



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 DE BAGAZOS MICRONIZADOS DE  
MANDARINA Y MANZANA PARA SU USO COMO  
ESTRUCTURANTES EN EMULSIONES

Trabajo Fin de Grado

Grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

AUTOR/A: Mora Mortes, Vega

Tutor/a: Quiles Chuliá, María Desamparados

Cotutor/a: Hernando Hernando, María Isabel

Director/a Experimental: LOPEZ GARCIA, ADRIAN

CURSO ACADÉMICO: 2022/2023

**Título:** Caracterización de bagazos micronizados de manzana y mandarina para su uso como estructurantes en emulsiones.

**Resumen:**

Los bagazos procedentes de la extracción del zumo de manzana y mandarina son subproductos de la industria hortofrutícola que cuando no se gestionan de forma adecuada se convierten en residuos. Ambos subproductos contienen una cantidad significativa de compuestos bioactivos con importantes propiedades antioxidantes, como polifenoles y carotenoides y, además, son fuente de hidrocoloides, como celulosa y pectina. Esta composición, hace que sea interesante investigar vías de revalorización de estos subproductos para poder introducirlos de nuevo en la cadena alimentaria. En este sentido, una vía sería el uso de estos subproductos en la formulación de emulsiones. Además de aportar un efecto beneficioso para la salud, la presencia de estos subproductos podría favorecer la estabilidad de emulsiones, al actuar los hidrocoloides del bagazo como estructurantes del aceite de la emulsión.

El objetivo de este trabajo es estudiar si los bagazos micronizados procedentes de subproductos de la obtención de zumo de manzana y de mandarina tienen capacidad emulgente/estabilizante del aceite y, por lo tanto, pueden ser empleados como agentes estructurantes para el desarrollo de emulsiones estables. Para ello, se determina en los bagazos el contenido en compuestos bioactivos (compuestos fenólicos, actividad antioxidante y carotenoides) y algunas propiedades tecno-funcionales (capacidad de retención de agua y de aceite). Posteriormente, se evalúa su potencial como estabilizante mediante la formulación de emulsiones a distintos pHs, en las cuales se analizan propiedades como la capacidad emulsionante, la estabilidad de la emulsión y la microestructura.

En general, el bagazo de mandarina presentó mayor contenido en compuestos bioactivos y mejores propiedades tecno-funcionales generando emulsiones más estables en el tiempo y mejor estructuradas que el de manzana. Cuando se acidificó la fase acuosa, que contiene el bagazo, las propiedades estabilizantes mejoraron en ambos bagazos.

**Palabras clave:** subproductos, aprovechamiento, biopolímeros, estructura, aceites vegetales, compuestos bioactivos, antioxidantes, propiedades tecno-funcionales.

**Title:** Characterization of micronized apple pomace and mandarin bagasse for use as structuring agents in emulsions.

**Abstract:**

Bagasse from apple and mandarin juice extraction are by-products of the fruit and vegetable industry that, when not properly managed, become waste. Both by-products contain a significant amount of bioactive compounds with important antioxidant properties, such as polyphenols and carotenoids, and are also a source of hydrocolloids, such as cellulose and pectin. Due to their composition, it is interesting to conduct scientific research on ways of revalorizing these by-products in order to reintroduce them back into the food chain. In this regard, it would be interesting to study the use of these by-products in the formulation of emulsions. In addition to providing a beneficial effect on health, the presence of these by-products could favor the stability of emulsions, as the bagasse hydrocolloids act as structuring agents of the emulsion oil.

The aim of this work is to study whether micronized bagasse from apple and mandarin juice production have oil emulsifier and stabilizer capacity and, therefore, can be used as structuring agents for the development of stable emulsions. For this purpose, the content of bioactive compounds (phenolic compounds, antioxidant activity and carotenoids) and some techno-functional properties (water and oil-holding capacities) are determined in the bagasse. Subsequently, their potential as stabilizers is evaluated through the formulation of emulsions at different pHs, in which parameters such as emulsifying capacity, stability and microstructure are analyzed.

In general, the mandarin bagasse presented greater content in bioactive compounds and better techno-functional properties, generating emulsions that were more stable in time and better structured than the apple bagasse emulsions. When the aqueous phase was acidified, which contains the bagasse, the stabilizing properties improved in both bagasses.

**Keywords:** by-products utilization, biopolymers, structure, vegetable oils, bioactive compounds, antioxidants, techno-functional properties.

**Títol:** Caracterització de bagàs micronitzats de poma i mandarina per al seu ús com a estructurants en emulsions.

**Resum:**

Els bagassos procedents de l'extracció del suc de poma i mandarina són subproductes de la indústria hortofructícola que quan no es gestionen de manera adequada es converteixen en residus. Tots dos subproductes contenen una quantitat significativa de compostos bioactius amb importants propietats antioxidants, com polifenols i carotenoides i, a més, són font d'hidrocoloides, com a cel·lulosa i pectina. Aquesta composició fa que siga interessant investigar vies de revaloració d'aquests subproductes per poder tornar a introduir-los a la cadena alimentària. En aquest sentit, una via seria fer servir aquests subproductes en la formulació d'emulsions. A més d'aportar un efecte beneficiós per a la salut, la presència d'aquests subproductes podria afavorir l'estabilitat d'emulsions en actuar els hidrocol·loides del bagàs com a estructurants de l'oli de l'emulsió.

L'objectiu d'aquest treball és estudiar si els bagassos micronitzats procedents de subproductes de l'obtenció de suc de poma i de mandarina tenen capacitat emulgent/estabilitzant de l'oli i, per tant, poden ser emprats com a agents estructurants per al desenvolupament d'emulsions estables. Per això, es determina en els bagassos el contingut en compostos bioactius (compostos fenòlics, activitat antioxidant i carotenoides) i algunes propietats tecnofuncionals (capacitat de retenció d'aigua i d'oli). Posteriorment, se'avalua el potencial com a estabilitzant mitjançant la formulació d'emulsions a diferents pHs, en les quals s'analitzen propietats com la capacitat emulsionant, l'estabilitat de l'emulsió i la microestructura.

En general, el bagàs de mandarina va presentar més contingut en compostos bioactius i millors propietats tecnofuncionals generant emulsions més estables en el temps i millor estructurades que el de poma. Quan es va acidificar la fase aquosa, que conté el bagàs, les propietats estabilitzants van millorar en els dos bagassos.

**Paraules clau:** subproductes, aprofitament, biopolímers, estructura, olis vegetals, compostos bioactius, antioxidants, propietats tecno-funcionals.

Autor/a: Mora Mortes, Vega

Tutor/a: Quiles Chuliá, María Desamparados

Cotutor/a: Hernando Hernando, María Isabel

Director/a Experimental: López García, Adrián

Valencia, febrero de 2023

## AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer en unas líneas a todas las personas que han hecho posible la realización de este trabajo con su apoyo y ayuda.

Gracias a mis tutoras, Amparo Quiles e Isabel Hernando, por haberme dado la oportunidad de trabajar en este proyecto y por toda la ayuda. A Adrián, director experimental, por haberme guiado y aconsejado cuando las cosas no salían como esperábamos.

A mis compañeras de clase, por haber llenado estos cuatro años de recuerdos inolvidables. A África y Guillem, que han estado a mi lado en los mejores y peores momentos. A mis chicas de Holanda, por haberme ayudado tantas veces, aunque sea a miles de kilómetros de distancia.

A mi familia, por haberme dado la gran oportunidad de estudiar y apoyarme incondicionalmente durante todo el camino. A Javi, por creer en mí siempre.

# ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Subproductos hortofrutícolas en la industria alimentaria .....	1
1.2. Bagazo de manzana .....	3
1.2.1. Composición .....	3
1.2.2. Impacto en la salud .....	4
1.2.3. Aplicaciones .....	4
1.3. Bagazo de mandarina.....	5
1.3.1. Composición .....	5
1.3.2. Impacto en la salud .....	6
1.3.3. Aplicaciones .....	6
1.4. Micronización.....	7
<b>2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO</b> .....	<b>9</b>
2.1. Objetivo general .....	9
2.2. Objetivos específicos .....	9
2.3. Plan de trabajo .....	9
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	<b>11</b>
3.1. Materia prima .....	11
3.2. Elaboración de las emulsiones.....	11
3.3. Caracterización de los bagazos .....	12
3.3.1. Determinación del contenido en fenoles totales (CFT).....	12
3.3.2. Determinación de la actividad antioxidante por el método FRAP .....	12
3.3.3. Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH.....	13
3.3.4. Determinación del contenido en carotenoides totales (CCT).....	13
3.3.5. Determinación de la capacidad de retención de agua y de aceite .....	14
3.4. Caracterización de las emulsiones elaboradas con los bagazos. Estudios de estabilidad .....	14
3.4.1. Determinación del índice de la actividad emulsionante (IAE).....	14
3.4.2. Estabilidad cinética .....	14
3.4.3. Microestructura.....	15
3.5. Análisis estadístico .....	15
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>16</b>
4.1. Caracterización de los bagazos .....	16
4.1.1. Determinación del contenido en fenoles totales (CFT).....	16
4.1.2. Determinación de la actividad antioxidante mediante los métodos FRAP y DPPH ....	16
4.1.3. Determinación del contenido en carotenoides totales (CCT).....	17
4.1.4. Capacidad de retención de agua y de aceite .....	18
4.1.5. Microestructura.....	18
4.2. Caracterización de las emulsiones elaboradas con los bagazos. Estudios de estabilidad .....	19
4.2.1. Índice de la actividad emulsionante (IAE).....	19
4.2.2. Estabilidad cinética .....	21
4.2.3. Microestructura.....	24
<b>5. CONCLUSIONES</b> .....	<b>27</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>28</b>
<b>7. ANEXOS</b> .....	<b>33</b>
ANEXO I: Porcentaje de inhibición (%AA) de BA y BM .....	33



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Diagrama de flujo del procesado de manzanas (Dhillon et al., 2013).....	2
<b>Figura 2:</b> Diagrama de flujo del procesado de mandarinas (Mahato et al., 2019). .....	2
<b>Figura 3:</b> Porcentaje de inhibición (%AA) de los bagazos de manzana (BA) y mandarina (BM) según la concentración (mg/mL).....	17
<b>Figura 4:</b> CRA (g H <sub>2</sub> O/g muestra) y CRO (g aceite/g muestra) para BA y BM. ....	18
<b>Figura 5:</b> Imágenes Cryo-FESEM de los bagazos de manzana (A, B) y mandarina (C, D), con aumentos de 250x (A, C) y 1000x (B, D), para cada una de las muestras. ....	19
<b>Figura 6:</b> Índice de actividad emulsionante (IAE) de las emulsiones de bagazo de manzana a pH nativo (EA) y pH 3 (EAa), mandarina a pH nativo (EM) y pH 3 (EMa). ....	20
<b>Figura 7:</b> Índice de floculación (%) de las emulsiones elaboradas con bagazo de manzana a pH nativo (EA), manzana a pH 3 (EAa), mandarina a pH nativo (EM) y mandarina a pH 3(EMa) a distintos tiempos (0, 10, 20, 30, 60, 90, 120, 150 y 180 min). ....	21
<b>Figura 8:</b> Emulsiones con bagazo de manzana, siendo A) pH nativo, tiempo 0, B) pH nativo, tiempo 180, C) pH 3, tiempo 0 y D) pH 3, tiempo 180.....	23
<b>Figura 9:</b> Emulsiones de bagazo de mandarina, siendo A) pH nativo, tiempo 0, B) pH nativo, tiempo 180, C) pH 3, tiempo 0 y D) pH 3, tiempo 180.....	24
<b>Figura 10:</b> Imagen de microscopía óptica de campo claro de las emulsiones con bagazo de manzana (EA) (A), bagazo de manzana a pH ácido (EAa) (B), bagazo de mandarina (EM) (C) y bagazo de mandarina a pH ácido (EMa) (D).....	25
<b>Figura 11:</b> Tamaño promedio del diámetro (µm) de los glóbulos de grasa de las emulsiones con bagazo de manzana a pH nativo (EA), manzana a pH 3 (EAa), mandarina a pH nativo (EM) y mandarina a pH 3(EMa). ....	25
<b>Figura 12:</b> Porcentaje de inhibición (%AA) del bagazo de manzana (BA) según las concentraciones empleadas en los ensayos (mg/mL).....	33
<b>Figura 13:</b> Porcentaje de inhibición (%AA) del bagazo de mandarina (BM) según las concentraciones empleadas en los ensayos (mg/mL).....	33

