



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO



Facultad de Química

**PROGRAMA DE POSGRADO EN ALIMENTOS DEL CENTRO DE LA
REPÚBLICA (PROPAC)**

**“EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ULTRASONIDO SOBRE
LAS PROPIEDADES FUNCIONALES Y ANTIDIABÉTICAS
DEL SUBPRODUCTO DE NARANJA”**

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de:
MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Presenta:

IBQ. Lucía Ramírez Montoya

Expediente: **255324**

Dirigido por:

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

Santiago de Querétaro, Querétaro, Enero de 2018



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

Facultad de Química.

Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos.

EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE ULTRASONIDO SOBRE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES Y ANTIDIABÉTICAS DEL SUBPRODUCTO DE NARANJA

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de: Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos.

Presenta:

IBQ. Lucía Ramírez Montoya

Dirigido por:

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

Presidente

Dr. Eduardo Castaño Tostado

Secretario

Dra. Minerva Ramos Gómez

Vocal

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano

Suplente

Dr. Sergio de Jesús Romero Gómez

Suplente

MSP. Sergio Pacheco Hernández

Director de la Facultad

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña

Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario

Querétaro, Qro.

Enero, 2018

RESUMEN

Los subproductos agroindustriales cítricos son una fuente alimenticia de fibra dietética y antioxidantes, y pueden ser tratados con tecnologías emergentes para mejorar sus propiedades funcionales. Con ultrasonido de alta intensidad, los compuestos insolubles pueden ser parcialmente despolimerizados y solubilizados, aumentando la biodisponibilidad de compuestos fenólicos libres, lo que podría aumentar sus propiedades benéficas a la salud. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la aplicación de ultrasonido sobre el subproducto de naranja, determinar su composición fitoquímica y evaluar sus propiedades funcionales y antidiabéticas. Se evaluó el tratamiento del subproducto de naranja con ultrasonido, variando el sistema de ultrasonido (baño y sonda), así como la frecuencia (28 y 40 KHz), potencia (158, 300 y 442 W), temperatura (20, 40 y 60 °C) y tiempo (1, 3 y 5 min) utilizando diseños factoriales 2^2 con puntos al centro. Se determinaron las propiedades de hidratación y el contenido de flavonoides totales. El ultrasonido tipo baño no mejoró ningún parámetro evaluado y el tipo sonda a 300 W por 3 min incrementó las propiedades de hidratación del subproducto de naranja en un 46-70%. El ultrasonido tipo sonda fue seleccionado para las siguientes determinaciones. Comparado con el subproducto sin tratar, el subproducto de naranja tratado con ultrasonido presentó mayor contenido de fibra dietaria total ($\pm 13.5\%$), fibra soluble ($\pm 42.5\%$) y capacidad de hinchamiento ($\pm 27.4\%$). Sin embargo, se disminuyó el contenido de fenoles extraíbles y taninos condensados. Finalmente, se realizó un estudio *in vivo* con ratas macho Wistar para evaluar las propiedades antidiabéticas del subproducto. La suplementación de la dieta alta en grasa con el subproducto de naranja (8% de fibra) no mejoró los niveles de glucosa, ni protegió las células β -pancreáticas; mientras que, el daño renal de las ratas fue incrementado. La suplementación de la dieta alta en grasa con el subproducto de naranja tratado con ultrasonido (8% de fibra) no presentó beneficios, a pesar del aumento de sus propiedades funcionales. El subproducto de naranja sin tratar y tratado con ultrasonido en las condiciones seleccionadas no es una alternativa viable para combatir un estado de enfermedad como la diabetes.

Palabras clave: Subproducto de naranja, ultrasonido, diabetes mellitus, fibra.

ABSTRACT

Agroindustrial citrus by-products are an important source of dietary fiber and antioxidants, which can be treated with emerging technologies to improve their functional properties. One of these technologies is high intensity ultrasound, where the insoluble compounds can be partially depolymerized and solubilized, increasing the bioavailability of free phenolic compounds, and their beneficial properties to health. The purpose of this study was to evaluate the effect of the ultrasound application in orange by-product, to determine its phytochemical composition and evaluate its functional and antidiabetic properties. The ultrasound treatment at the orange byproduct was evaluated varying the ultrasound system (bath and probe), frequency (28 and 40 KHz), power (158, 300 and 442 W), temperature (20, 40 and 60 ° C) and time (1, 3 and 5 min) using factorial designs 2^2 with points at center. The hydration properties and the total flavonoid content were determined. Ultrasonic bath did not improve any parameters evaluated. However, ultrasound probe at 300 W for 3 min increased hydration properties up to 46-70%, so this treatment was chosen for the following determinations. Compared with the untreated by-product, the ultrasound-modified orange by-product had a higher content of total dietary fiber ($\pm 13.5\%$), soluble fiber ($\pm 42.5\%$) and swelling capacity ($\pm 27.4\%$). However, the content of extractable phenols and condensed tannins was decreased. Finally, an *in vivo* study was performed with male Wistar rats to evaluate the antidiabetic properties of the by-product. High-fat diet with supplementation of orange by-product (8% fiber) did not improve glucose levels, nor did it protect pancreatic β -cells; whereas, the renal damage of the rats was increased. High-fat diet with the ultrasound-modified orange by-product supplementation (8% fiber) showed no benefits, despite the increase in its functional properties. The untreated orange byproduct and ultrasound-modified orange by-product under the selected conditions are not a viable alternative to treat a disease state like diabetes.

