

EFFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS Y LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN EL RESIDUO DE LA PRODUCCIÓN DE JUGO DE MANDARINA (*Citrus reticulata* Satsuma)

Esparza-Martínez F. J.^{1*}, Miranda-López R.¹, Guzmán-Maldonado S. H.²

¹Instituto Tecnológico de Celaya (ITC), Av. Tecnológico y A. García Cubas S/N Col. Fovissste. C.P. 38010. Celaya Gto. México. ²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campus Bajío. Carretera Celaya-San Miguel de Allende KM 6.5 Col. Roque. C.P. 38110. Celaya, Gto. México. *javier_090683@hotmail.com

RESUMEN

Dentro del grupo de los cítricos la mandarina contiene muchos compuestos funcionales que ayudan en el combate contra enfermedades crónico degenerativas. En la industria del jugo, que aumentan cada año, el residuo de la extracción de jugo de mandarina es desechado provocando contaminación. Este residuo podría ser utilizado para generar fibras antioxidantes que están apareciendo en el mercado. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto que tiene el proceso de secado sobre la calidad funcional de los residuos de mandarina. Se cosechó mandarina de un huerto comercial. La mandarina se exprimió y se recuperó el residuo el cual fue secado a 60, 90 y 120 °C. Después del secado a las muestras se les determinaron los fenoles totales, flavonoides, taninos y la capacidad antioxidante. La humedad inicial del residuo fue de 83.4%. La humedad final en promedio, después de secado de las muestras fue del 4.5%. Al aumentar la temperatura de secado aumentó hasta un 30% el contenido de fenoles totales, 25% en el contenido de flavonoides y más del doble los taninos totales. El mismo comportamiento se observó en los tres métodos de capacidad antioxidante utilizados. Se presentó un aumento en el DPPH hasta de un 98%, un aumento del 90% con el método de TEAC-ABTS y hasta un 20% con el método de FRAP.

ABSTRACT

Within the group of citrus the mandarin contains many functional compounds that help in the fight against chronic degenerative diseases. In the juice industry increases every year, the extraction residue mandarin juice is discarded generating pollution. This residue could be used to generate antioxidants fibers that are appearing on the market. The aim of this work was to study the effect of drying on the functional quality of waste mandarin. Mandarin a commercial orchard was harvested. Squeezed mandarin and the residue which was dried at 60, 90 and 120°C recovered. After drying the samples were determined total phenols, flavonoids, tannins and antioxidant capacity. The initial moisture of the residue was 83.4%. The final moisture on average, after drying of the samples was 4.5%. By increasing the drying temperature increased to 30% the total phenolic content, 25% flavonoid content and more than double the total tannins. The same

behavior was observed in the three methods used antioxidant capacity. DPPH increased to 98%, an increase of 90 % with TEAC-ABTS method and up to 20% with the method presented FRAP.

Palabras clave: Compuestos fenólicos, capacidad antioxidante, cinéticas de secado.

Área: Alimentos funcionales.

INTRODUCCIÓN

El residuo, producto de la extracción de jugo de mandarina, es un desecho a nivel industrial y al menudeo. En general, el residuo representa más del 50% de la fruta. Se calcula que la industria de los jugos genera aproximadamente 15 millones de toneladas de residuos que en algunos casos se utiliza para elaborar otros productos, pero en su mayoría son desechados como basura (Sáenz *et al.*, 2007).

En años recientes, apreció en el mercado lo que se denominan fibras antioxidantes; ejemplo de lo anterior son las fibras de uva (Pozuelo *et al.*, 2012) que se generan a partir del residuo generado por la producción de jugo. El término fibras antioxidantes fue acuñado recientemente por Saura-Calixto. (2011), y se refiere a aquel producto que es rico en fibra y que lleva ligado compuestos funcionales. Se sabe que las fibras antioxidantes proveen beneficios importantes a la salud (Herrera *et al.*, 2009) pero que en algunos casos, contienen compuestos funcionales íntimamente unidos a ella que no pueden ser liberados en el estómago o intestino delgado y que son llevados por la fibra hasta el colon donde son liberados por la fermentación que ahí se lleva a cabo (Saura-Calixto *et al.*, 2007). Estos compuestos son de naturaleza fenólica principalmente. En consecuencia, las fibras antioxidantes proveen beneficios a la salud con un doble efecto (Hanlin *et al.*, 2010).