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Composición nutricional (%) del bagazo de manzana (BA).....	3
<b>Tabla 2:</b> Composición nutricional (%) del bagazo de mandarina (BM). .....	5
<b>Tabla 3:</b> Composición (%) y análisis del tamaño de las partículas de los bagazos (BA y BM) facilitada por el proveedor.....	11
<b>Tabla 4:</b> Resultados para los ensayos de CFT (mg GAE/g), FRAP ( $\mu\text{molTrolox/g}$ ), DPPH ( $\mu\text{molTrolox/g}$ ) y CCT (mg $\beta$ -caroteno/100g) realizados en los bagazos de manzana (BA) y mandarina (BM). .....	16

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Subproductos hortofrutícolas en la industria alimentaria

El sector hortofrutícola genera gran cantidad de subproductos como consecuencia de la transformación de frutas y verduras para obtener productos derivados, como los zumos. Las manzanas y mandarinas son cultivos importantes a nivel mundial, con 86M y 39M de toneladas producidas, respectivamente, de forma anual (FAO, 2020). China es el mayor productor mundial de manzanas y destina cerca del 30% del cultivo anual para la elaboración de zumo. Este proceso genera cerca de 1M de toneladas de residuo al año (Wang et al., 2010). Del mismo modo, la industria de elaboración de zumo a partir de cítricos produce elevadas cantidades de residuos, cerca de 20M de toneladas a nivel mundial, ya que tan solo se aprovecha un 50% de la fruta. España es el mayor exportador de cítricos (FAO, 2021), siendo en la Comunidad Valenciana donde se cultiva la mitad de la producción nacional. La mandarina es el cultivo predominante en esta región, representando el 60% de la producción total (MAPA, 2021). El proceso de elaboración de zumos derivados de la fruta genera un subproducto, llamado bagazo, que supone el 25-30% del peso de la fruta fresca (Figura 1 y Figura 2). Este residuo sólido, descartado como desecho, está constituido por piel, pulpa y una pequeña proporción de semillas y tallo (Chandrasekar et al., 2015). Una mala gestión de este subproducto puede tener un impacto negativo en la sociedad, tanto a nivel ambiental como económico (Ishangulyyev et al., 2019).

La forma más común de gestionar los residuos generados en el sector hortofrutícola, durante años, ha consistido en depositarlos en vertederos. Esta gestión ha provocado un efecto negativo en el medioambiente, concretamente, ha sido la responsable de un 8% de las emisiones de gases de efecto invernadero a la atmósfera. Esto ha hecho que la gestión de estos residuos se quiera enfocar hacia soluciones más viables para el planeta (Hussain et al., 2020). En este sentido, la investigación ha puesto de manifiesto lo importante que puede ser la revalorización de estos subproductos, ya que, contienen compuestos bioactivos con importantes propiedades antioxidantes y macromoléculas capaces de aportar propiedades funcionales. Por esta razón, el acondicionamiento de estos subproductos para su uso en la formulación de alimentos podría permitir mejorar las propiedades nutricionales y funcionales de los alimentos.

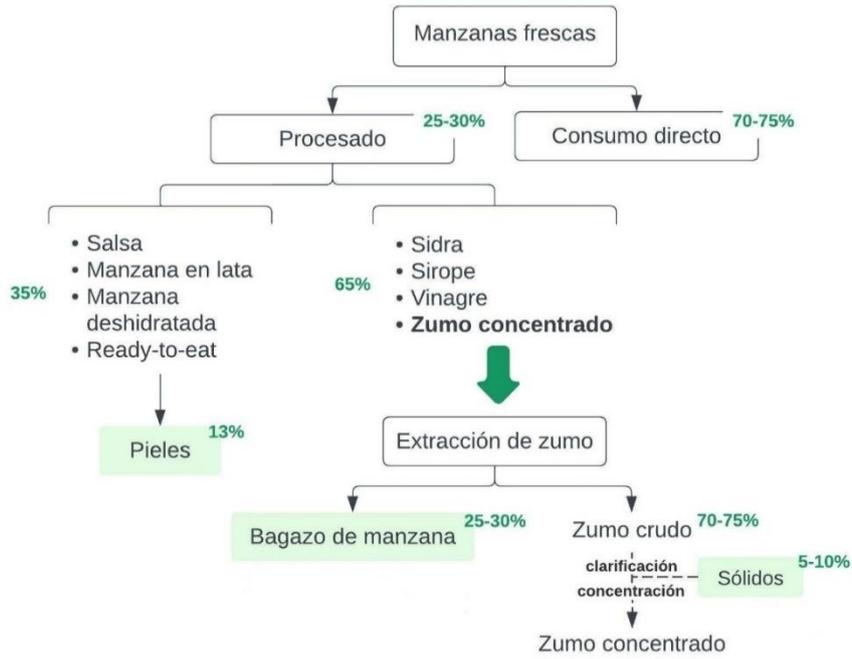


Figura 1: Diagrama de flujo del procesamiento de manzanas (Dhillon et al., 2013).

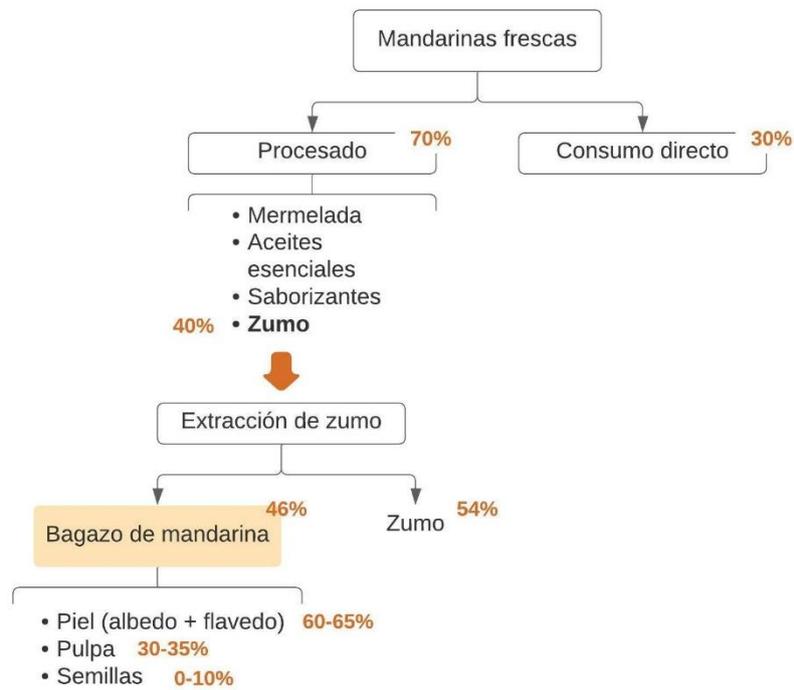


Figura 2: Diagrama de flujo del procesamiento de mandarinas (Mahato et al., 2019).

## 1.2. Bagazo de manzana

### 1.2.1. Composición

El bagazo de manzana es rico en hidratos de carbono y fibra dietética, y también contiene, aunque en menor cantidad, proteínas y lípidos. En la Tabla 1 se presentan los principales componentes del bagazo de manzana (Bhushan et al., 2008; O'Shea et al., 2015). En cuanto a la fibra dietética, predomina la fracción insoluble, formada principalmente por celulosa, hemicelulosas y lignina, aunque, también tiene un elevado contenido en fibra soluble (gomas y pectina soluble). La pectina, mayoritariamente presente en la piel de las frutas, es un polisacárido con múltiples aplicaciones en formulaciones de alimentos, como las emulsiones, debido a su alta capacidad de retención de agua y formación de geles, siendo empleada como gelificante, espesante y texturizante, principalmente (O'Shea et al., 2015).

*Tabla 1: Composición nutricional (%) del bagazo de manzana.*

Composición (%)	
Humedad	9,00 ± 0,33 <sup>a</sup>
Hidratos de carbono	84,76 ± 0,56 <sup>a</sup>
Proteína	2,37 ± 0,12 <sup>a</sup>
Lípidos	2,27 ± 0,23 <sup>a</sup>
Cenizas	1,60 ± 0,02 <sup>a</sup>
Fibra dietética	25,43 ± 0,80 <sup>b</sup>
Insoluble	17,59 ± 0,40 <sup>b</sup>
Soluble	7,84 ± 0,50 <sup>b</sup>
Pectina	7,36 ± 0,07 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> (O'Shea et al., 2015) <sup>b</sup> (Bhushan et al., 2008)

Resultados expresados en media ± desviación típica

### *Compuestos bioactivos*

El bagazo de manzana es una gran fuente de polifenoles con alta actividad antioxidante, destacando los glucósidos de quercetina, la phloridzina, la phloretina, la epicatequina y el ácido clorogénico, entre otros (Popescu et al., 2022). Su distribución en la fruta, sin embargo, no es homogénea, ya que la piel presenta una mayor concentración de polifenoles que la pulpa, y, por tanto, su contenido es muy elevado en el subproducto (Nkuimi Wandjou et al., 2020). Además, el contenido en polifenoles se ve influenciado por parámetros como el método de extracción, la variedad de cultivo y el procesado de la fruta (Napolitano et al., 2004). El bagazo de manzana también contiene otras biomoléculas con propiedades antioxidantes, como los carotenoides.

### **1.2.2. Impacto en la salud**

Entre los beneficios para la salud que puede suponer el consumo de bagazo de manzana, destaca una mejora en la salud gastrointestinal y en el nivel de antioxidantes del organismo. El alto contenido en fibra en forma de pectina mejora la funcionalidad microbiana intestinal y la sensibilidad a la insulina y reduce los niveles de colesterol en el plasma (Rago et al., 2015). En cuanto a la mejora del estado antioxidante del organismo, es debida al alto contenido en polifenoles (mayoritariamente, flavonoides) (Juśkiewicz et al., 2012).

### **1.2.3. Aplicaciones**

Tradicionalmente, el bagazo de manzana se ha destinado a alimentación animal, sin embargo, su reducido contenido en proteína hace de este subproducto una fuente insuficiente de nutrientes (Vendruscolo et al., 2008). Debido a su alto contenido en azúcares fermentables, también se ha empleado, en los últimos años, como materia prima para la obtención de biocombustibles. Su aplicación en esta industria ha supuesto, además, una iniciativa para reducir el consumo de los tradicionales combustibles fósiles, y con ello, las emisiones de carbono a la atmósfera. Destaca su papel en la generación de bioetanol, biogás y carbón vegetal (Kosakowski et al., 2020; Molinuevo-Salces et al., 2020).

En los últimos años, la aplicación del bagazo de manzana como ingrediente en formulaciones de alimentos ha ido aumentando, debido principalmente a su capacidad para estabilizar emulsiones, propiedad que le confieren los biopolímeros que contiene. Al añadir bagazo de manzana a una emulsión O/W, elementos solubles como la pectina actúan interaccionando con el solvente en la fase continua, aumentando la viscosidad. Algunas proteínas residuales, además, se adsorben a la interfase, aumentando la hidrofobicidad, contribuyendo a que la tensión superficial entre las gotas de aceite y el agua se reduzca y por ello, aumentando la estabilidad de la emulsión (Kalla-Bertholdt et al., 2021).

Este fenómeno se ha observado en productos cárnicos, en los cuales el bagazo de manzana demuestra mejorar su estabilidad y propiedades reológicas, debido a la gran capacidad de retención de agua de la pectina, resultando en una textura menos dura y un mayor rendimiento tras la cocción (Huda et al., 2014). Resultados similares han sido obtenidos tras la adición de bagazo de manzana en lácteos, como el yogur, en el cual favorece la textura y aporta firmeza debido al aumento de la viscosidad del sistema, protegiendo al gel de la sinéresis (Wang et al., 2019).

Si bien es cierto que se requiere de más investigación acerca del mecanismo de acción y la funcionalidad del bagazo de manzana en alimentos, existen indicios que indican que podría actuar como estructurante en la formulación de emulsiones.

### 1.3. Bagazo de mandarina

#### 1.3.1. Composición

Como muestra la Tabla 2, el bagazo de mandarina presenta un elevado contenido en hidratos de carbono y fibra dietética, constituyente muy abundante en la piel de las frutas. Igual que en el bagazo de manzana, la fracción de fibra insoluble predomina sobre la soluble. Cabe destacar que el contenido en pectina y proteínas del bagazo de mandarina es mayor que en el bagazo de manzana. Las proteínas tienden a asociarse con polisacáridos de la pared celular como celulosa o pectina, formando complejos que contribuyen a aumentar la solubilidad en agua (Huang et al., 2020).