Keywords: Orange byproduct, ultrasound, diabetes mellitus, fiber.

DEDICATORIAS

A mi mayor tesoro en la vida...

Mi familia... a quienes les debo todo lo que soy.

A mi **mamá**, Clemencia, por siempre brindarme su amor y amistad de manera incondicional, por darme fuerza para seguir luchando cuando más hundida me siento, por darme su apoyo en cualquier momento y más cuando lo necesito, por creer siempre en mí. ¡Gracias por tanto! TE AMO MAMÁ.

A mi **papá**, Juan Manuel, por ser el gran hombre que es, por brindarme su amor incondicional, por estar siempre dispuesto a ayudarme, por cuidarme, por ser mi ángel protector, por estar siempre para mí sin importar las circunstancias. ¡Gracias por todo! TE AMO PAPÁ.

A mi **hermana** Beatriz, por ser una mujer tan valiosa y maravillosa, que no importa la edad que yo tenga siempre me cuidará y protegerá como si fuese una niña... por tu amor y amistad incondicional, por tu apoyo cuando más lo he necesitado y por todos los momentos increíbles que hemos pasado juntas...TE AMO HERMANITA.

A mis **sobrinas** hermosas Dana Vanessa y Addison Pamela, por ser un apoyo incondicional a pesar de su corta edad, por todo el amor y la comprensión que me brindan, por los ratos tan gratos que me hacen pasar y por todo lo que he aprendido de ellas... LAS AMO.

A toda mi **familia**, por todo el amor, apoyo y comprensión que me han brindado en los tiempos más difíciles.

A **Roberto Carlos Bárcenas**, por todo su apoyo, confianza, ayuda, paciencia, comprensión y amor incondicional a lo largo de todo este tiempo. Gracias por estar siempre ahí, para escucharme, para aconsejarme, para tranquilizarme, para alentarme y para guiarme. Te agradezco por cada momento que has sido mi inspiración para convertirme en una mejor persona. ¡TE AMO TANTO!

AGRADECIMIENTOS

Primero que nada, le agradezco a Dios por permitirme vivir y disfrutar de esta etapa de aprendizaje, satisfacción y crecimiento personal rodeada de las personas que más amo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para la realización de mis estudios de posgrado.

A la Universidad Autónoma de Querétaro y al Programa de Posgrado en Alimentos del Centro de la República, por el apoyo brindado para la realización de este proyecto.

A la Dra. Rosalía Reynoso Camacho, por dejarme formar parte de su equipo de trabajo y dirigir este proyecto. Gracias por confiar en mí y por proporcionarme todo lo que estuvo a su alcance para poder llevar a cabo todos los experimentos. Gracias por su apoyo, tiempo, dedicación y sus enseñanzas

Al Dr. Eduardo Castaño Tostado por sus consejos, por estar siempre dispuesto a brindarme su ayuda y por sus aportaciones al proyecto

A la Dra. Minerva Ramos Gómez por todas las correcciones realizadas a la tesis y por los comentarios al proyecto.

A la Dra. Silvia Lorena Amaya Llano por estar siempre dispuesta a brindarme su ayuda, por facilitarme equipo necesario para este proyecto y por sus aportaciones.

Al Dr. Sergio de Jesús Romero Gómez por ayudarme cuando fue necesario y por las sugerencias y comentarios a este proyecto.

A todo el personal administrativo, en especial a Carmelita por su buena disposición y apoyo.

A mis grandes amigos, que sin duda alguna llegaron a ser las personas más maravillosas que he tenido el placer y honor de tener en mi vida: Silvana, Jessy, Marthita, Lily y David, quienes siempre estuvieron a mi lado brindándome su amor,

comprensión y apoyo, gracias por hacer de mi vida algo maravilloso, por cuidarme, regañarme y apoyarme incondicionalmente... LOS AMO.