MATERIALES Y MÉTODOS

Las mandarinas se cosecharon en un huerto comercial del municipio del Márquez en el estado de Querétaro. Fueron cosechadas en el estado de madurez de consumo según la norma mexicana de calidad (NOM-079-FITO-2002). El residuo se obtuvo después de extraer el jugo en un exprimidor (Hamilton Beach Brands, China, 2008). Con fines comparativos, una parte del residuo se liofilizo y la otra parte fue sometida a los diferentes procesos de secado.

Secado de la muestra

Muestras de residuo de mandarina se secaron en un túnel con aire caliente (Armfield, Estados Unidos, 1999) a 60, 90 y 120°C, hasta obtener una humedad relativa de 4.5%. Las cinéticas de secado fueron monitoreadas y registradas por el equipo cada minuto hasta alcanzar la humedad requerida (Mei-Ling *et al.*, 2011). Por otro lado, también se secó una muestra con el método de liofilización (LABCONCO Freezone 6, Kansas US, 1994). Esta muestra fue utilizada con fines comparativos dado que este proceso no modifica los compuestos presentes originalmente en la fibra recién producida.

Obtención del extracto

Para la extracción de los compuestos fenólicos se utilizó el método de Wu *et al.* (2004). Este método utiliza una solución acuosa de metanol al 80% (v/v). La muestra y el metanol se agitan por 10 min 8000 rpm, se sónica por 20 min y se centrifuga a 2000 rpm por 10 min y se recupera el sobrenadante. El residuo se somete a una segunda extracción y ambos sobrenadantes se mezclan. Este extracto se utilizó realizar todos los análisis.

Cuantificación de fenoles totales, flavonoides y taninos totales

Para la cuantificación de los fenoles totales se realizó con el método del Folin Ciocalteu (Wolfe *et al.*, 2003). Las muestras se leyeron en un espectrofotómetro a 630 nm y los resultados se comparan con una curva estándar de ácido gálico. El contenido de fenoles totales se reportó como mg equivalentes de ácido gálico/100g de muestra seca (mg EAG/100gms). Los flavonoides se cuantificaron con el método de Oomah *et al.* (2005) que utiliza 2-aminoetildifenilborato al 10%. La muestra se lee a una longitud de onda de 404 nm. Se empleó la rutina para la preparara una curva de calibración. La concentración de flavonoides se expresó como mg equivalentes de rutina/100g de muestra seca (mg ER/100gms). La determinación de taninos condensados se realizó de acuerdo a la metodología de Feregrino-Pérez *et al.* (2008) usando metil-vanilina-HCl (1:1, v/v, metil-vanilina al 1%-HCl y al 4%). Las muestras se leyeron a 540 nm. Se preparó una curva de calibración con catequina. La concentración de taninos se reportó como mg equivalentes de catequina/100g de muestra seca (mg EC/100gms).

Capacidad antioxidante por DPPH, TEAC-ABTS, FRAP y ORAC

Para el método del 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), se siguió el protocolo reportado por Kim *et al.* (2002). Las muestras se leyeron en un espectrofotómetro a 515 nm. Para el método del ácido 2,2'-azinobis-3-etil-benzotiazolin-6-sulfónico (TEAC-ABTS) se utilizó el propuesto por Van der Berg *et al.* (1999). El radical ABTS° se generó con ABTS y persulfato de amonio. Las muestras se leyeron a 734 nm. La capacidad antioxidante reductora del ion hierro (FRAP) se usó el método de Benzie y Strain. (1996) con el TPTZ (2,4,6-tripiridil-2-triazina). Las muestras se leyeron a 490 nm. Los resultados de las

capacidades antioxidantes compararon con una curva estándar de Trolox y los resultados se expresaron como mg equivalentes en TROLOX/100 gramos de muestra seca (mg ET/100 g).

Análisis estadístico

Los resultados se presentan como promedio \pm desviación estándar de un triplicado. El análisis estadístico fue un diseño de bloques aleatorizados. A los datos se les realizó un análisis de varianza y una comparación de medias por el método de Tukey Kramer con un error del 5%.