*Tabla 2: Composición nutricional (%) del bagazo de mandarina.*

Composición (%)	
Humedad	6,81 ± 0,11
Hidratos de carbono	79,1 ± 0,11
Proteína	8,05 ± 0,18
Lípidos	3,73 ± 0,11
Cenizas	2,31 ± 0,09
Fibra dietética	37,82 ± 0,33
Insoluble	28,57 ± 0,41
Soluble	9,23 ± 0,23
Pectina	16,69 ± 0,58

<sup>a</sup>(Saikia & Mahanta, 2016) <sup>b</sup>(O'Shea et al., 2015)

Resultados expresados en media ± desviación típica

#### *Compuestos bioactivos*

Los cítricos son una fuente natural de polifenoles (flavonoides y ácidos fenólicos) cuyo contenido predomina en la piel, seguido de la pulpa, y en menor cantidad en el zumo (Aschoff et al., 2015). Los flavonoides son el grupo mayoritario de polifenoles, muy abundantes en la mandarina. En las pieles predominan la tangeretina y nobiletina, mientras que en la pulpa se encuentran mayoritariamente la hesperidina, narirutina y eriocitrina. En algunas variedades, cantidades residuales o inexistentes de naringina y neohesperidina han sido encontradas, mientras que estas abundan en otros cítricos, como el pomelo, siendo responsables del sabor amargo (Chen et al., 2020). Resultados de numerosos estudios indican que existe una gran variabilidad en el perfil de flavonoides entre especies de cítricos, o incluso entre variedades y cultivos dentro de una misma especie, como es el caso de la mandarina (de Ancos et al., 2017).

Además de los compuestos fenólicos, cabe destacar el papel de los carotenoides, antioxidantes que actúan como pigmentos naturales, y a los que se le atribuyen propiedades provitamínicas. De

entre todos los cítricos, la mandarina se caracteriza por presentar un elevado contenido en carotenoides (Wang et al., 2008). En general, la capacidad antioxidante de la mandarina es muy elevada y está directamente relacionada con el contenido en carotenoides, compuestos fenólicos y vitamina C (Barros et al., 2012). Tal es este poder antioxidante, que ha sido comparado con el ejercido por antioxidantes sintéticos como el butilhidroxianisol (BHA), demostrando una mayor eficiencia capturando radicales libres, y, por tanto, una aplicación prometedora como aditivo en productos con alto contenido en grasas (Tumbas et al., 2010).

### **1.3.2. Impacto en la salud**

En adición a los numerosos beneficios que supone el consumo de cítricos, principalmente por su elevado contenido en vitaminas y antioxidantes, cabe destacar el importante papel de los flavonoides. A estos compuestos se les atribuye mejorar la salud cardiovascular, reducir la hiperlipidemia y el estrés oxidativo, y, por tanto, el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares (Mahmoud et al., 2019), inhibir la carcinogénesis, pudiendo considerarse protectores contra el cáncer, y presentar propiedades neuroprotectoras, debido a su actividad antioxidante y antiinflamatoria, entre otros beneficios (Yi et al., 2017).

### **1.3.3. Aplicaciones**

Los cítricos son una de las principales fuentes para la obtención de pectina a nivel industrial, debido a su alto contenido en este polisacárido. Otros compuestos generalmente extraídos de estas frutas son el ácido cítrico (entre otros ácidos orgánicos), pigmentos como los carotenoides y la vitamina C (Mahato et al., 2019). Las pieles también se emplean para la extracción de aceites esenciales y, además, en los últimos años, como fuente de biomasa, para producir etanol y biogás (Choi et al., 2013).

Numerosos estudios evidencian las ventajas tecnológicas que presenta la incorporación del bagazo de cítricos en alimentos, además de los beneficios aportados por su elevado contenido en antioxidantes. Concretamente, su papel como estabilizantes de emulsiones ha sido objeto de estudio en los últimos años. El mecanismo de acción está relacionado con la unión de polisacáridos solubles, como la pectina, con proteínas nativas presentes en estos bagazos. Los conjugados proteína-polisacáridos formados se adsorben en la interfase agua-aceite, reduciendo la tensión superficial, y por otro lado aumentan la viscosidad de la emulsión. Además, parece que sustancias insolubles como la celulosa, también asociadas a proteínas, actúan como barrera física para proteger a las gotas de aceite de la floculación y aumentar la estabilidad de la emulsión en el tiempo (Huang et al., 2020).

Dada la elevada capacidad de retención de agua y de aceite de los bagazos de cítricos, los productos en los que se adicionan presentan características reológicas mejoradas, manteniendo las propiedades organolépticas de los productos originales. Algunos ejemplos de aplicación son los helados reducidos en grasa hasta un 70% y con una textura mejorada (de Moraes Crizel et al., 2013), o productos de panadería con un elevado contenido en fibra y bajo en grasa (Caggia et al., 2020); indicando que son una buena alternativa como sustitutos de grasas plásticas normalmente empleadas en este tipo de productos.

#### **1.4. Micronización**

Si bien los bagazos de manzana y cítricos son empleados para la extracción de compuestos que son usados en las formulaciones de productos cosméticos, de limpieza, fármacos, alimentos, etc., todavía una cantidad elevada de estos subproductos son desechados, lo que constituye un problema de gestión de residuos para las empresas y el medioambiente. La investigación para conseguir un mejor aprovechamiento de estos subproductos es importante para la sociedad. La mejora de las propiedades tecno-funcionales de estos bagazos podría ser una vía capaz de ampliar el uso de estos subproductos y por lo tanto de su aprovechamiento.

Para revalorizar los bagazos de manzana y mandarina como ingredientes funcionales, en general, antes de ser incorporados a formulaciones alimentarias se deben de someter a un tratamiento mínimo de procesado o acondicionamiento. Además de una etapa de deshidratación para reducir su contenido en humedad y aumentar su vida útil, someter el bagazo a un tratamiento que permita reducir el tamaño de partícula podría mejorar sus propiedades como estructurantes de emulsiones.

El bagazo presenta una estructura cristalina altamente ordenada de celulosa, difícil de romperse. Cuando se aplican fuerzas de cizallamiento, estos cristales se destruyen y sus grupos hidrofílicos son expuestos. Las interacciones intermoleculares en la fibra dietética cambian su distribución, causando que parte de la fibra insoluble (celulosa, hemicelulosas y lignina) se transforme en fibra soluble, la cual presenta una mayor capacidad de unión a las moléculas de agua. Otro efecto observado es un aumento en la capacidad antioxidante en el bagazo, debido a la disrupción de la lignina, macromolécula con una estructura de anillo aromático, que causa la liberación de compuestos fenólicos de bajo peso molecular (Bender et al., 2020).

Las partículas de menor tamaño demuestran atrapar una mayor cantidad de moléculas de agua y aceite, aumentando la capacidad de retención de agua y de aceite, y con ello contribuyendo a una emulsión con una mayor viscoelasticidad, mejorando así las propiedades emulsificantes de los bagazos. La estabilidad de la emulsión también se ve aumentada al reducir el tamaño de las partículas, debido a que una mayor cantidad de partículas pequeñas se une a las gotas de aceite

en la interfase, inhibiendo su movimiento y aumentando la resistencia de la emulsión a fenómenos de desestabilización, como la floculación, viéndose aumentada su vida útil (Lu et al., 2020).

## **2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO**

### **2.1. Objetivo general**

El objetivo general de este trabajo consistió en evaluar el contenido en compuestos bioactivos y las propiedades antioxidantes y tecno-funcionales de bagazos micronizados de manzana y mandarina para establecer su uso como estructurantes de emulsiones O/W capaces de sustituir a las grasas plásticas empleadas de forma generalizada en la formulación de los alimentos.

### **2.2. Objetivos específicos**

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

1. Caracterizar el contenido en compuestos bioactivos (compuestos fenólicos y carotenoides), las propiedades antioxidantes y tecno-funcionales (capacidad de retención de aceite, capacidad de retención de agua, índice de actividad emulsionante) y la estructura de los bagazos micronizados de manzana y mandarina.
2. Desarrollar emulsiones del tipo O/W empleando aceite de girasol y los bagazos micronizados de manzana y mandarina a partir de fases acuosas a dos pHs diferentes, nativo (pH 3,9 para manzana y 4,9 para mandarina) y ácido (pH 3).
3. Caracterizar y evaluar la estabilidad y la estructura 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:

1. Revisión de estudios previos sobre la revalorización de subproductos procedentes del procesado de manzanas y cítricos y su uso en formulación de emulsiones alimentarias
2. Determinación del contenido en compuestos fenólicos y carotenoides totales en los bagazos de manzana y mandarina.
3. Evaluación de la capacidad antioxidante mediante los métodos de FRAP Y DPPH en los bagazos de manzana y mandarina.
4. Evaluación de las propiedades tecno-funcionales, retención de agua y capacidad de retención de aceite, en los bagazos de manzana y mandarina.
5. Caracterización de la microestructura de los bagazos.

6. Desarrollo y elaboración de emulsiones O/W de aceite de girasol empleando como agentes estructurantes bagazo de manzana y mandarina y fases acuosas a dos pHs diferentes, nativo (pH 3,9 para manzana y 4,9 para mandarina) y ácido (pH 3).
7. Determinación del índice de actividad emulsionante, estabilidad cinética y microestructura de las emulsiones.
8. Análisis y discusión de los resultados obtenidos.

### 3. MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.1. Materia prima

Para este trabajo, se emplearon dos bagazos micronizados, de manzana (BA) y mandarina (BM), facilitados por *EgoVita Sp. z.o.o.*, empresa productora de fibra dietética extraída de subproductos alimentarios (Varsovia, Polonia). Los bagazos se almacenaron protegidos de la luz y de la humedad hasta su empleo. El aceite de girasol (marca Hacendado) fue adquirido en un supermercado local. La composición de los bagazos y los datos correspondientes al tamaño de partícula, concretamente, la media ponderada de la superficie (D[3,2]) y la media ponderada por volumen (D[4,3]) se presentan en la Tabla 3.

*Tabla 3: Composición de los bagazos de manzana (BA) y mandarina (BM). Media ponderada de la superficie D[3,2] y media ponderada por volumen [4,3] de las partículas que constituyen el bagazo. Datos facilitados por el proveedor.*

Composición (%)	BA	BM
Humedad	max. 9	max. 3,5
Hidratos de carbono	n.d.	n.d.
Proteína	n.d.	n.d.
Cenizas	max. 4	max. 2,5
Fibra dietética	min. 60	min. 43
Insoluble	min. 50	min. 32
Soluble	max. 12	max. 11,7
Pectina	n.d.	n.d.
D[3,2] (µm)	36,677	12,602
D[4,3] (µm)	127,835	52,284

#### 3.2. Elaboración de las emulsiones

Se elaboraron 4 emulsiones diferentes, 2 a partir de bagazo de manzana y 2 a partir de bagazo de mandarina, siendo una a pH nativo y otra a pH 3 (ácido) en cada caso. Todas las emulsiones se elaboraron con una proporción de O/W de 20/80, estando el bagazo en la fase acuosa a una concentración del 5% (w/v).

Para la preparación de la fase acuosa al 5%, se mezclaron en un vaso de precipitados 50 mL de agua destilada y 2,5 g del bagazo correspondiente y se dejó en agitación durante 2 h para una correcta dispersión. Se prepararon, con cada bagazo, dos fases acuosas diferentes, una a pH nativo, exactamente, 3,9 para BA y 4,9 para BM, y otra a pH 3. Para ajustar el pH de la disolución a 3 se empleó HCl.

Para preparar las emulsiones se homogeneizaron 16 mL de la fase acuosa y 4 mL de aceite de girasol mediante un Ultra-Turrax (Ultraturrax T18, IKA, Staufen, Germany) a 16.000 rpm durante 30 s. Se elaboraron cuatro emulsiones O/W diferentes, con bagazo de manzana (EA), con bagazo de manzana a pH 3 (EAa), con bagazo de mandarina (EM) y con bagazo de mandarina a pH 3 (EMa).

### **3.3. Caracterización de los bagazos**

#### *Obtención del extracto*

Para determinar el contenido en fenoles totales (CFT) y la capacidad antioxidante por FRAP y DPPH, se obtuvieron previamente extractos a partir de las muestras de BA y BM. Para ello, 50 mg de BA o BM fueron extraídos con 1 mL de etanol. Las muestras se llevaron a centrifugación a 10.000 rpm y 4°C durante 10 min y se guardó el sobrenadante. A continuación, se repitió el proceso dos veces más para una mayor extracción de los componentes. Finalmente se mezclaron los sobrenadantes obtenidos y se aforaron con etanol a 10 mL. Las extracciones se realizaron por cuadruplicado.