A mis amigos y compañeros del laboratorio de Bioquímica Molecular: A mi hermanita de generación Alecita, gracias por la hermosa amistad que me brindas y por todo el apoyo y ayuda que me diste cuando más lo necesité, eres una persona maravillosa con un corazón de oro. A Elicita, gracias por ser como una madre para mí en este tiempo, gracias por todos los consejos, por el apoyo y toda la ayuda que siempre nos brindas, eres una persona extraordinaria. A la pequeña Gloria, gracias por la amistad tan sincera que me manifiestas y por estar siempre dispuesta a ayudarme, eres una gastrónoma asombrosa. A Julio, por ser un excelente amigo y persona, gracias por tu amistad y por todas las veces que me ayudaste con mis ratitas, tienes un corazón muy noble y una alegría muy característica. Al pequeño Alex por su amistad sincera, por estar siempre dispuesto a ayudarme y por ser una persona maravillosa. A Dianita por su amistad sincera y por estar siempre dispuesta a compartirme sus amplios conocimientos. A Gerardo por su hermosa amistad y por estar siempre dispuesto a ayudarme. A Gersain por ayudarme cuando lo necesite y por todos los dulces. A Magda por compartir sus experiencias y conocimientos y por mostrar siempre disposición a ayudar. A Haiku por compartir sus conocimientos y por mostrar siempre disposición para ayudar. A Sarahi y a Rocío, por comunicar todas sus experiencias y conocimientos.

A los estudiantes de servicio Brenda, Montse, Belem, Gaby, Marce y Paty, por ayudarme siempre con una buena actitud y la mejor disposición. En especial a Anahí, por siempre estar dispuesta a ayudarme y por todo el tiempo que me brindo su amistad y compañía.

A mis amigas de generación, Andy e Iriana, por su hermosa amistad y por todo el apoyo y la ayuda que siempre me brindaron.

A Samicita por su amistad invaluable y por todas las veces que hizo posible que realizara mis experimentos en su laboratorio.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
DEDICATORIAS	v
AGRADECIMIENTOS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE CUADROS	xiii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1. Diabetes.....	3
2.1.1. Clasificación etiológica de la diabetes y principales causas.....	3
2.1.1.1. Diabetes tipo 1	3
2.1.1.2. Diabetes tipo 2	3
2.1.2. Principales alteraciones metabólicas.....	3
2.1.3. Complicaciones de la diabetes	4
2.1.4. Tratamiento de la diabetes	4
2.2. Fibra dietética	5
2.3. Cítricos.....	8
2.4. Subproductos agroindustriales.....	8
2.4.1. Naranja (<i>Citrus sinensis</i>)	10
2.5. Tecnologías emergentes aplicadas a los alimentos.....	13
2.5.1. Ultrasonido	13
2.5.1.1. Despolimerización	15
3. JUSTIFICACIÓN	17
4. HIPÓTESIS	18
5. OBJETIVOS	19

5.1. GENERAL.....	19
5.2. ESPECÍFICOS.....	19
6. METODOLOGÍA	20
6.1. Material biológico	20
6.1.1. Animales de experimentación.....	20
6.1.2. Subproducto de naranja	20
6.2. Métodos	20
6.2.1. Tratamiento con ultrasonido de alta intensidad	20
6.2.2. Caracterización fisicoquímica y funcional del subproducto	22
6.2.2.1. Determinación del color.....	22
6.2.2.2. Capacidad de absorción de agua (CAA) y aceite (CAa)	22
6.2.2.3. Densidad aparente	23
6.2.2.4. Densidad real	23
6.2.2.5. Porosidad	23
6.2.2.6. Capacidad de hinchamiento.....	23
6.2.2.7. Índice de Solubilidad en Agua (ISA) e Índice de Absorción de Agua (IAA)	24
6.2.2.8. Viscosidad.....	24
6.2.2.9. Determinación de azúcares reductores.....	24
6.2.3. Determinación de compuestos benéficos a la salud de los subproductos y las formulaciones	25
6.2.3.1. Determinación de la fibra dietaria total, soluble e insoluble	25
6.2.3.2. Extracción de compuestos fenólicos extraíbles.....	25
6.2.3.3. Cuantificación de fenoles totales.....	26
6.2.3.4. Extracción etanólica de compuestos fenólicos extraíbles	26
6.2.3.5. Determinación de flavonoides totales.....	26
6.2.3.6. Cuantificación de taninos condensados	26
6.2.3.7. Obtención de polifenoles hidrolizables	27
6.2.3.8. Cuantificación de carotenoides	27
6.2.4. Análisis proximal del suplemento	28

6.2.5. Evaluación de propiedades fisicoquímicas	28
6.2.5.1. Determinación de la capacidad de adsorción de glucosa	28
6.2.5.2. Efecto en la difusión de glucosa <i>in vitro</i>	29
6.2.5.3. Efecto de las muestras en la cinética de amilolisis <i>in vitro</i>	29
6.2.6. Evaluación sensorial de las muestras de naranja sin tratar y tratadas	29
6.2.7. Estudio <i>in vivo</i>	30
6.2.7.1. Aclimatación de los animales de experimentación	30
6.2.7.2. Inducción de diabetes con estreptozotocina	30
6.2.4.3. Evaluación del efecto antidiabético del subproducto de naranja ...	31
6.3. Diseño y análisis estadístico	33
7. Resultados y discusión.....	34
7.1. Tratamiento con ultrasonido.....	34
7.2. Caracterización parcial del subproducto	39
7.2.1. Determinación de color por el sistema CIELAB.....	39
7.2.2. Caracterización fitoquímica del subproducto de naranja	41
7.2.3. Contenido de fibra dietaria del subproducto de naranja	42
7.2.4. Análisis proximal del subproducto de naranja	45
7.2.5. Propiedades funcionales del subproducto de naranja.....	46
7.2.6. Caracterización fisicoquímica del subproducto de naranja.....	47
7.2.7. Evaluación sensorial de las muestras de subproducto de naranja sin tratar y tratadas	54
7.3. Ensayos <i>in vivo</i>	55
7.3.1. Efecto del subproducto de naranja sobre el consumo de alimento de ratas diabéticas	55
7.3.2. Efecto del subproducto de naranja sobre el peso corporal de ratas diabéticas	57
7.3.3. Efecto del subproducto de naranja sobre la concentración de glucosa sanguínea de ratas diabéticas	58
7.3.4. Efecto del subproducto de naranja sobre el tamaño de los islotes de Langerhans de ratas diabéticas	60

