaz de unirse a carcinógenos, mutágenos y otras sustancias químicas tóxicas formadas durante la digestión de los alimentos, lo que permite su posterior eliminación a través de las heces (Prasad & Bondy, 2019)

La CRA del coproducto del zumo de naranja fue de $6,18 \pm 0,17$ g de agua/ g CoZ. Este valor es ligeramente inferior al obtenido en otro estudio de fibra de cáscara de naranja en el que presenta un valor de 8,71 g de agua /g de fibra (De Morales-Crizel, et al., 2013) o en otros estudios de polvos de cáscara de mango donde llega a una capacidad de retención de agua de 8,18 g de agua/g de sólido liofilizado (Serna-Cock, et al., 2015).

Por otro lado, la CRO de la muestra fue de $3,00 \pm 0,07$ g de aceite/g CoZ, valor muy similar al del estudio anterior de la fibra de cascara de naranja donde se alcanza un valor de 3,5 g de aceite/ g de fibra.

Ambas propiedades, además de hacerlo un polvo adecuado para poder ser agregado a una amplia variedad de productos, le confieren otras aptitudes. La CRA, debida en parte a la presencia de fibras solubles, le permite formar un retículo con el agua, el cual origina soluciones de gran viscosidad que atrapa moléculas de grasa y evita el contacto con las sales biliares y la CRO puede

generar modificaciones en el metabolismo lipídico, disminución de lipoproteínas formadoras de placas, reducción del colesterol y disminución de glucosa postprandial.

La α -amilasa y α -glucosidasa son enzimas clave en la hidrólisis de carbohidratos, responsables de romper enlaces α -1,4 de disacáridos y polisacáridos, liberando glucosa (Paul & Majumdar, 2021), de manera que su inhibición ayuda a disminuir la glucemia. La actividad de estas enzimas parece estar inversamente relacionada con la presencia de compuestos fenólicos en la muestra (Ponce, 2018). El porcentaje de inhibición de la α -amilasa y α -glucosidasa presentes en CoZ lo podemos observar en la **Tabla 2**. Los valores para la α -amilasa son superiores a los obtenidos en otro estudio de polvos de diferentes cítricos, como pomelo (30,2 %), limón (11,6 %), toronja (18,9 %), o diferentes variedades de naranja: shamouti (29,5 %), clementina (29,8 %) y naranja roja (32,3 %) (Alu'datt et al., 2017). Sin embargo, son inferiores para la α -glucosidasa que en el polvo de pomelo (53,1 %), limón (100,0 %), toronja (64,1%), naranja Clementina (56,2 %), naranja roja (40,6 %) y similar a la del polvo de naranja shamouti (30,6 %) (Alu'datt et al., 2017).

Tabla 2. Porcentajes de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa del coproducto del zumo de naranja en polvo.

| Inhibición α -amilasa (%) | Inhibición α -glucosidasa (%) |
|----------------------------------|--------------------------------------|
| 46,9 ± 0,6 | 31 ± 3 |

El coproducto del zumo de naranja liofilizado tuvo una capacidad de adsorción de glucosa de 22,5 ± 1,3 mM, valor superior al presente en otros estudios como de harina de cáscara de limetta cítrica que presenta un valor de adsorción de glucosa de 16,58 mM (Flores-Fernández et al., 2017). Esta capacidad puede atribuirse a su alto contenido en fibra, ya que la fibra es una de las diferentes fuentes capaces de adsorber glucosa.

Los alimentos con CHO digeribles, absorbidos y metabolizados rápidamente se consideran de alto IG (valores con referencia a la glucosa mayores o iguales a 70), los alimentos con IG medio son aquellos cuyos valores son mayores a 55 y menores 70, y los alimentos con CHO cuyos mecanismos fisiológicos son más lentos y de menor impacto en los niveles de glucemia e insulinemia, se consideran de bajo IG (valores de IG menores o iguales a 55). Los carbohidratos con una rápida absorción dan lugar a altos valores de IG, mientras que aquellos de lenta absorción producen respuestas glucémicas más planas y en consecuencia bajos IG (Manuzza, et al., 2018).