#### **3.3.1. Determinación del contenido en fenoles totales (CFT)**

El CFT fue determinado mediante el ensayo Folin - Ciocalteu (Singleton et al., 1999) en los extractos obtenidos previamente. Para ello, se mezclaron 1 mL de extracto, 6 mL de agua bidestilada y 0,5 mL del reactivo Folin – Ciocalteu y se guardó en oscuridad durante 3 min. A continuación, se añadieron 1 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> saturado (20%) y 1,5 mL de agua bidestilada y se guardó en oscuridad durante 90 min. Finalmente se midió la absorbancia a 765 nm mediante un espectrofotómetro (CE 1021 1000 Series, CECIL INSTRUMENTS, Cambridge, UK). La curva de calibrado se realizó con diferentes concentraciones de ácido gálico (GA) en etanol. Los resultados fueron expresados como mg de equivalente de ácido gálico (GAE) por g de muestra (mg GAE/g). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

#### **3.3.2. Determinación de la actividad antioxidante por el método FRAP**

El método FRAP (ferric reducing antioxidant power) fue realizado en los extractos obtenidos de las muestras de BA y BM según el método descrito por Pulido et al. (2000) con pequeñas modificaciones. El reactivo FRAP se preparó mezclando 2,5 mL de tampón acetato sódico anhidro (0,3M, pH 3,6), 2,5 mL de TPTZ 10 mM (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine) en HCl 40 mM y 2,5 mL de FeCl<sub>3</sub>·6 H<sub>2</sub>O 20 mM. A continuación, 30 µL de agua destilada, 30 µL del extracto de la muestra y 900 µL del reactivo FRAP se mezclaron y se incubaron a 37°C durante 30 min en

oscuridad. Después, se midió la absorbancia a 595. La curva de calibrado se realizó usando Trolox como estándar y los resultados fueron expresados como  $\mu\text{mol Trolox/g}$ . El ensayo FRAP se realizó por triplicado.

### 3.3.3. Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH

El método DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) fue realizado en los extractos obtenidos de las muestras de BA y BM según el método descrito por Shah et al. (2016) con pequeñas modificaciones. Se prepararon  $40 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  de disolución DPPH en etanol, 1 mL del extracto de la muestra se mezcló con 4 mL de la disolución DPPH y se agitó en un Vortex. Después de 30 min de incubación en oscuridad, la absorbancia se midió a 517 nm usando etanol como blanco. La curva de calibrado se realizó usando Trolox como estándar y los resultados fueron expresados como  $\mu\text{mol Trolox/g}$ . El % de inhibición de DPPH (AA%) se calculó mediante la Ecuación 1, la cual compara la capacidad de inhibir los radicales libres por parte de BA y BM con la inhibición en condiciones de control. El ensayo DPPH se realizó por triplicado.

$$AA\% = \frac{Abs\ control - Abs\ muestra(extracto) - Abs\ blanco}{Abs\ control} \times 100 \quad [1]$$

### 3.3.4. Determinación del contenido en carotenoides totales (CCT)

Para determinar el contenido en carotenoides totales (CCT) a partir de BA y BM se obtuvieron extractos mediante el protocolo descrito por López-Gómez et al. (2021) con algunas modificaciones. Para ello, se extrajeron 2,5 g de muestra con 25 mL de una disolución extractora de hexano:acetona:etanol (50:25:25) con 0,01 % (w/v) de BHT (hidroxitolueno butilado) usando un Ultra-Turrax a 5.000 rpm durante 30 s. Tras llevarlo a agitación durante 20 min en oscuridad, el extracto se añadió a un embudo de decantación. A continuación, se añadieron 15 mL de NaCl ( $100 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) para separar las fases y transferir la fracción de carotenoides a la fase formada por el hexano. Para eliminar el agua residual, se añadieron 10 mL de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ( $20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ). La fase del hexano fue recogida y la pulpa restante se volvió a tratar siguiendo el mismo proceso. Una vez repetido, los carotenoides fueron aforados con hexano a un volumen de 50 mL y la absorbancia se midió a 450 nm. La curva de calibrado se realizó con diferentes concentraciones de  $\beta$ -caroteno en hexano y los resultados fueron expresados como  $\text{mg } \beta\text{-caroteno}/100 \text{ g}$ . Las extracciones de carotenoides se realizaron por duplicado.

### 3.3.5. Determinación de la capacidad de retención de agua y de aceite

Las capacidades de retención de agua y de aceite (CRA y CRO, respectivamente) de los BA y BM fueron evaluadas siguiendo el método de Wang et al. (2015). Ambas fueron determinadas por cuadruplicado.

La CRA fue determinada añadiendo 0,5 g de BA o BM (W) en 20 mL de agua destilada. Después de mezclar vigorosamente, la mezcla se dejó reposar a temperatura ambiente durante 24h. Entonces, fue centrifugada a 4.200 rpm durante 10 min. El sobrenadante fue descartado y el residuo se pesó ( $W_1$ ). La CRA fue calculada según la Ecuación 2.

$$CRA \left( \frac{g}{g} \right) = \frac{W_1}{W} \quad [2]$$

La CRO fue determinada añadiendo 0,5 g de BA o BM (W) en 20 mL de aceite de girasol que se dejó reposar durante 1 h a 4°C. Entonces, fue centrifugada a 4.200 rpm durante 10 min. El sobrenadante fue descartado y el residuo se pesó ( $W_1$ ). La CRO fue calculada según la Ecuación 3.

$$CRO \left( \frac{g}{g} \right) = \frac{W_1}{W} \quad [3]$$

## 3.4. Caracterización de las emulsiones elaboradas con los bagazos. Estudios de estabilidad

### 3.4.1. Determinación del índice de la actividad emulsionante (IAE)

El IAE fue determinado siguiendo el método de Ashaolu & Zhao (2020) con pequeñas modificaciones. Después de la preparación de la emulsión, 30  $\mu$ L de muestra se diluyeron en 9 mL de dodecil sulfato (SDS) al 0,1%. Se midió la absorbancia a 500 nm a tiempo cero usando SDS 0,1% como blanco. El IAE fue calculado con la Ecuación 4, donde  $A_{500}$  es la absorbancia a 500 nm, DF es el factor de dilución,  $\theta$  es la fracción volumétrica de aceite y  $c$  es la concentración de BA o BM en la emulsión. El IAE fue medido por triplicado.

$$IAE \left( \frac{m^2}{g} \right) = \frac{2 \cdot 2,303 \cdot A_{500} \cdot DF}{\theta \cdot c \cdot 10.000} \quad [4]$$

### 3.4.2. Estabilidad cinética

La estabilidad cinética fue evaluada mediante el Índice de floculación (IF) siguiendo el método de Consoli et al. (2018) con pequeñas modificaciones. Después de la preparación de la emulsión, 10 mL se transfirieron a una probeta y la separación de fases fue observada y fotografiada a diferentes tiempos (0, 10, 20, 30, 60, 90, 120, 150 y 180 min). El IF fue calculado con la Ecuación

5, donde  $V$  es el volumen de capa floculada superior y  $V_T$  es el volumen total de la muestra. El IF fue medido por triplicado.

$$IF (\%) = \frac{V}{V_T} \cdot 100 \quad [5]$$

### 3.4.3. Microestructura

La microestructura de los bagazos se estudió empleando la técnica de microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM). Para ello, las muestras se colocaron en el soporte, con ayuda de una cinta adhesiva de carbono de doble cara, y se metalizaron con platino. A continuación, se observaron en un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo Ultra 55 FESEM (Zeiss, Oberkochen, Germany) a 15kV y a una distancia de trabajo de 15 mm.

La microestructura de las emulsiones se estudió mediante microscopía óptica en campo claro (LM). 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 4x. Las observaciones por LM se realizaron empleando un microscopio Nikon Eclipse 80i® (Nikon Co. Ltd., Tokio, Japón) con una cámara incorporada (Exwave HAD, nº 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). Finalmente, se realizó un análisis de imagen con el software ImageJ (Rasband, W.S., ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA) para determinar el tamaño de los glóbulos de grasa en las emulsiones.

### 3.5. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados se llevó a cabo mediante el software Statgraphics Centurion XVII (StatPoint Technologies Inc., USA). Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) simple para cada ensayo. Para evaluar las diferencias estadísticamente significativas entre las muestras se utilizó el método del LSD (Least Significant Difference), a un nivel de confianza del 95% ( $p$ -valor < 0,05).

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Caracterización de los bagazos

En la Tabla 4 se pueden observar los resultados obtenidos en los ensayos de contenido en fenoles totales (CFT), actividad antioxidante mediante FRAP y DPPH y contenido en carotenoides totales (CCT), para ambos bagazos, BA y BM.

*Tabla 4:* Contenido en fenoles totales (CFT) (mg GAE/g), actividad antioxidante FRAP ( $\mu\text{molTrolox/g}$ ) y DPPH ( $\mu\text{molTrolox/g}$ ) y carotenoides totales (CCT) (mg  $\beta$ -caroteno/100g) en los bagazos de manzana (BA) y mandarina (BM).

	CFT (mg GAE/g)	FRAP ( $\mu\text{molTrolox/g}$ )	DPPH ( $\mu\text{molTrolox/g}$ )	CCT (mg $\beta$ -caroteno/100g)
<b>BA</b>	<b>2,324 <math>\pm</math> 0,233</b>	<b>12,714 <math>\pm</math> 1,816</b>	<b>18,336 <math>\pm</math> 0,836</b>	<b>1,823 <math>\pm</math> 0,197</b>
<b>BM</b>	<b>10,776 <math>\pm</math> 0,495</b>	<b>63,290 <math>\pm</math> 3,931</b>	<b>23,459 <math>\pm</math> 0,856</b>	<b>4,215 <math>\pm</math> 0,253</b>

Resultados expresados en media  $\pm$  desviación típica.

#### 4.1.1. Determinación del contenido en fenoles totales (CFT)

Como se puede observar en la Tabla 4, el bagazo de mandarina (BM) presentó valores significativamente ( $p < 0,05$ ) más altos de CFT que el bagazo de manzana (BA). Los resultados obtenidos en este trabajo son similares a los valores de  $2,17 \pm 0,20$  mg GAE/g obtenidos por Rana et al. (2015) en sus estudios con bagazos de manzana y con los obtenidos por Fernández-Fernández et al. (2021), de  $16,50 \pm 1,00$  mg GAE/g, en el caso de bagazo de mandarina. Ambas frutas son ricas en fenoles totales, sobre todo sus pieles, ya que los compuestos fenólicos se almacenan en los tejidos dérmicos de las plantas en su mayoría y, por tanto, dependiendo del porcentaje de piel incluido en el bagazo, este contenido variará (Krawitzky et al., 2014). El CFT, además, depende de varios factores como el tipo de fruta, el cultivo y la variedad (Zhang et al., 2018).

#### 4.1.2. Determinación de la actividad antioxidante mediante los métodos FRAP y DPPH

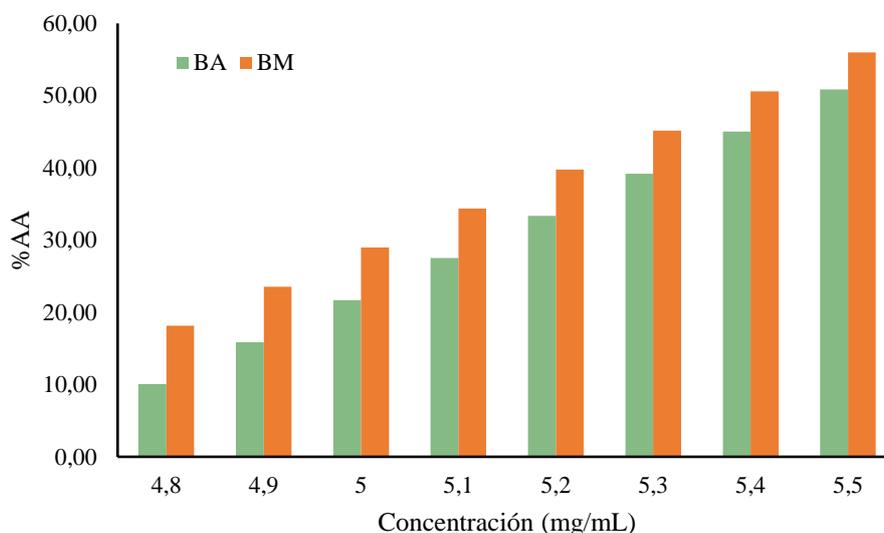
Para determinar la actividad antioxidante, se llevaron a cabo dos ensayos distintos, FRAP y DPPH, los cuales consisten en medir la capacidad de un compuesto para reducir el ion férrico a ferroso y de neutralizar los radicales libres, respectivamente. En la Tabla 4 se pueden observar los resultados obtenidos para cada uno de los bagazos estudiados.