7.3.5. Efecto del subproducto de naranja sobre marcadores de daño renal de ratas diabéticas	62
8. CONCLUSIONES	65
9. BIBLIOGRAFÍA	66
Sitios web	81

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Equipo de baño ultrasónico (Cole-Parmer Ultrasonic Cleaner, Heater/Digital Timer)	21
Figura 2. Equipo de sonda ultrasónica (Cole Parmer 500 Watt Ultrasonic Homogenizer).....	22
Figura 3. Escala hedónica de nueve puntos utilizada en la evaluación sensorial.	30
Figura 4. Consumo de alimento de ratas macho Wistar experimentales durante las 6 semanas de tratamiento	56
Figura 5. Peso corporal de ratas macho Wistar experimentales durante las 6 semanas de tratamiento	58
Figura 6. Concentración de glucosa sanguínea en sangre periférica de ratas macho Wistar experimentales durante las 5 semanas de tratamiento antes del sacrificio.	59
Figura 7. Microfotografías representativas del análisis histopatológico de los islotes de Langerhans de ratas macho Wistar experimentales..	61

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación de la fibra	7
Cuadro 2. Uso de cítricos en México	10
Cuadro 3. Estudios <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> de la naranja y sus efectos en la salud.....	11
Cuadro 4. Diseño factorial 2 ² con puntos al centro a considerar en el equipo de baño ultrasónico	21
Cuadro 5. Diseño 2 ² con puntos al centro a considerar en el equipo de sonda ultrasónica	21
Cuadro 6. Grupos experimentales para la evaluación del efecto antidiabético del suplemento alimenticio	31
Cuadro 7. Propiedades del subproducto de naranja variedad March tratado con ultrasonido tipo baño	35
Cuadro 8. Propiedades del subproducto de naranja variedad March tratado con ultrasonido tipo baño a tiempos largos	37
Cuadro 9. Propiedades del subproducto de naranja variedad March tratado con ultrasonido tipo sonda	38
Cuadro 10. Medición de color CIELAB del subproducto de naranja tratado con ultrasonido.....	40
Cuadro 11. Caracterización fitoquímica del subproducto de naranja tratado con ultrasonido.....	41
Cuadro 12. Contenido de fibra dietaria del subproducto de naranja tratado con ultrasonido.....	44
Cuadro 13. Análisis proximal del subproducto de naranja.....	45
Cuadro 14. Propiedades funcionales del subproducto de naranja tratado con ultrasonido.....	47
Cuadro 15. Caracterización fisicoquímica del subproducto de naranja sometido a ultrasonido.....	48
Cuadro 16. Capacidad de adsorción de glucosa y glucosa enlazada del subproducto sometido a ultrasonido	49

Cuadro 17. Efecto de los subproductos tratados con ultrasonido sobre la difusión de glucosa.....	50
Cuadro 18. Efectos de los subproductos tratados con ultrasonido sobre el índice de retraso de la diálisis de glucosa (GDRI)	51
Cuadro 19. Efecto de los subproductos tratados con ultrasonido sobre la digestibilidad del almidón <i>in vitro</i>	52
Cuadro 20. Efecto de los subproductos tratados con ultrasonido sobre el porcentaje de inhibición de la enzima α -amilasa.....	53
Cuadro 21. Evaluación sensorial de los subproductos de naranja	54
Cuadro 22. Evaluación de atributos de los subproductos de naranja	55
Cuadro 23. Determinación de glucosa en suero de ratas macho Wistar experimentales después del sacrificio.....	60
Cuadro 24. Efecto del subproducto de naranja tratado con ultrasonido en los islotes de Langerhans	61
Cuadro 25. Parámetros de daño renal en ratas macho Wistar experimentales ...	63

1. INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica que afecta al 12% de la población en México. La diabetes no controlada daña gravemente a muchos órganos, nervios y vasos sanguíneos (INEGI, 2013; IDF, 2014; OMS, 2016).