La curva de respuesta glucémica de la muestra respecto a la del control (glucosa), que se puede observar en la **Figura 2**, se utilizó para calcular el índice de hidrólisis, siguiendo la **ecuación 5**, necesario para la estimación del índice glucémico (**ecuación 6**).

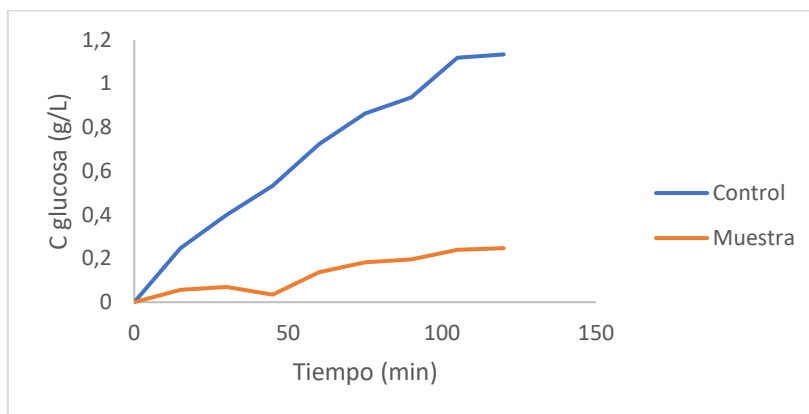


Figura 2. Curva de la respuesta glucémica del coproducto del zumo de naranja en polvo (Muestra) frente a la de glucosa (Control).

El índice glucémico estimado de nuestra muestra fue de $24,4 \pm 0,7$, el cual podemos considerar bajo teniendo en cuenta lo comentado anteriormente. Si comparamos esta cifra con la **Tabla 3**, donde encontramos valores del índice glucémico para distintos alimentos, observamos que se asemeja al de otra fruta cítrica como el pomelo (26), pero es el inferior del resto de alimentos mostrados en la tabla (Murillo, 2012). El bajo IG de CoZ indica que sus carbohidratos se absorben de forma lenta y, por tanto, su consumo puede ser una herramienta para ayudar en el control del nivel de glucosa postprandial, que resulta especialmente indicado para personas que padecen enfermedades como la diabetes mellitus tipo II o el sobrepeso.

Por último, respecto al IRDG el coproducto del zumo de naranja en polvo presentó un valor del $13,6 \pm 0,5$ %, superior al de otros cítricos como el limón (5%) (Cañas, 2011), pero por debajo al de otro estudio de polvo de subproducto de espárrago con valores que oscilan del 18-48% (Fuentes-Alventosa, et al., 2009). A pesar del alto contenido en fibra del CoZ, este bajo IRG puede justificarse por el bajo contenido en fibra soluble antes comentado (**Figura 1**). Aun así, nuestra muestra podría ser eficaz para retardar la absorción de glucosa por su alta capacidad de absorción de la misma y de inhibición de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa.

Tabla 3. Valores del índice glucémico de distintos alimentos (Murillo, 2012).

| Alimentos | Índice Glucémico |
|----------------------------|-------------------------|
| <i>Glucosa</i> | 100 |
| <i>Zanahorias cocidas</i> | 92 |
| <i>Miel</i> | 87 |
| <i>Puré de patatas</i> | 80 |
| <i>Pan blanco</i> | 69 |
| <i>Chocolate con leche</i> | 68 |
| <i>Cereales desayuno</i> | 66 |
| <i>Arroz integral</i> | 66 |
| <i>Plátano</i> | 62 |
| <i>Sacarosa</i> | 59 |
| <i>Pastel de crema</i> | 59 |
| <i>Patatas fritas</i> | 51 |
| <i>Macarrones</i> | 50 |
| <i>Uvas</i> | 45 |
| <i>Zumo de naranja</i> | 43 |
| <i>Manzana</i> | 39 |
| <i>Tomate</i> | 38 |
| <i>Helado</i> | 36 |
| <i>Yogur</i> | 36 |
| <i>Leche desnatada</i> | 32 |
| <i>Pomelo</i> | 26 |
| <i>Fructosa</i> | 20 |
| <i>Frutos secos</i> | 13 |

CONCLUSIONES:

De acuerdo con los resultados obtenidos, el coproducto del zumo de naranja en polvo es un residuo con una buena composición que podría ser utilizado como ingrediente en la industria agroalimentaria sobre todo por presentar un alto contenido en fibra insoluble, que le confiere diversas propiedades beneficiosas para la salud, produciendo mayor volumen fecal y acelerando el tiempo de tránsito intestinal. Además, su bajo índice glucémico, su capacidad de adsorción de la glucosa y su alta capacidad de inhibición especialmente de la α -amilasa, aunque también de la α -glucosidasa, le confieren una cierta capacidad para la regulación de la glucosa postprandial y, por tanto, parece adecuado proponer su uso como ingrediente alimentario especialmente indicado para personas que padezcan sobrepeso o diabetes mellitus, sobre todo del tipo II (no insulino dependientes), ya que estos pueden controlar el azúcar en sangre con una dieta adecuada.

REFERENCIAS:

- Alu'datt, M., Rababah, T., Alhamad, M., Al-Mahasneh, M., Ereifej, K., Al-Karaki, G., Ghozlan, K. (2017). Profiles of free and bound phenolics extracted from Citrus fruits and their roles in biological systems: content, and antioxidant, anti-diabetic and anti-hypertensive properties. *Food and Function*, 8, 3187-3197.
- American Diabetes Association. (2013). Recuperado el Julio de 2022 de <http://www.diabetes.org/es/>
- AOAC. (1990a). Official Method 920.39c. *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Association of Official Analytical Chemist.*
- AOAC. (1990b). Official Method 942.05/90. *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Association of Official Analytical Chemist.*
- AOAC. (1990c). Official Method 955.04/90. *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Association of Official Analytical Chemist.*
- AOAC. (2000). Official Method 934.06. *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Association of Official Analytical Chemist.*
- Arteaga, A. (2006). El Índice glicémico. Una controversia actual. *Nutrición hospitalaria*, 21(2), 55-60.
- Burgos, J. (2020). Cuantificación de azúcares reductores del sustrato en residuos de piña con el método del ácido 3,5- dinitrosalicílico. *Fundación Universidad de América*, 13(1), 58-66.
- Cañas, Z., Restrepo, D., & Cortés, M. (2011). Productos vegetales como fuente de fibra dietaria en la industria de alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía. Medellín*, 64(1), 6023-6035.
- Conselleria de Hacienda y Modelo Económico. (s.f.). *Generalitat Valenciana*. Recuperado el Agosto de 2022, de Economía Circular: <https://hisenda.gva.es/es/web/modelo-economico/economia-circular#:~:text=La%20economía%20circular%20es%20un,mínimo%20la%20generación%20de%20residuos>
- De Morales-Crizel, T., Jablonski, A., De Oliveira, A., Rech, R., & Hickmann Flôres, S. (2013). Dietary fiber from orange byproducts as a potential fat replacer. *LWT - Food Science and Technology*, 53, 9-14.
- Díaz-Osorio, A., Martínez-Castaño, M., Contreras-Calderon, J., & Gallardo_Cabrera, C. (2019). Índice glucémico in vitro, contenido fenolico y actividad antioxidante de snacks elaborados con harina de platano