Tanto para el ensayo de FRAP como DPPH, la actividad antioxidante resultó ser mayor ( $p < 0,05$ ) en BM que en BA, lo cual es coherente con los resultados obtenidos en la determinación de CFT,

ya que, un elevado contenido en fenoles está directamente relacionado con una elevada actividad antioxidante (Wang et al., 2017). Para el BM, los resultados tanto de FRAP como DPPH fueron acordes ( $57,933 \pm 3,196 \mu\text{molTrolox/g}$  para FRAP y  $17,580 \pm 0,799 \mu\text{molTrolox/g}$  para DPPH) a los obtenidos por Kim & Lim (2020) en sus estudios con bagazo de mandarina en los que trabajaron en condiciones muy similares a las del presente trabajo.

Los resultados obtenidos para el BA mediante el método FRAP fueron menores a los indicados en otros estudios ( $21,0 \pm 0,5 \mu\text{molTrolox/g}$  por Krawitzky et al., 2014). Esto puede ser debido a la naturaleza de la materia prima empleada, ya que, como se ha mencionado anteriormente el cultivo y la composición del bagazo son factores condicionantes. Sin embargo, para el ensayo DPPH en BA los resultados fueron similares al estudio de Hernández-Carranza et al. (2016) ( $18,139 \pm 0,360 \mu\text{molTrolox/g}$ ).

Finalmente, como parte del ensayo DPPH, se determinó la actividad antioxidante en forma de porcentaje de inhibición (%AA). Como muestra la Figura 3, el BM presentó valores mayores de %AA que el BA, lo cual coincide con los resultados obtenidos anteriormente. El %AA para cada bagazo según las concentraciones exactas obtenidas durante los ensayos se puede observar en el ANEXO I: Porcentaje de inhibición (%AA) de BA y BM.



*Figura 3: Porcentaje de inhibición (%AA) de los bagazos de manzana (BA) y mandarina (BM) según la concentración (mg/mL).*

#### **4.1.3. Determinación del contenido en carotenoides totales (CCT)**

Los resultados del CCT se pueden observar para ambos bagazos en la Tabla 4. El contenido de carotenoides en el BM fue superior ( $p < 0,05$ ) al del BA, con unos valores de  $4,215 \pm 0,253$  y  $1,823 \pm 0,197 \text{ mg } \beta\text{-caroteno}/100\text{g}$ , respectivamente.

Se encontraron valores muy similares de CCT para el BM en los estudios realizados por Pfkukwa et al. (2019) ( $5,00 \pm 0,10$  mg  $\beta$ -caroteno/100g). Sin embargo, los resultados obtenidos para BA no fue posible compararlos con otros estudios, ya que estos cuantificaban por HPLC el contenido de numerosos tipos de carotenoides y compuestos clorofílicos (Popescu et al., 2022).

#### 4.1.4. Capacidad de retención de agua y de aceite

En la Figura 4 se presentan los resultados de capacidad de retención de agua (CRA) y aceite (CRO) de los bagazos micronizados de mandarina y manzana estudiados en este trabajo.

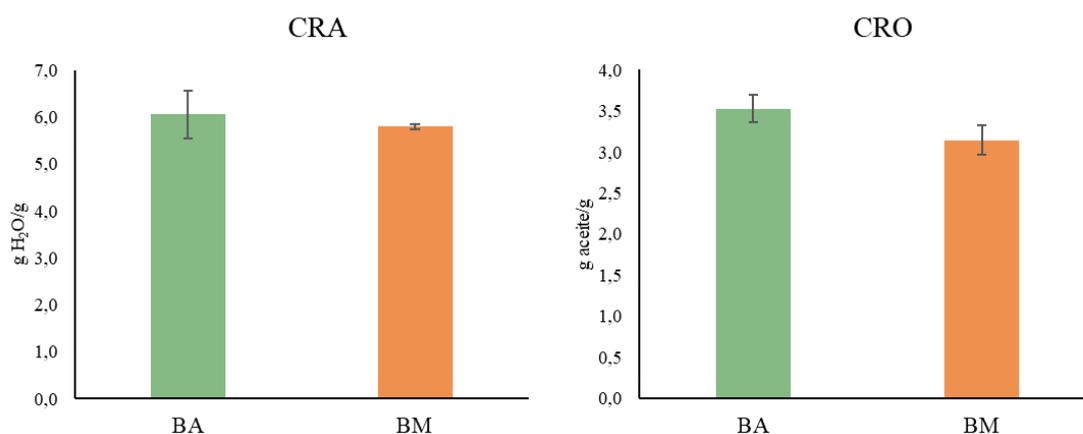


Figura 4: CRA (g H<sub>2</sub>O/g muestra) y CRO (g aceite/g muestra) para BA y BM.

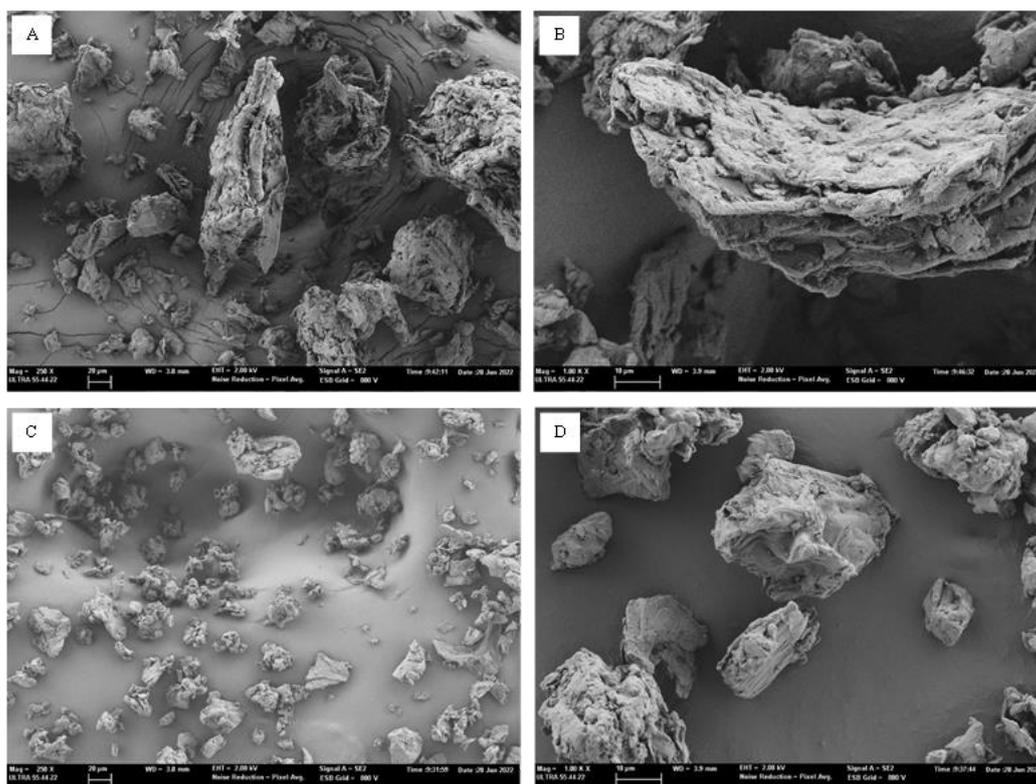
Los resultados obtenidos indicaron un valor de CRA para el BA de  $6,05 \pm 0,50$  g H<sub>2</sub>O/g muestra, y de  $5,80 \pm 0,06$  g H<sub>2</sub>O/g muestra para el BM. En cuanto a la CRO, los valores fueron de  $3,53 \pm 0,16$  para BA y de  $3,15 \pm 0,18$  para BM. Como se puede observar, existieron diferencias significativas entre ambos bagazos para la CRO ( $p < 0,05$ ), sin embargo, para la CRA no hubo diferencias significativas ( $p > 0,05$ ), pudiendo afirmar que los bagazos presentaron capacidades de retención de agua similares.

Los resultados obtenidos para el BA fueron similares a los obtenidos por Rana et al., (2015), con una CRA de 8,12 g H<sub>2</sub>O/g y una CRO de 4,59 g aceite/g para bagazo de manzana liofilizado. Un estudio reciente (Huang et al., 2020) sobre las propiedades reológicas y emulsificantes de bagazo de cítricos mostró valores de CRA ( $6,97 \pm 1,34$  g H<sub>2</sub>O/g) y CRO ( $2,46 \pm 0,43$  g aceite/g) similares a los obtenidos en este trabajo para el BM.

#### 4.1.5. Microestructura

El estudio de los bagazos mediante la técnica de FESEM permitió estudiar la orografía de las partículas que componen los bagazos micronizados de manzana y mandarina. Como se puede

apreciar en la Figura 5, ambos bagazos estaban formados por partículas de estructura heterogénea, irregular, de distintas formas y tamaños, siendo más grandes las partículas del BA que las del BM. Estos resultados coinciden con la información aportada por el proveedor en cuanto a los valores de D[3,2] y D[4,3]. El BA presentó partículas alargadas, más estratificadas y porosas que las del BM, que mostraron un aspecto redondeado y compacto. La mayor porosidad observada en el BA y, por lo tanto, la mayor superficie de exposición y puntos de unión que permiten la absorción de moléculas como agua o sustancias lipídicas podría estar relacionada con su mayor CRO y con su elevada CRA (Wang et al., 2015) como muestran los resultados anteriores.

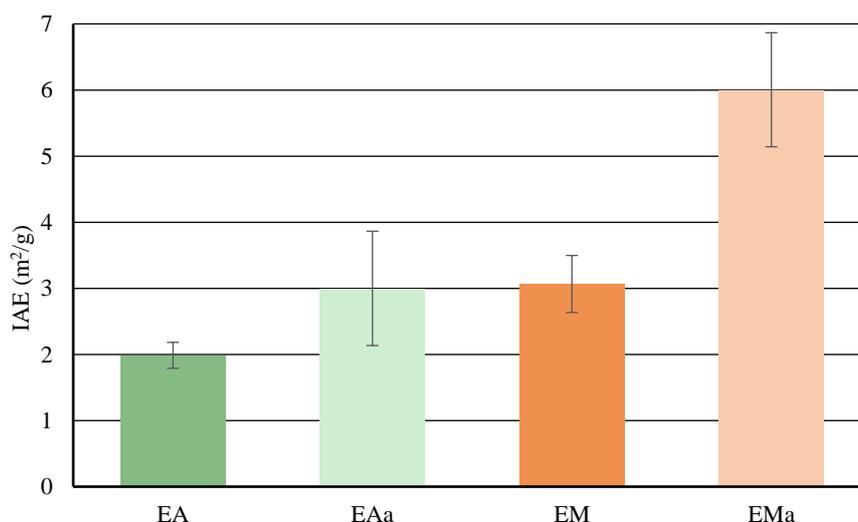


*Figura 5: Imágenes FESEM de los bagazos de manzana (A, B) y mandarina (C, D), con aumentos de 250x (A, C) y 1000x (B, D), para cada una de las muestras.*

## **4.2. Caracterización de las emulsiones elaboradas con los bagazos. Estudios de estabilidad**

### **4.2.1. Índice de la actividad emulsionante (IAE)**

Un elevado IAE está relacionado con una mayor adsorción en la interfase y una mayor efectividad en la estabilización entre fases de una emulsión. Esto se traduce en mayor rendimiento en cuanto a la formación de emulsiones, es decir, mejores propiedades emulgentes (Li et al., 2022). Los resultados de los valores del IAE de las emulsiones desarrolladas a partir de los bagazos micronizados se muestran en la Figura 6.