En este síndrome, además de la hiperglucemia, existe una disminución de los sistemas antioxidantes endógenos, y un incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno. Esto último está relacionado con el desarrollo, la progresión y las complicaciones de la diabetes (Johansen *et al.*, 2005; Ramos *et al.*, 2006; Chang y Chuang, 2010).

Una dieta rica en antioxidantes y fibra puede ser un tratamiento complementario, de fácil acceso y de bajo costo, que ayude a la prevención y control de esta enfermedad y sus complicaciones (Maritim *et al.*, 2003; Rahimi *et al.*, 2005; Serrano *et al.*, 2009).

La fibra dietaria soluble reduce la glucosa postprandial, incrementa la saciedad, disminuye la hidrólisis del almidón y la absorción del colesterol. La fibra dietética insoluble incrementa la sensación de saciedad y es un regulador intestinal (Slavin *et al.*, 2013). Ambos tipos de fibra se han asociado con un aumento de la sensibilidad periférica a la insulina (Silva *et al.*, 2013).

Los posibles mecanismos de los antioxidantes en la diabetes se relacionan con una estimulación de la secreción de insulina en el páncreas y un aumento de la captación de glucosa en los tejidos blanco de la hormona (Reyes *et al.*, 2011); además disminuyen el estrés oxidativo en el organismo del paciente diabético (Rodríguez-Perón *et al.*, 2001).

De manera natural estos dos componentes bioactivos se encuentran en cantidades importantes en los subproductos de frutas, los cuales llegan a representar del 35% al 65% de la producción total, y estos compuestos bioactivos pueden ser aprovechados para su uso como aditivos en alimentos nutraceuticos (Larrauri *et al.*, 1996; Saura-Calixto *et al.*, 2011).

Los cítricos se consumen principalmente como productos frescos y jugo, por lo que siempre se desecha la cáscara, la cual presenta cantidades considerables de fibra dietaria, vitaminas A, C y del complejo B, minerales como el calcio, selenio, manganeso, zinc, entre otros, con mayor contenido comparado con la pulpa. Los polifenoles totales y flavonoides en las cáscaras de naranjas son significativamente más altos que en la pulpa (Gorinstein *et al.*, 2001; Manthey y Grohman, 2001; Ramful *et al.*, 2010a, 2010b, 2011).

La aplicación de ultrasonido de alta intensidad es una alternativa para potenciar los compuestos benéficos que se encuentran en la naranja, ya que ofrece un potencial importante para la conversión de materias primas de biomasa, como los carbohidratos poliméricos, a moléculas asimilables de menor peso (Kardos y Luche, 2001).

Es por todo lo anterior que el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación de ultrasonido sobre el subproducto agroindustrial de naranja y determinar su composición fitoquímica, así como sus propiedades funcionales y antidiabéticas.

2. ANTECEDENTES

2.1. Diabetes

La diabetes constituye un grupo heterogéneo de trastornos metabólicos de carácter crónico, caracterizados por una condición de hiperglucemia constante, es decir, una concentración elevada de glucosa en sangre (≥ 126 mg/dL ó 7.0 mmol/L) (Al *et al.*, 2004). Esta enfermedad se presenta cuando el páncreas no produce insulina suficiente o cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina que produce. La insulina es una hormona que regula el azúcar en la sangre (OMS, 2016).

Con el tiempo, la hiperglucemia daña gravemente diversos órganos y sistemas, especialmente los nervios y los vasos sanguíneos; además coexisten alteraciones en el metabolismo de las grasas y de las proteínas (Rojas *et al.*, 2012; OMS, 2016).

2.1.1. Clasificación etiológica de la diabetes y principales causas

2.1.1.1. Diabetes tipo 1

El principal factor es el genético y es causado por la destrucción de células β -pancreáticas por un proceso del tipo inmunitario. Se caracteriza por una producción deficiente de insulina y requiere la administración diaria de esta hormona. Representa entre el 5 y 10% de los casos del síndrome diabético (LeRoit *et al.*, 2003; OMS, 2016).

2.1.1.2. Diabetes tipo 2

Producida por una deficiencia de insulina o la resistencia a la insulina. Es decir, las células β -pancreáticas no producen suficiente insulina y la insulina no se reconoce de manera eficaz en el hígado, tejido adiposo y/o muscular. Esta clase de diabetes es la más frecuente en la población adulta, corresponde entre el 90 y 95% de los casos de síndrome diabético y se debe en gran medida a un peso corporal excesivo y a la inactividad física (LeRoit *et al.*, 2003; OMS, 2016).