RESULTADOS

Las cinéticas de secado muestran que a 60 °C el residuo de mandarina alcanzó la humedad requerida en aproximadamente 19 h, a 90 °C tardó aproximadamente 15 h, mientras que a 120 °C se llevó aproximadamente 8 h para secar el residuo (Figura 1). En contraste el residuo sometido a la liofilización tardó aproximadamente 4 días en secarse. Es obvio que al aumentar la temperatura, el tiempo de secado se reduce; sin embargo, comparado con la liofilización, el secado en el horno es más práctico y económico. Como se sabe, la liofilización requiere de un proceso de congelación de la muestra al menos a -20 °C, junto con el alto costo del equipo de liofilización hace que el proceso sea prohibitivo desde el punto de vista económico. Sin embargo, es necesario evaluar el efecto de estas temperaturas sobre la calidad funcional del residuo de mandarina.

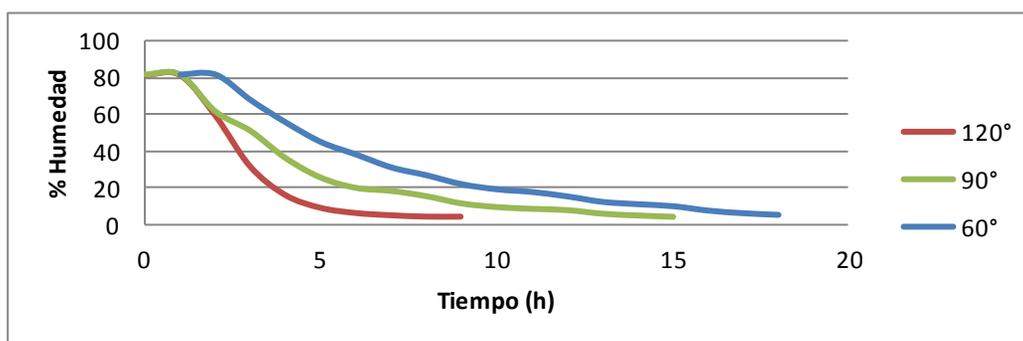


Figura 1. Cinéticas de secado a diferentes temperaturas del residuo de mandarina.

Como resultado de someter el residuo de mandarina al secado con tres temperaturas diferentes, se observó que al aumentar la temperatura el contenido de fenoles totales

(FT) aumento hasta en un 20% (Tabla 1). Al comparar el contenido de FT en la muestra liofilizada con el de la muestra secada a 120 °C, esta presentó 21.4% menos FT que la liofilizada. Aparentemente este nivel de pérdida es significativa; sin embargo, es importante llevar a cabo la capacidad antioxidante para evaluar el verdadero efecto de esta reducción.

Un comportamiento similar se observó con los flavonoides totales (FLT) y los taninos condensados (TC). Cuando la temperatura de secado se incrementó el contenido de ambos compuestos se incrementaron (Tabla I). Por ejemplo, los FLT se incrementaron de 2.54 a 3.21 mg/100 g mientras que los TC lo hicieron de 0.43 a 1.23 mg/100 g. Como se puede observar no se observó ningún efecto de la temperatura sobre los FLT y los TC, dado que en general el nivel de estos compuestos es el mismo tanto en la muestra liofilizada como en las muestras secadas con diferentes temperaturas.

Tabla I. Contenido de fenoles, flavonoides y taninos totales en el residuo de mandarina.

Temperatura (°C)	Fenoles totales (mg EAG/100 g)	Flavonoides totales (mg ER/100 g)	Taninos condensados (mg EC/100 g)
-49 (liofilizado)	13.06 ± 0.03 a	2.75 ± 0.01 b	0.44 ± 0.01 c
60	8.23 ± 0.47 d	2.54 ± 0.01 c	0.43 ± 0.01 c
90	9.38 ± 0.09 c	2.77 ± 0.13 b	0.69 ± 0.01 b
120	10.26 ± 0.15 b	3.21 ± 0.18 a	1.23 ± 0.04 a

EAG = Equivalentes a ácido gálico; ER = Equivalentes a rutina; EC = Equivalentes a catequina. Promedios con letras iguales en la misma columna, son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05).