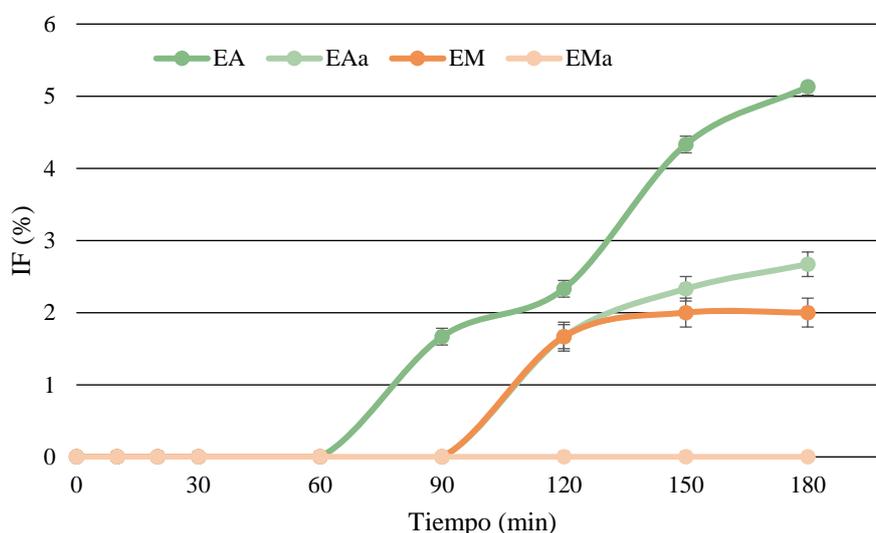
*Figura 6: Índice de actividad emulsionante (IAE) de las emulsiones de bagazo de manzana a pH nativo (EA) y pH 3 (EAa), mandarina a pH nativo (EM) y pH 3 (EMa).*

Si se comparan entre sí las emulsiones elaboradas con una fase acuosa del mismo pH, la elaborada con bagazo de mandarina (EM) presentó una mayor ( $p < 0,05$ ) actividad emulsionante que la elaborada con bagazo de manzana (EA), siendo esta diferencia mayor ( $p < 0,05$ ) cuando las emulsiones se desarrollaron a partir de fases acuosas ácidas (pH 3; EAa y EMa). Si se comparan las emulsiones elaboradas con el mismo tipo de bagazo y fases acuosas de distinto pH, las elaboradas a pH ácido fueron las que presentaron la mayor ( $p < 0,05$ ) capacidad emulsionante. Sin embargo, no se encontraron diferencias ( $p > 0,05$ ) entre las emulsiones desarrolladas con bagazo de manzana y fase acuosa ácida (EAa) y las desarrolladas con bagazo de mandarina (EM). La acidificación de la fase acuosa de la emulsión elaborada con bagazo de manzana (EAa) permitió igualar la capacidad emulsionante con la de la emulsión elaborada con bagazo de mandarina (EM). De todas las emulsiones desarrolladas la que presentó los mayores ( $p < 0,05$ ) valores de IAE fue la elaborada con un fase acuosa ácida y bagazo de mandarina (EMa). El mayor IAE de las emulsiones de bagazo de mandarina probablemente se debe a que el bagazo de mandarina micronizado presenta un mayor contenido en pectina que el de manzana (O'Shea et al., 2015). La pectina y otros polisacáridos como la celulosa se asocian a proteínas nativas, actuando como biopolímeros que confieren buenas propiedades emulsionantes y estabilizantes a los bagazos. El pH de la fase acuosa tuvo un efecto significativo ( $p < 0,05$ ) en el IAE. Tanto en la manzana como en la mandarina, se obtuvieron valores de IAE mayores a pH 3, siendo este efecto más notable en la mandarina. Esto puede ser debido a que el bagazo de manzana posee un pH nativo de 3,90, por lo tanto, más cercano a un pH 3 que el del bagazo de mandarina, que es de 4,90. Los valores de IAE son mayores a pH 3 probablemente debido a que a pH ácido ( $pH < 3,5$ ) tienen lugar mayores repulsiones electroestáticas entre las moléculas de pectina, resultando en una conformación más estirada que permite mayor retención de moléculas de agua al haber más

disponibilidad de puntos de unión. Además, al encontrarse la molécula más estirada, la viscosidad del medio se ve aumentada, confiriendo buenas propiedades estabilizantes y gelificantes al bagazo del medio se ve aumentada, confiriendo buenas propiedades estabilizantes y gelificantes al bagazo (Duan et al., 2021). En un estudio reciente se demostró que en condiciones ácidas (pH 2,5) el papel emulsionante y estabilizante de la pectina de manzana, entre más vegetales, se vio mejorado en comparación con condiciones de pH mayor (Neckebroek et al., 2021).

#### 4.2.2. Estabilidad cinética

En la Figura 7 se puede observar el Índice de floculación (IF) para las distintas emulsiones elaboradas en función del tiempo. Este índice mide el tiempo transcurrido hasta apreciarse la floculación, fenómeno de agregación de las gotas en una emulsión que aporta inestabilidad a esta, siendo lo ideal un resultado de 0%, para asegurar estabilidad.

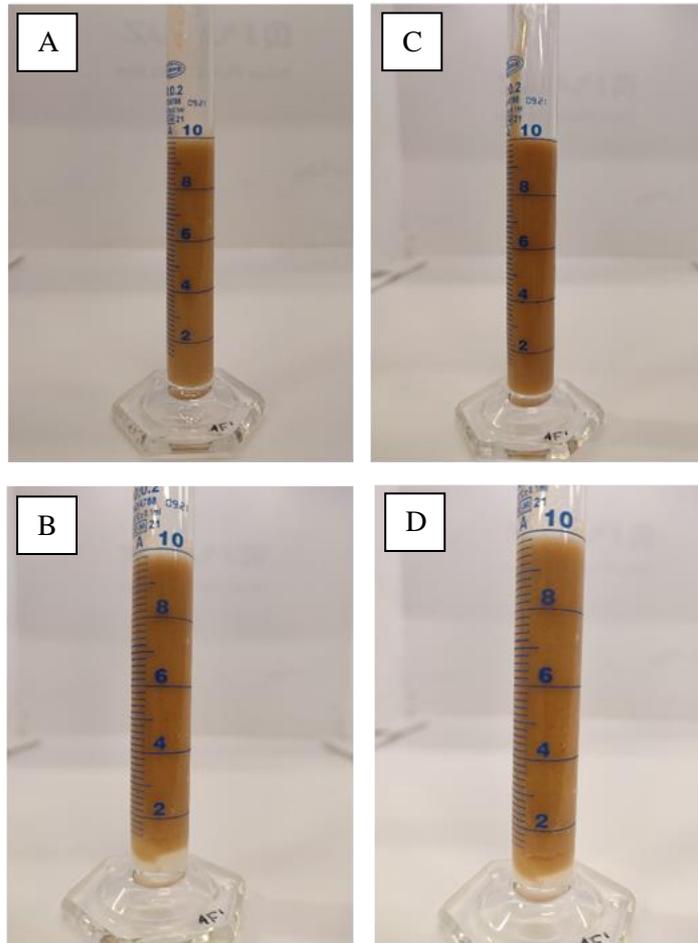


*Figura 7: Índice de floculación (%) de las emulsiones elaboradas con bagazo de manzana a pH nativo (EA), manzana a pH 3 (EAa), mandarina a pH nativo (EM) y mandarina a pH 3(EMa) a distintos tiempos (0, 10, 20, 30, 60, 90, 120, 150 y 180 min).*

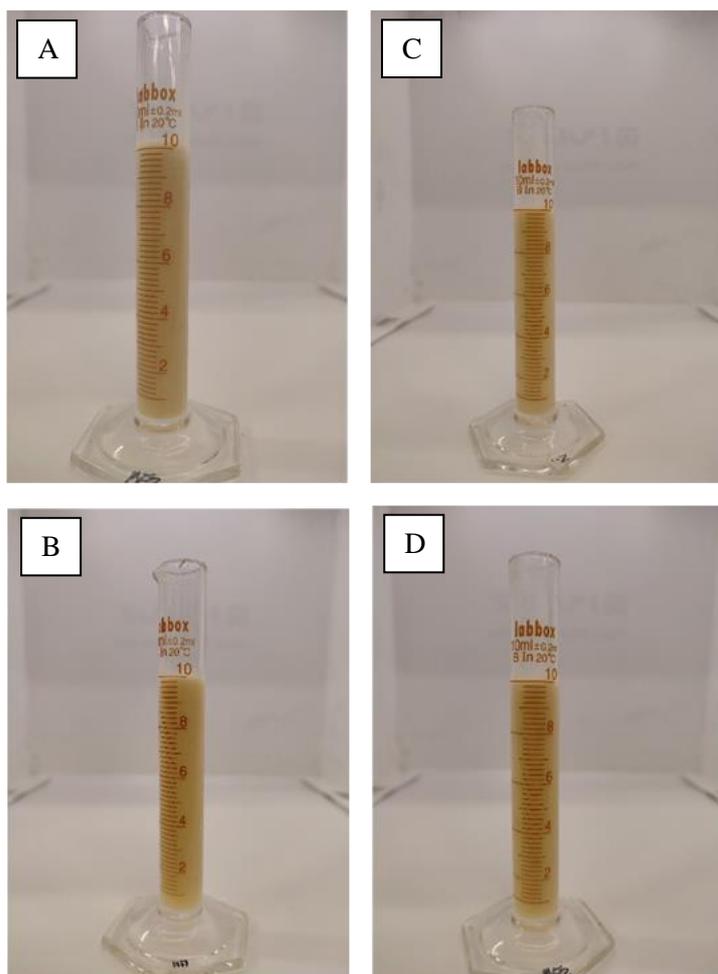
De todas las emulsiones estudiadas, la EMa fue la más estable, ya que presentó un valor de IF del 0% durante todo el periodo de almacenamiento estudiado. La siguiente emulsión más estable fue la EM, que no presentó floculación durante los primeros 90 min de almacenamiento, sin embargo, a los 120 min mostró un valor de IF de  $1,67 \pm 0,20$  % y a los 150 min de  $2,00 \pm 0,20$  %, manteniéndose estable hasta los 180 min. La emulsión EAa siguió la misma tendencia que la EM hasta los 120 min de almacenamiento, pero alcanzó un valor superior de IF ( $2,67 \pm 0,17$  %) a los 180 min. Por último, la emulsión más inestable fue la EA ya que, aunque no floculó durante los primeros 60 min, presentó valores elevados de IF a los 90 min, llegando a alcanzar a los 180 min un valor de  $5,13 \pm 0,12$  %.

Tras realizar un análisis estadístico de los resultados para su mejor interpretación, se puede apreciar diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre ambas materias primas para el mismo pH, siendo siempre la emulsión elaborada con bagazo micronizado de mandarina más estable que la elaborada con bagazo de manzana. Este hecho evidencia, por un lado, que el pH es un factor determinante en la formación y estabilidad de emulsiones, como se ha podido observar también en los resultados obtenidos de IAE. Un estudio realizado con pectina extraída de piel de mandarina demuestra que las condiciones óptimas para desarrollar emulsiones estables en el tiempo con esta materia prima se dan en condiciones ácidas, concretamente pH 3, al igual que en el trabajo presente (Duan et al., 2021), por lo que podría atribuirse a este motivo. Por otro lado, se observa que el bagazo de mandarina desempeña una mejor función estabilizando emulsiones que el bagazo de manzana. No se encontraron estudios que comparen ambas materias primas en cuanto a su potencial como estabilizantes de emulsiones, pero en un estudio se evaluó la capacidad de las pectinas extraídas de estas frutas para estabilizar una emulsión junto con proteína aislada del coco. Los resultados mostraron mayor estabilidad en las emulsiones elaboradas con pectina extraída de cítricos que de manzana (Li et al., 2022).

Aunque los valores de IF obtenidos en las emulsiones estudiadas en este trabajo son reducidos en comparación con los obtenidos con otras materias primas, como almidón modificado o celulosa microcristalina (Kargar et al., 2012), se puede calificar a ambos bagazos como buenos estabilizantes de emulsiones. En las Figura 8 y Figura 9 se muestran las emulsiones estudiadas en este trabajo a los tiempos 0 y 180 min de almacenamiento. En ellas se puede apreciar cómo mantuvieron un nivel de estabilidad muy elevado durante todo el almacenamiento.