2.1.2. Principales alteraciones metabólicas

La falta de insulina produce una disminución del transporte de glucosa al músculo y al tejido adiposo. Por otro lado, la disminución de insulina en el hígado, así como el

relativo exceso de glucagón, producen un aumento en la degradación del glucógeno y activación de la gluconeogénesis. Debido a la falta de acción de la insulina, no se regula la enzima fosfoenol piruvato carboxicinasa (PEPCK); esto en conjunto contribuye al estado de hiperglucemia (Hanhineva *et al.*, 2010). La escasez de glucosa en las células como fuente de energía da como consecuencia la necesidad de utilizar las grasas y degradar las proteínas, principalmente musculares, para la obtención de aminoácidos. La degradación proteica aumenta la producción de urea y un balance negativo de nitrógeno y la lipólisis también se favorece por la falta de glucosa en el adipocito, además, el aumento relativo de glucagón produce la salida de ácidos grasos, parte de los cuales se utilizan como combustible y/o se transforman a cuerpos cetónicos en el hígado (Fernández, 1996).

Por otro lado, no todos los ácidos grasos (AG) que llegan al hígado pueden oxidarse. Este exceso de AG se convierte en triacilglicerol (TAG), que se empaqueta en las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Los quilomicrones son sintetizados después de una comida a partir de los lípidos alimentarios por las células de la mucosa intestinal. Como la degradación de las lipoproteínas catalizada por la lipoproteín lipasa en los lechos capilares del tejido adiposo es baja en las personas con diabetes, los niveles plasmáticos de quilomicrones y VLDL son elevados, lo que provoca una hipertrigliceridemia (Ferrier, 2014).

2.1.3. Complicaciones de la diabetes

Las complicaciones pueden ser microvasculares (lesiones de los vasos sanguíneos pequeños) y macrovasculares (lesiones de vasos sanguíneos más grandes). Las complicaciones microvasculares son lesiones oculares (retinopatía) y lesiones renales (nefropatía). Las complicaciones macrovasculares son las enfermedades cardiovasculares, como los ataques cardíacos, los accidentes cerebrovasculares y la insuficiencia circulatoria en los miembros inferiores (OMS, 2016).

2.1.4. Tratamiento de la diabetes

Las estrategias de tratamiento se dividen en no farmacológicas, como la dieta y el ejercicio, y las farmacológicas, que se dividen en medicamentos orales e insulina

(Santa Cruz y Castillo, 2002). La obtención de un buen control metabólico puede retrasar o evitar la aparición de complicaciones micro y macrovasculares (Holman *et al.*, 2008).

Por otra parte, existen estrategias de bajo costo y fácil acceso a la población, como una alternativa de este tipo de estrategias están las terapias ricas en antioxidantes y en fibra, que de manera sinérgica ayudan a prevenir y disminuir el deterioro funcional orgánico originado por el estrés oxidativo común en las personas diabéticas (Rahimi *et al.*, 2005; Serrano *et al.*, 2009; Hanhineva *et al.*, 2010; Saura, 2012).

2.2. Fibra dietética

La fibra dietética es definida por la Comisión del Codex Alimentario como polímeros de carbohidratos con diez o más unidades monoméricas que no son digeribles en el intestino delgado de los seres humanos. Se dividen en las siguientes categorías: (1) polímeros de carbohidratos comestibles de origen natural en los alimentos tal como se consumen; (2) polímeros de carbohidratos, que se obtiene de materia prima alimentaria por medios físicos, enzimáticos o químicos; (3) polímeros de carbohidratos sintéticos (Jones, 2014).

Saura-Calixto (2011) recomienda que la definición de fibra se podría extender a otros constituyentes no digeribles (carbohidratos y no carbohidratos) como almidón resistente, oligosacáridos, compuestos polifenólicos, proteínas indigeribles de la pared celular, y materiales derivados de animales como los amino polisacáridos.

La fibra dietética también puede clasificarse de acuerdo a su solubilidad en agua como solubles e insolubles. La fibra soluble incluye el almidón resistente, pectinas, gomas, mucílagos, algunas hemicelulosas y polisacáridos no amiláceos de reserva de la planta. Son compuestos muy hidratables que forman geles en el tracto digestivo; por lo que sus efectos fisiológicos son el retraso en el vaciamiento gástrico o el enlentecimiento y disminución de la absorción de ciertos nutrientes en el intestino delgado (colesterol, azúcar, vitaminas y minerales). Al llegar al colon, sufren un proceso de fermentación por las bacterias allí presentes, produciéndose

ácidos grasos de cadena corta (ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico) (Aranceta, 2007). Esta fibra se encuentra en altas concentraciones en frutas, algas marinas, avena, ciruelas, zanahoria, cítricos, judías secas y otras legumbres (Lajolo *et al.*, 2001; Escudero y González, 2006).

La fibra insoluble incluye la celulosa, algunas hemicelulosas y lignina. Es poco fermentable por las bacterias colónicas. Presenta un importante papel en la formación y el tránsito intestinal del bolo fecal, aumentando el volumen del mismo y disminuyendo su tiempo de tránsito (Aranceta, 2007). Alimentos ricos en fibra insoluble son: la harina de trigo, el salvado, guisantes, repollo, vegetales de raíz, cereales y frutas maduras (Escudero y González, 2006). Sin embargo, se sabe que algunas fibras insolubles son rápidamente fermentadas y ciertas fibras solubles no afectan a la absorción de glucosa. Por lo tanto, la fibra se clasifica en función de su comportamiento en contacto con el agua (fibra soluble e insoluble) y de su fermentabilidad (fibras no fermentables, fibras parcialmente fermentables, fibras fermentables). También, podemos dividir la fibra según su estructura en carbohidratos de cadena larga o de cadena corta (Eswaran *et al.*, 2013). Dentro de las fibras solubles, podemos clasificarlas en viscosas (psyllium, betaglucanos, goma guar, salvado de avena) y no viscosas (inulina, maltodextrina, goma guar parcialmente hidrolizada) (Chutkan *et al.*, 2012) (**Cuadro 1**).