La capacidad antioxidante DPPH de la muestra liofilizada es 56%, 34% y 12.5% mayor a las muestras secadas a 60, 90 y 120 °C, respectivamente (Tabla II). Este comportamiento es similar al observado en el efecto de la temperatura de secado sobre el contenido de FT, FLT y TC. En otras palabras, cuando la temperatura de secado se incrementa, la capacidad antioxidante DPPH también se incrementa. Este mismo comportamiento se observó en la capacidad antioxidante TEAC-ABTS, cuando la temperatura de secado se incrementa, la capacidad antioxidante se incrementa de 310.38 hasta 574.71 mg ET/100 g. Es decir, el incremento fue de hasta un 41%.

Por el contrario, el efecto de la temperatura de secado sobre la capacidad antioxidante FRAP fue mucho menor que en las capacidades antioxidantes DPPH y TEAC-ABTS (Tabla II). Se puede observar que el incremento en el nivel de FRAP entre la muestra secada a 60°C y la secada a 120 °C fue de tan solo 7.26 unidades.

También se observó que en comparación con la muestra liofilizada, la capacidad antioxidante FRAP de las muestras secadas a 60 y 90 °C se redujo a la mitad y en la muestra secada a 120 °C se redujo en un 30%.

DISCUSIÓN

Hincapié-Llanos *et al.* (2010) y Kuljarachanan *et al.* (2009) reportaron que la temperatura de secado tiene un efecto negativo sobre los compuestos funcionales como la fibra dietaria del residuo de la extracción del jugo de naranja y la limonina y nomilina del residuo de lima respectivamente. Sin embargo, Borchani *et al.* (2011) y Mei-Ling *et al.* (2011), indicaron que en la cáscara de naranja y limón secada a 120°C, los FT, FLT y TC se incrementan. Estos resultados concuerdan con lo reportado en el presente trabajo.

Tabla II. Capacidad antioxidante DPPH, TEAC-ABTS y FRAP en residuo de mandarina.

Temperatura (°C)	DPPH (mg ET/100gms)	TEAC-ABTS (mg ET/100gms)	FRAP (mg ET/100gms)
-49 (liofilizado)	161.04 ± 10.19 ^a	342.21 ± 22.38 ^d	81.91 ± 0.53 ^g
60	71.27 ± 3.14 ^b	310.38 ± 15.35 ^d	43.08 ± 0.59 ^h
90	106.38 ± 2.55 ^c	447.07 ± 14.17 ^e	49.69 ± 0.79 ⁱ
120	140.82 ± 12.72 ^a	574.71 ± 14.25 ^f	50.34 ± 0.63 ⁱ

DPPH = 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH); TEAC/ABTS = Capacidad antioxidante equivalente en TROLOX por el radical 2,2'-azinobis-3-etil-benzotiazolin-6-sulfónico; FRAP = Capacidad reductora del ion fierro en plasma; ET = Equivalente en TROLOX. Promedios con letras iguales en la misma columna, son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05).

Por otro lado, la temperatura de secado no afecta el contenido de FT, FLT y TC, por el contrario lo incrementa significativamente. Esto significa que se puede evitar el proceso de liofilizado el cual es obviamente mucho más costoso que el secado en túneles (Xi *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2014). El secado a 120 °C no solo aumenta significativamente los compuestos estudiados, también aumenta la capacidad antioxidante de las muestras. Esto permite concluir que además se tiene el beneficio de disminuir el tiempo de secado y en consecuencia la demanda de energía.

Los resultados de este trabajo demuestran que el residuo de mandarina, producto de la producción de jugo, puede ser aprovechado como acarreador de compuestos que pueden contribuir a la salud. Es deseable, evaluar el contenido de fibra soluble e insoluble en este producto así como su comportamiento en productos generados por la industria alimentaria, como el de la panadería y los lácteos, entre otros.

Los residuos de mandarina presentan propiedades funcionales atractivas dando valor agregado a un producto de desecho que contamina el medio ambiente.