- (Musa paradisiaca) y Yacón (*Smallantus sonchifolius*). *Información Tecnológica*, 30(5), 111-120.
- FAO. (2020). El estado de los mercados de productos básicos agrícolas. FAO, 1-180. Obtenido de <https://www.fao.org/publications/soco/2022/es/>
- FAO. (2021). Situación de los mercados de productos básicos y perspectivas a corto plazo 2018-2020. FAO, 1-10. Obtenido de <http://www.fao.org/3/ne788es/ne788es.pdf>
- Figuerola, F., Hurtado, M., Estévez, A., Chiffelle, I., & Asenjo, F. (2005). Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. *Food Chemistry*, 91, 395-401.
- Flores-Fernández, J., Barragán-Álvarez, C., Díaz-Martínez, N., Villanueva-Rodríguez, S., & Padilla-Camberos, E. (2017). In vitro and in vivo postprandial glycemic activity of citrus limetta peel flour. *Pharmacognosy Magazine*, 13(52), 613-616.
- Fuentes-Alventosa, J., Rodríguez-Gutiérrez, G., Jaramillo-Carmona, S., Espejo-Calvo, J., Rodríguez-Arcos, R., Fernández-Bolaños, J., Jiménez-Araujo, A. (2009). Effect of extraction method on chemical composition and functional characteristics of high dietary fiber-powders obtained from asparagus by-products. *Food Chemistry*, 113(2), 665-671.
- Granfeldt, Y., Wu, X., & Bjorck, I. (2006). Determination of glycaemic index; some methodological aspects related to the analysis of carbohydrate load and characteristics of the previous evening meal. *European Journal of Nutrition*, 60(1), 104-112.
- Johansson, C., Hallmer, H., & Siljeström, M. (1983). Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31, 476-482.
- Koç, F., Mills, S., Strain, C., Ross, R., & Stanton, C. (2020). The public health rationale and increasing dietary fiber: Health benefits with a focus on gut microbiota. *Nutrition Bulletin*, 45, 294-308.
- Loachamín, B. (2015). Estimación del índice glucémico en productos sin gluten elaborados con pseudocereales. TFG, *Facultad de Ciencias de la Salud y del Deporte (Universidad de Zaragoza)*.
- Maluenda, M. (2021). Record mundial en el sector de cítricos. Campaña 2018/2019. Recuperado el Julio de 2022, de <https://www.agrodigital.com/wp-content/uploads/2021/07/citricos.pdf> .
- Manuzza, M., Brito, G., Echegaray, N., & López, L. (2018). Índice glucémico y carga glucémica: su valor en el tratamiento y la prevención de las enfermedades crónicas no transmisibles. *Diaeta*, 36(162), 29-38.

- Mccue, P., Kwon, Y., & Shetty, K. (2005). Anti-amylase, anti-glucosidase and anti-angiotensin converting enzyme potencial of selected foods. *Food Biochemistry*, 29, 278-294.
- Murillo, S. (2012). El índice glucémico de los alimentos. Recuperado el Agosto de 2022, de Fundación para la Diabetes novo nordisk <https://www.fundaciondiabetes.org/general/articulo/47/el-indice-glucemico-de-los-alimentos>
- Neuhouser, M., Tinker, L., Thomson, C., Caan, B., Van Horn, L., Snetselaar, L., Shikany, J. (2006). Development of a glycemic index database for food Frequency questionnaires used in epidemiologic studies. *Journal of Nutrition*, 136(6), 1604-1609.
- Paul, S., & Majumdar, M. (2021). In-vitro antidiabetic propensities, phytochemical analysis, and mechanism of action of commercial antidiabetic polyherbal formulation "Mehon". *Proceedings*, 79(7).
- Ponce, J., Rodriguez Vigay, N., & Juárez, R. (2018). Inhibición de la α -amilasa por medio de extractos de plantas medicinales como tratamiento complementario/alternativo de la diabetes y la caries. *Revista de la Sociedad Odontológica de La Plata*, 28(55), 41-45.
- Prasad, K., & Bondy, S. (2019). Dietary fibers and their fermented short-chain fatty acids in prevention of human diseases. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 17, 1-11.
- Robles, S. (2002). ¿Qué es la fibra dietética? Recuperado el Agosto de 2022, de <https://repositorio.ins.gob.pe/handle/INS/834>
- Sánchez, R., Martín, M., Palma, S., López, B., Bermejo, L., & Gómez, C. (2015). Indicaciones de diferentes tipos de fibra en distintas patologías. *Nutrición Hospitalaria*, 31(6), 321-3357.
- Serna-Cock, L., Torres-León, C., & Ayala-Aponte, A. (2015). Evaluación de polvos alimentarios obtenidos de cáscaras de Mango (*Mangifera indica*) como fuente de ingredientes funcionales. *Información tecnológica*, 26(2), 41-50.
- USDA. (2019). *U.S. Department of Agriculture*. Recuperado el Septiembre de 2022, de <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/169103/nutrients>
- Ustero, I. (2021). Diferencia composicional de los coproductos del zumo y el puré de naranja. *TFG, Escuela técnica superior de ingeniería agronómica y del medio natural (UPV)*.

Vilcanqui-Perez, F., & Vilches-Perales, C. (2017). Fibra dietaria: nuevas definiciones, propiedades funcionales y beneficios para la salud. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 67(2), 146-156.