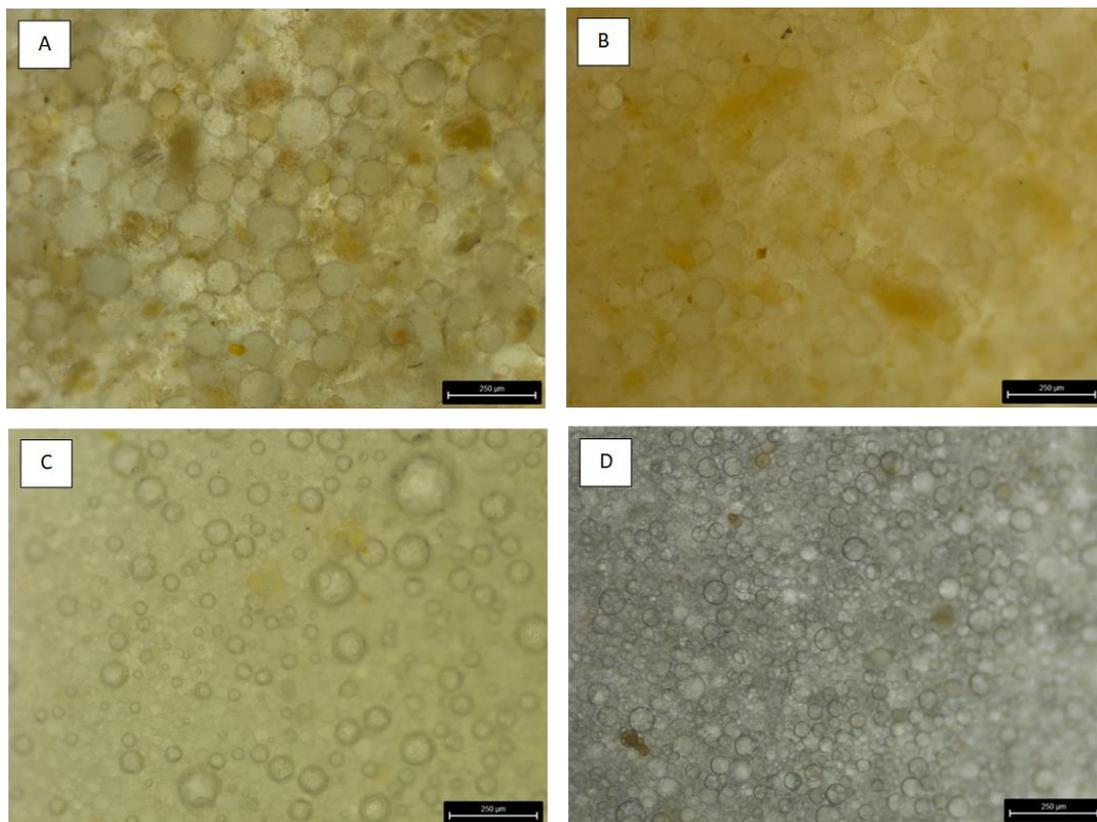
*Figura 8: Emulsiones con bagazo de manzana, siendo A) pH nativo, tiempo 0, B) pH nativo, tiempo 180, C) pH 3, tiempo 0 y D) pH 3, tiempo 180.*



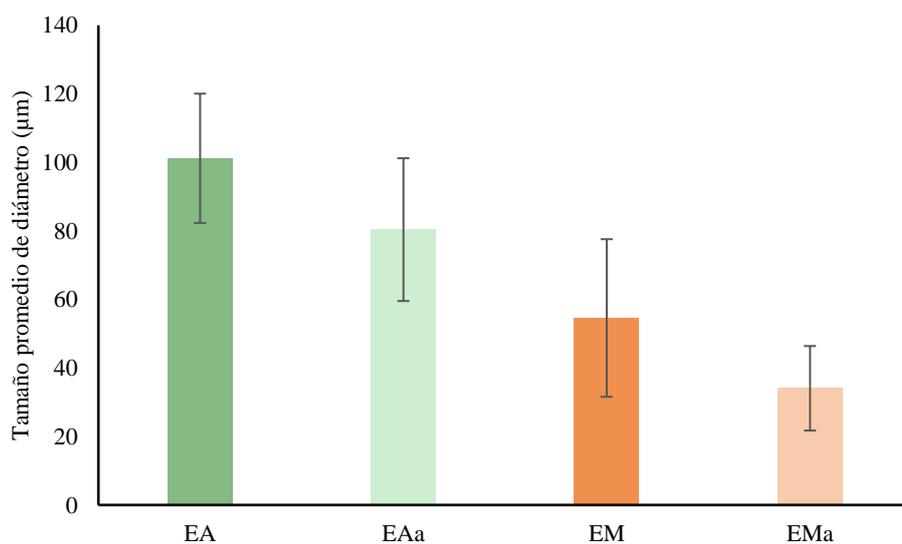
*Figura 9: Emulsiones de bagazo de mandarina, siendo A) pH nativo, tiempo 0, B) pH nativo, tiempo 180, C) pH 3, tiempo 0 y D) pH 3, tiempo 180.*

#### **4.2.3. Microestructura**

La emulsión elaborada con bagazo de manzana (EA) estuvo formada por glóbulos de grasa redondeados, de diferente tamaño e inmersos en una fase continua en la que se podían apreciar aglomerados de diferente tamaño, formados por partículas de bagazo, distribuidos de forma heterogénea (Figura 10 A). En la emulsión EAa, los glóbulos presentaron un tamaño más pequeño que en la EA (Figura 11) y la fase continua mostró una apariencia más fluida (Figura 10 B). El bagazo se observó diluido en la fase continua y no se apreciaron tantos aglomerados. Las emulsiones elaboradas con bagazo de mandarina (EM y EMa) estuvieron constituidas por glóbulos más pequeños ( $p < 0,05$ ) que las de manzana (Figura 11) y aunque se apreciaron algunos aglomerados de bagazo, mayoritariamente, se mostraron diluidos y formando parte de la fase continua (Figura 10 B y C). Probablemente, al estar el bagazo fusionado con la fase continua, es más accesible a la interfase, puede estabilizar mejor los glóbulos de aceite y su papel estructurante de la emulsión es mayor.



**Figura 10:** Imagen de microscopía óptica de campo claro de las emulsiones con bagazo de manzana (EA) (A), bagazo de manzana a pH ácido (EAa) (B), bagazo de mandarina (EM) (C) y bagazo de mandarina a pH ácido (EMa) (D).



**Figura 11:** Tamaño promedio del diámetro (µm) de los glóbulos de grasa de las emulsiones con bagazo de manzana a pH nativo (EA), manzana a pH 3 (EAa), mandarina a pH nativo (EM) y mandarina a pH 3 (EMa).

La distribución del tamaño de los glóbulos de grasa se puede observar en la Figura 11. El diámetro de los glóbulos no fue homogéneo en ninguna de las emulsiones estudiadas, pues los valores variaron entre los 30 y 150  $\mu\text{m}$ . Los glóbulos de las emulsiones elaboradas con bagazo de manzana fueron de mayor ( $p < 0,05$ ) diámetro que las elaboradas con los bagazos de mandarina, como también se ha podido observar en las imágenes. Estos resultados coinciden con los obtenidos en un estudio que compara propiedades de emulsiones elaboradas con distintos subproductos de frutas, en el cual la emulsión de fibra de cítricos posee partículas considerablemente de menor tamaño que las de fibra de manzana (Kalla-Bertholdt et al., 2021). Una matriz con un tamaño de partícula reducido genera una reducción en el tamaño de los glóbulos de aceite en emulsiones del tipo O/W y, cuanto menor es su tamaño, la estabilidad de la emulsión es mayor. Esto es debido a que su conformación alrededor de las gotas de aceite, atrapándolas, se ve favorecida, evitando su movimiento, y con ello, fenómenos como la floculación (Lu et al., 2020). Las emulsiones elaboradas con bagazo de mandarina fueron también las que presentaron mejores propiedades emulsionantes que las de bagazo de manzana, como se ha visto en los estudios de IAE y de IF. En cuanto al efecto del pH, las emulsiones elaboradas con fase acuosa ácida presentaron glóbulos de menor ( $p < 0,05$ ) diámetro y menos ( $p < 0,05$ ) heterogéneos que las elaboradas a pH nativo. En el estudio realizado por Neckebroeck et al. (2021) se demostró que en condiciones ácidas (pH 2,5) se observaba un menor tamaño en los glóbulos de grasa de las emulsiones estabilizadas con extractos de pectina procedentes de distintas plantas que a valores de pH mayores (pH 6).

## 5. CONCLUSIONES

Aunque tanto el bagazo micronizado de manzana como el de mandarina presentan compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y carotenoides, el contenido es significativamente superior en el bagazo de mandarina. Ambos bagazos tienen una buena capacidad de retención de agua, sin embargo, el bagazo de manzana tiene mayor capacidad de retención de aceite que el de mandarina. Esto puede estar relacionado con la estructura porosa del bagazo de manzana y, por lo tanto, con la mayor superficie de exposición y puntos de unión que permiten tanto la adsorción de moléculas de agua como de aceite. El bagazo micronizado de mandarina presenta una estructura compacta y redondeada y está constituido por partículas más pequeñas que el de manzana.

En general, el bagazo de mandarina presenta mejor capacidad emulsionante y genera emulsiones más estables en el tiempo y mejor estructuradas que el de manzana. Sin embargo, acidificar la fase acuosa, que contiene el bagazo, mejora estas propiedades en ambos bagazos. Las emulsiones elaboradas con bagazo de mandarina están constituidas por glóbulos pequeños y una fase continua homogénea en la que el bagazo se muestra fusionado, más accesible a la interfase por lo que puede estabilizar los glóbulos de aceite y estructurar la emulsión.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Aschoff, J. K., Kaufmann, S., Kalkan, O., Neidhart, S., Carle, R., & Schweiggert, R. M. (2015). In Vitro Bioaccessibility of Carotenoids, Flavonoids, and Vitamin C from Differently Processed Oranges and Orange Juices [ *Citrus sinensis* (L.) Osbeck]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(2), 578–587. <https://doi.org/10.1021/jf505297t>
- Ashaolu, T. J., & Zhao, G. (2020). Fabricating a Pickering Stabilizer from Okara Dietary Fibre Particulates by Conjugating with Soy Protein Isolate via Maillard Reaction. *Foods*, 9(2), 143. <https://doi.org/10.3390/foods9020143>
- 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>
- Bender, A. B. B., Speroni, C. S., Moro, K. I. B., Morisso, F. D. P., dos Santos, D. R., da Silva, L. P., & Penna, N. G. (2020). Effects of micronization on dietary fiber composition, physicochemical properties, phenolic compounds, and antioxidant capacity of grape pomace and its dietary fiber concentrate. *LWT*, 117, 108652. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108652>
- Bhushan, S., Kalia, K., Sharma, M., Singh, B., & Ahuja, P. S. (2008). Processing of Apple Pomace for Bioactive Molecules. *Critical Reviews in Biotechnology*, 28(4), 285–296. <https://doi.org/10.1080/07388550802368895>
- Caggia, C., Palmeri, R., Russo, N., Timpone, R., Randazzo, C. L., Todaro, A., & Barbagallo, S. (2020). Employ of Citrus By-product as Fat Replacer Ingredient for Bakery Confectionery Products. *Frontiers in Nutrition*, 7. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.00046>
- Chandrasekar, V., Martín-González, M. F. S., Hirst, P., & Ballard, T. S. (2015). Optimizing Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Antioxidants from Red Delicious and Jonathan Apple Pomace. *Journal of Food Process Engineering*, 38(6), 571–582. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12187>
- Chen, Wang, Tan, Hu, Sundararajan, & Zhou. (2020). Profiling of Flavonoid and Antioxidant Activity of Fruit Tissues from 27 Chinese Local Citrus Cultivars. *Plants*, 9(2), 196. <https://doi.org/10.3390/plants9020196>
- Choi, I. S., Kim, J.-H., Wi, S. G., Kim, K. H., & Bae, H.-J. (2013). Bioethanol production from mandarin (*Citrus unshiu*) peel waste using popping pretreatment. *Applied Energy*, 102, 204–210. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.03.066>
- Consoli, L., Dias, R. A. O., Rabelo, R. S., Furtado, G. F., Sussulini, A., Cunha, R. L., & Hubinger, M. D. (2018). Sodium caseinate-corn starch hydrolysates conjugates obtained through the Maillard reaction as stabilizing agents in resveratrol-loaded emulsions. *Food Hydrocolloids*, 84, 458–472. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.06.017>
- de Ancos, B., Cilla, A., Barberá, R., Sánchez-Moreno, C., & Cano, M. P. (2017). Influence of orange cultivar and mandarin postharvest storage on polyphenols, ascorbic acid and antioxidant activity during gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 225, 114–124. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.098>