BIBLIOGRAFÍA:

- Benzie, F. F., and Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) es a measure of "antioxidant power". The FRAP assay. *Anal. Biochem*, 239: 70-76.
- Borchani, C., Besbes, S., Masmoudi, M., Blecker, C., Paquot, M., & Attia, H. (2011). Effect of drying methods on physico-chemical and antioxidant properties of date fibre concentrates. *Food Chemistry*, 125: 1194-1201.
- Feregrino-Pérez, A. A., Berumen, L. C., García-Alcocer, G., Guevara-Gonzalez, R. G., Ramos-Gomez, M., Reynoso-Camacho, R., & Loarca-Piña, G. (2008). Composition and Chemopreventive Effect of Polysaccharides from Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) on Azoxymethane-Induced Colon Cancer. *Journal Agriculture and Food Chemistry*, 56(18): 8737-8744.
- Hanlin, r.l., Hrmova, M., Harbertson, J.F., Downey, M. O. (2010). Condensed tannins and grape cell wall interactions and their impact on tannins extractability into wine. *American Journal Grape Wine Res.* 16: 173-188.
- Herrera, E., Jimenez, R., Aruoma, O. I., Hercberg, S., Sanchez-Garcia, I., Fraga, C. (2009). Aspects of antioxidant foods and supplements in health and disease. *Nutrition Rev.* 67: S140-S144.
- Hincapié-Llanos, G. A., Omaña-Yañez, M. M., Hincapié-Llanos, C. A., Arias-Gómez, Z., & Vélez-Acosta, L. M. (2010). Efecto de la temperatura de secado sobre las propiedades funcionales de la fibra dietaria presente en la citropulpa. *Revista Lasallista de Investigación*, 7(2): 85-93.
- Kim, D. O., Lee, K. W., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2002). Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 3713-3717.
- Kuljarachanan, T., Davahastin, S., & Chiewchan, N. (2009). Evolution of antioxidant compounds in lime residues during drying. *Food Chemistry*, 113: 944-949.
- Mei-Ling, C., Deng-Jye, Y., & Shih-Chuan, L. (2011). Effects of drying temperature on the flavonoid, phenolic acid and antioxidative capacities of the methanol extract citrus (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) peel. *International Journal of Food Science & Technology*, 46:1179-1185.
- Oomah, B. D., Cardador-Martínez, A., & Loarca-Piña, G. (2005). Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L). *Journal Science of Food and Agriculture*, 85: 4619-4626.
- Pozuelo, M. J., Agis-Torres, A., Hervert-Hernández, D., López-Oliva, M. E., Muñoz-Martínez, E., Rotger, R., Goñi, I. (2012). Grape antioxidant dietary fiber stimulates *Lactobacillus* growth in rat cecum. *Journal of Food Science.* 47: H59-H62.
- Sáenz, C., Estévez, A. M., & Sanhueza, S. (2007). Utilización de residuos de la industria de jugos de naranja como fuente de fibra dietética en la elaboración de alimentos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 57(2): 186-191.
- Saura-Calixto, F., Serrano, J., Goni, I. (2007). Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chemistry.* 101: 492-501.

- Saura-Calixto, F. (2011). Dietary fiber as a carrier antioxidants: an essential physiological function. *Journal Of Agricultural and Food Chemistry*, 59: 43-49.
- Van der Berg, R., Haenen, G. R., Van der Berg, H., & Bast, A. (1999). Application of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity of measurement of mixture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(5): 511-517.
- Wolfe, K., Xianzhong, W., & Liu, R. H. (2003). Antioxidant activity of apple peels. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57: 506-511.
- Wu, X., Gu, L., Holden, J., Haytowitz, D. B., Gebhardt, S. E., Beecher, G., & Prior, R. L. (2004). Development of a database for total antioxidant capacity in foods. *Journal Food Compos. Anal.*, 17: 407-422.
- Xi, W., Zhang, Y., Sun, Y., Shen, Y., Ye, X., & Zhou, Z. (2014). Phenolic composition of Chinese wild mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) pulps and their antioxidant properties. *Industrial Crops and Products*, 52: 466-474.
- Zhang, Y., Sun, Y., Xi, W., Shen, Y., Qiao, L., Zhong, L., . . . Zhou, Z. (2014). Phenolic composition and antioxidant capacities of Chinese wild mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) fruits. *Food Chemistry*, 145: 674-680.