Las diferentes fuentes de fibras van a tener un perfil de fermentación variable y los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) generados tienen diversos efectos positivos en el organismo: aumentan la absorción de calcio y otros minerales; disminuyen el pH del colon, con lo cual inhiben el crecimiento de patógenos y a su vez promueven el crecimiento de bacterias benéficas, tales como bifidobacterias y lactobacilos; disminuyen los niveles de glucosa, ácidos grasos libres y colesterol (Papathanasopoulos y Camilleri, 2010; Conterno *et al.*, 2011).

Hay una tendencia a buscar nuevas fuentes de fibra dietética que se pueden utilizar como ingredientes en la industria de la alimentación (Rodríguez *et al.*, 2006; Redondo-Cuenca *et al.*, 2008). Los productos de fibra dietética más consumidos son los derivados de los cereales. Sin embargo, durante la última década se han

introducido materiales con alto contenido de fibra dietética de frutas (cítricos, manzana, entre otros) de forma continua en los mercados del mundo occidental. En general, los concentrados de fibra dietética de frutas tienen una mejor calidad nutricional que los encontrados en los cereales, debido a su composición más equilibrada y a sus contenidos significativos de compuestos bioactivos asociados (vitaminas, tocoferoles, polifenoles, fitoesteroles, flavonoides, carotenoides, entre otros) (Vergara-Valencia *et al.*, 2007; Fernández-López *et al.*, 2009).

Cuadro 1. Clasificación de la fibra

<p>a) Carbohidratos de cadena corta: solubles y altamente fermentables. -fructooligosacáridos; galactooligosacáridos: rafinosa, esteaquirosa. <i>Fuentes:</i> legumbres, nueces, semillas, trigo, centeno, ajo, alcachofa.</p>
<p>b) Carbohidratos de cadena larga:</p> <p>b1) fibra soluble y altamente fermentable: -almidón resistente; goma guar, goma de carauba o de algarrobo, goma arábica, goma tragacanto; glucomanano; pectina; inulina; dextrina de trigo <i>Fuentes:</i> legumbres, centeno, cebada, bananas, trigo, sarraceno, mijo, avena, patata, arroz, pasta cocida y enfriada.</p> <p>b2) Fibra soluble y medianamente fermentable: -psyllium/ispagula (<i>Plantago ovata</i>); avena (betaglucano) <i>Fuentes:</i> semillas de la planta <i>Plantago ovata</i> y avena.</p> <p>b3) fibra insoluble y escasamente fermentable: -salvado de trigo; lignina <i>Fuentes:</i> muchos vegetales y frutas, salvado de trigo, centeno, arroz integral, pasta integral, quinoa, semillas de lino.</p> <p>b4) fibra insoluble y no fermentable: -celulosa; metilcelulosa; goma estercúlea <i>Fuentes:</i> granos y cereales, nueces, semillas. Piel de frutas y vegetales.</p>

Chutkan *et al.*, 2012.

2.3. Cítricos

El género *Citrus*, cuyo término común es cítrico, designa las especies de grandes arbustos o arbolillos perennes (entre 5-15 m), cuyos frutos de la familia Rutaceae poseen un alto contenido en vitamina C y ácido cítrico, el cual les proporciona ese sabor ácido tan característico. Este género incluye las frutas más ampliamente comercializadas, como el limón, la naranja, la lima, el pomelo y la mandarina, con diversas variedades que dependen de la región en la que se cultive (Sandoval Rincón, 2011).

Los 5 principales productores de cítricos a nivel mundial en el 2014 fueron: China, Brasil, India, Estados Unidos de América y México (FAOSTAT, 2017). La producción de cítricos en México en 2016 fue de 7'500,752 ton, cultivándose en mayor porcentaje naranja, limón y toronja (SIAP, 2017).

Los cítricos proporcionan vitaminas, minerales, fibras dietéticas y pectinas; también contienen fitoquímicos activos incluyendo fitofenólicos (por ejemplo, flavanonas, flavonas, flavonoles, ácidos fenólicos) que son ampliamente sugeridos para proteger la salud por sus propiedades biológicas, que incluyen actividad antiaterogénica, antiinflamatoria, antitumoral, antimicrobiana y antioxidante (Middleton y Kandaswami, 1994; Montanari *et al.*, 1998; Samman *et al.*, 1998; Gorinstein *et al.*, 2001). Por lo cual, el consumo tradicional de los cítricos tienen efectos en la prevención de enfermedades como la obesidad, diabetes, enfermedades cardiovasculares, trastornos neurodegenerativos y ciertos tipos de cáncer y en la reducción de los niveles de lípidos en sangre (Miyake *et al.*, 2006; Benavente-García y Castillo, 2008; Yoshida *et al.*, 2010; Aruoma *et al.*, 2012; Hwang *et al.*, 2012; Mulero *et al.*, 2012).