- de Moraes Crizel, T., Jablonski, A., de Oliveira Rios, A., Rech, R., & Flôres, S. H. (2013). Dietary fiber from orange byproducts as a potential fat replacer. *LWT - Food Science and Technology*, *53*(1), 9–14. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.02.002>
- Dhillon, G. S., Kaur, S., & Brar, S. K. (2013). Perspective of apple processing wastes as low-cost substrates for bioproduction of high value products: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *27*, 789–805. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.06.046>
- Duan, X., Yang, Z., Yang, J., Liu, F., Xu, X., & Pan, S. (2021). Structural and Emulsifying Properties of Citric Acid Extracted Satsuma Mandarin Peel Pectin. *Foods*, *10*(10), 2459. <https://doi.org/10.3390/foods10102459>
- Fernández-Fernández, A. M., Dellacassa, E., Nardin, T., Larcher, R., Gámbaro, A., Medrano-Fernandez, A., & del Castillo, M. D. (2021). In Vitro Bioaccessibility of Bioactive Compounds from Citrus Pomaces and Orange Pomace Biscuits. *Molecules*, *26*(12), 3480. <https://doi.org/10.3390/molecules26123480>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2020). *FAOSTAT*. <https://www.fao.org/faostat/es/#home>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2021). *Citrus fruit: fresh and processed - Statistical bulletin 2020*. <https://www.fao.org/3/cb6492en/cb6492en.pdf>
- Hernández-Carranza, P., Ávila-Sosa, R., Guerrero-Beltrán, J. A., Navarro-Cruz, A. R., Corona-Jiménez, E., & Ochoa-Velasco, C. E. (2016). Optimization of Antioxidant Compounds Extraction from Fruit By-Products: Apple Pomace, Orange and Banana Peel. *Journal of Food Processing and Preservation*, *40*(1), 103–115. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12588>
- Huang, L., Liu, J., Addy, M., Ding, B., Cheng, Y., Peng, P., Wang, Y., Liu, Y., Chen, P., & Ruan, R. (2020). Physicochemical and emulsifying properties of orange fibers stabilized oil-in-water emulsions. *LWT*, *133*, 110054. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110054>
- Huda, A. B., Parveen, S., Rather, S. A., Akhter, R., Hassan, M., & Huda, A. B. T. (2014). Effect of incorporation of apple pomace on the physico-chemical, sensory and textural properties of mutton nuggets. *International Journal of Advanced Research*, *2*(4), 974–983. <http://www.journalijar.com>
- Hussain, S., Jõudu, I., & Bhat, R. (2020). Dietary Fiber from Underutilized Plant Resources—A Positive Approach for Valorization of Fruit and Vegetable Wastes. *Sustainability*, *12*(13), 5401. <https://doi.org/10.3390/su12135401>
- Ishangulyyev, R., Kim, S., & Lee, S. (2019). Understanding Food Loss and Waste—Why Are We Losing and Wasting Food? *Foods*, *8*(8), 297. <https://doi.org/10.3390/foods8080297>
- Juśkiewicz, J., Żary-Sikorska, E., Zduńczyk, Z., Król, B., Jarosławska, J., & Jurgoński, A. (2012). Effect of dietary supplementation with unprocessed and ethanol-extracted apple pomaces on caecal fermentation, antioxidant and blood biomarkers in rats. *British Journal of Nutrition*, *107*(8), 1138–1146. <https://doi.org/10.1017/S0007114511004144>
- Kalla-Bertholdt, A.-M., Nguyen, P.-V., Baier, A. K., & Rauh, C. (2021). Influence of dietary fiber on in-vitro lipid digestion of emulsions prepared with high-intensity ultrasound. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *73*, 102799. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102799>
- Kargar, M., Fayazmanesh, K., Alavi, M., Spyropoulos, F., & Norton, I. T. (2012). Investigation into the potential ability of Pickering emulsions (food-grade particles) to enhance the

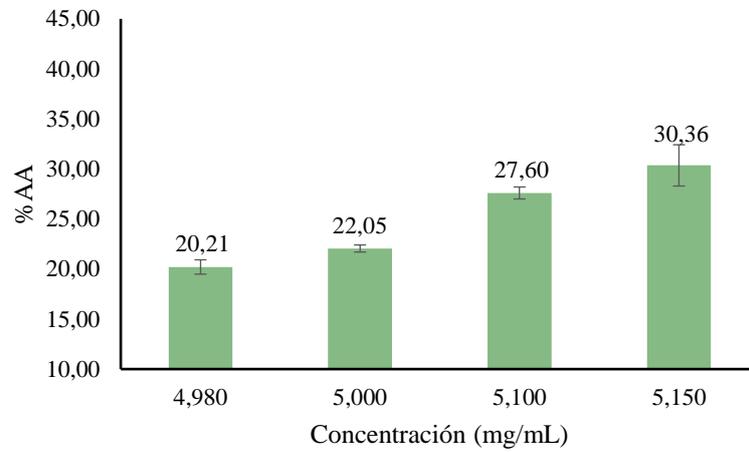
- oxidative stability of oil-in-water emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 366(1), 209–215. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2011.09.073>
- Kim, D.-S., & Lim, S.-B. (2020). Extraction of flavanones from immature Citrus unshiu pomace: process optimization and antioxidant evaluation. *Scientific Reports*, 10(1), 19950. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76965-8>
- Kosakowski, W., Bryszewska, M. A., & Dziugan, P. (2020). Biochars from Post-Production Biomass and Waste from Wood Management: Analysis of Carbonization Products. *Materials*, 13(21), 4971. <https://doi.org/10.3390/ma13214971>
- Krawitzky, M., Arias, E., Peiro, J. M., Negueruela, A. I., Val, J., & Oria, R. (2014). Determination of color, antioxidant activity, and phenolic profile of different fruit tissue of spanish verde doncella apple cultivar. *International Journal of Food Properties*, 17(10), 2298–2311. <https://doi.org/10.1080/10942912.2013.792829>
- Li, Z., Xi, J., Chen, H., Chen, W., Chen, W., Zhong, Q., & Zhang, M. (2022). Effect of glycosylation with apple pectin, citrus pectin, mango pectin and sugar beet pectin on the physicochemical, interfacial and emulsifying properties of coconut protein isolate. *Food Research International*, 156, 111363. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111363>
- López-Gámez, G., Elez-Martínez, P., Quiles-Chuliá, A., Martín-Belloso, O., Hernando-Hernando, I., & Soliva-Fortuny, R. (2021). Effect of pulsed electric fields on carotenoid and phenolic bioaccessibility and their relationship with carrot structure. *Food & Function*, 12(6), 2772–2783. <https://doi.org/10.1039/D0FO03035J>
- Lu, Z., Ye, F., Zhou, G., Gao, R., Qin, D., & Zhao, G. (2020). Micronized apple pomace as a novel emulsifier for food O/W Pickering emulsion. *Food Chemistry*, 330, 127325. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127325>
- Mahato, Sinha, Sharma, Koteswararao, & Cho. (2019). Modern Extraction and Purification Techniques for Obtaining High Purity Food-Grade Bioactive Compounds and Value-Added Co-Products from Citrus Wastes. *Foods*, 8(11), 523. <https://doi.org/10.3390/foods8110523>
- Mahmoud, A. M., Hernández Bautista, R. J., Sandhu, M. A., & Hussein, O. E. (2019). Beneficial Effects of Citrus Flavonoids on Cardiovascular and Metabolic Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 1–19. <https://doi.org/10.1155/2019/5484138>
- MAPA. (2021). *Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación*. <https://www.mapa.gob.es/es/>
- Molinuevo-Salces, B., Riaño, B., Hijosa-Valsero, M., González-García, I., Paniagua-García, A. I., Hernández, D., Garita-Cambronero, J., Díez-Antolínez, R., & García-González, M. C. (2020). Valorization of apple pomaces for biofuel production: A biorefinery approach. *Biomass and Bioenergy*, 142, 105785. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105785>
- Napolitano, A., Cascone, A., Graziani, G., Ferracane, R., Scalfi, L., di Vaio, C., Ritieni, A., & Fogliano, V. (2004). Influence of variety and storage on the polyphenol composition of apple flesh. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(21), 6526–6531. <https://doi.org/10.1021/jf049822w>
- Neckebroek, B., Verkempinck, S. H. E., van Audenhove, J., Bernaerts, T., de Wilde d'Estmael, H., Hendrickx, M. E., & van Loey, A. M. (2021). Structural and emulsion stabilizing properties of pectin rich extracts obtained from different botanical sources. *Food Research International*, 141, 110087. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.110087>

- Nkuimi Wandjou, J. G., Lancioni, L., Barbalace, M. C., Hrelia, S., Papa, F., Sagratini, G., Vittori, S., Dall'Acqua, S., Caprioli, G., Beghelli, D., Angeloni, C., Lupidi, G., & Maggi, F. (2020). Comprehensive characterization of phytochemicals and biological activities of the Italian ancient apple 'Mela Rosa dei Monti Sibillini.' *Food Research International*, *137*, 109422. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109422>
- O'Shea, N., Ktenioudaki, A., Smyth, T. P., McLoughlin, P., Doran, L., Auty, M. A. E., Arendt, E., & Gallagher, E. (2015). Physicochemical assessment of two fruit by-products as functional ingredients: Apple and orange pomace. *Journal of Food Engineering*, *153*, 89–95. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.12.014>
- 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>
- Popescu, L., Ceşco, T., Gurev, A., Ghendov-Mosanu, A., Sturza, R., & Tarna, R. (2022). Impact of Apple Pomace Powder on the Bioactivity, and the Sensory and Textural Characteristics of Yogurt. *Foods*, *11*(22), 3565. <https://doi.org/10.3390/foods11223565>
- Pulido, R., Bravo, L., & Saura-Calixto, F. (2000). Antioxidant Activity of Dietary Polyphenols As Determined by a Modified Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(8), 3396–3402. <https://doi.org/10.1021/jf9913458>
- Rago, D., Gürdeniz, G., Ravn-Haren, G., & Dragsted, L. O. (2015). An explorative study of the effect of apple and apple products on the human plasma metabolome investigated by LC–MS profiling. *Metabolomics*, *11*(1), 27–39. <https://doi.org/10.1007/s11306-014-0668-4>
- Rana, S., Gupta, S., Rana, A., & Bhushan, S. (2015). Functional properties, phenolic constituents and antioxidant potential of industrial apple pomace for utilization as active food ingredient. *Food Science and Human Wellness*, *4*(4), 180–187. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2015.10.001>
- Shah, B. R., Zhang, C., Li, Y., & Li, B. (2016). Bioaccessibility and antioxidant activity of curcumin after encapsulated by nano and Pickering emulsion based on chitosan-tripolyphosphate nanoparticles. *Food Research International*, *89*, 399–407. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.08.022>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent (pp. 152–178). [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Tumbas, V., Cetkovic, G., Djilas, S., Canadanovic-Brunet, J., Vulic, J., Knez, Z., & Skerget, M. (2010). Antioxidant activity of mandarin (*Citrus reticulata*) peel. *Acta Periodica Technologica*, *41*, 195–203. <https://doi.org/10.2298/APT1041195T>
- Vendruscolo, F., Albuquerque, P. M., Streit, F., Esposito, E., & Ninow, J. L. (2008). Apple pomace: A versatile substrate for biotechnological applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, *28*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1080/07388550801913840>
- Wang, H., Wang, J., Fang, Z., Wang, X., & Bu, H. (2010). Enhanced bio-hydrogen production by anaerobic fermentation of apple pomace with enzyme hydrolysis. *International Journal of Hydrogen Energy*, *35*(15), 8303–8309. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2009.12.012>

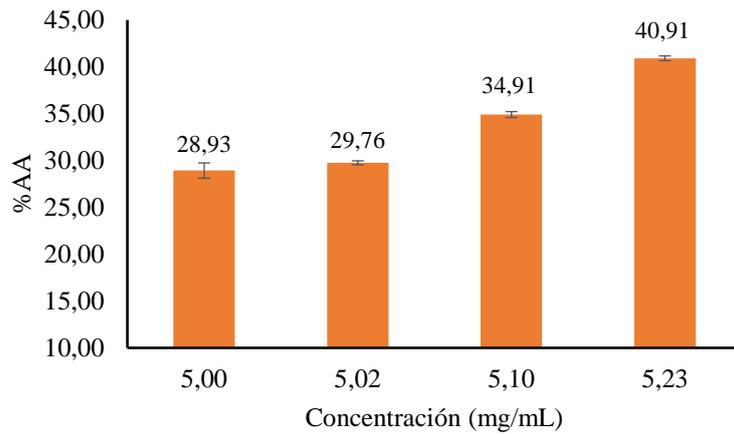
- Wang, L., Xu, H., Yuan, F., Pan, Q., Fan, R., & Gao, Y. (2015). Physicochemical characterization of five types of citrus dietary fibers. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *4*(2), 250–258. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2015.02.003>
- Wang, X., Kristo, E., & LaPointe, G. (2019). The effect of apple pomace on the texture, rheology and microstructure of set type yogurt. *Food Hydrocolloids*, *91*, 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.004>
- Wang, Y., Qian, J., Cao, J., Wang, D., Liu, C., Yang, R., Li, X., & Sun, C. (2017). Antioxidant Capacity, Anticancer Ability and Flavonoids Composition of 35 Citrus (*Citrus reticulata* Blanco) Varieties. *Molecules*, *22*(7), 1114. <https://doi.org/10.3390/molecules22071114>
- 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>
- Yi, L., Ma, S., & Ren, D. (2017). Phytochemistry and bioactivity of Citrus flavonoids: a focus on antioxidant, anti-inflammatory, anticancer and cardiovascular protection activities. *Phytochemistry Reviews*, *16*(3), 479–511. <https://doi.org/10.1007/s11101-017-9497-1>
- 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)

## 7. ANEXOS

### ANEXO I: Porcentaje de inhibición (%AA) de BA y BM



*Figura 12: Porcentaje de inhibición (%AA) del bagazo de manzana (BA) según las concentraciones empleadas en los ensayos (mg/mL).*



*Figura 13: Porcentaje de inhibición (%AA) del bagazo de mandarina (BM) según las concentraciones empleadas en los ensayos (mg/mL).*