2.4. Subproductos agroindustriales

Durante algunos procesos agroindustriales se generan subproductos o residuos y si ellos no son reciclados o procesados apropiadamente, se generan diversos problemas ambientales. Algunos subproductos son quemados o vertidos en rellenos sanitarios produciendo una gran liberación de dióxido de carbono y contaminación

de cursos de aguas. Su eliminación supone un problema de gestión para las empresas productoras. Sin embargo, estos materiales son fuentes que pueden llegar a ser atractivas por su contenido en compuestos químicos (como azúcares, pigmentos, fibra alimentaria, proteína, polifenoles, lignina, entre otros) y pueden ser potencialmente útiles cuando se les transforma mediante tratamientos físicos, químicos o microbiológicos en productos de elevado valor agregado (Yepes *et al.*, 2008).

Dentro de las materias primas de la industria alimentaria, las frutas y vegetales se caracterizan por ser las que mayores residuos generan. Durante las últimas décadas ha aumentado la industrialización de subproductos de cítricos: pulpa para mejorar el aroma y el sabor de zumos reconstituidos, cortezas de cítricos como ingredientes de piensos para alimentación animal, aceites esenciales del flavedo, empleados para aromatizar, terpenos que tienen numerosas aplicaciones en la industria química, pectinas empleando como materia prima y carotenoides como pigmentos naturales para la mejora de la coloración de los jugos simples y concentrados, bebidas refrescantes, caramelos duros, helados o yogur (Yepes *et al.*, 2008).

Particularmente, es de gran interés la industria de jugos, ya que en el procesamiento de frutas para este fin se generan de manera importante residuos, que van del 35 al 60%, con un bajo contenido en azúcares y alto contenido en fibra, vitaminas y antioxidantes, los cuales no han sido explotados en nuestro país para fines nutracéuticos (Larrauri *et al.*, 1996; Ajila *et al.*, 2007).

Los cítricos se consumen principalmente como productos frescos y jugo (**Cuadro 2**), por lo que a menudo se desecha la cáscara. Esto representa una enorme pérdida ya que se ha reportado que las cáscaras de cítricos poseen las mayores cantidades de flavonoides en comparación con otras partes de la fruta (Manthey y Grohman, 2001).

Cuadro 2. Uso de cítricos en México

Fruto	Para procesar	Consumo en fresco	Exportación
Limón/lima	15.95%	61.01%	23.04%
Naranja	30.06%	68.90%	1.04%
Toronja	19.67%	77.01%	3.32%

(USDA, 2016)

De acuerdo a la base de datos nacional de nutrientes del departamento de agricultura de los Estados Unidos (USDA), la cáscara de los cítricos contiene cantidades considerables de vitamina A, vitaminas del complejo B, vitamina C (ácido ascórbico), minerales como el calcio, selenio, manganeso, zinc, entre otros, con un contenido mayor que su pulpa. Los polifenoles totales en las cáscaras de los limones, naranjas y pomelos son significativamente más altos que en las frutas peladas (Gorinstein *et al.*, 2001; Ramful *et al.*, 2010a, 2010b, 2011).

Hasta la fecha, las cáscaras de cítricos son empleadas principalmente para la extracción de pectinas, aceite esencial, compuestos bioactivos y fibra funcional; para producción de bioetanol y como alimento para animales (Bampidis y Robinson, 2006; Marín *et al.*, 2007; Bousbia *et al.*, 2009; Boluda-Aguilar *et al.*, 2010; De Moraes *et al.*, 2012; Khan *et al.*, 2015).

2.4.1. Naranja (*Citrus sinensis*)

La naranja es una de las fuentes más abundantes de vitamina C entre las frutas y verduras; también es una buena fuente de carotenoides, flavonoides, aceites esenciales, azúcar, fibra y algunos minerales (Niu *et al.*, 2008). El 85% de las naranjas se consumen generalmente en forma de jugo de naranja recién exprimido, jugo concentrado o pasteurizado. Esto genera toneladas de subproducto después de la producción. Por lo general, este subproducto se destina para alimentos para animales o se elimina, lo cual es un costo para el productor (Topuz *et al.*, 2005).

Chau y Huang (2003) reportaron el contenido de fibra dietética de la cáscara de naranja (cultivar 'Liucheng') y encontraron que la cáscara contiene 57% de fibra dietética total en peso seco; de éste 47.6% fue la fracción insoluble y 9.4% fue la fracción soluble. Se determinó también que los polisacáridos pécticos y celulosa

fueron los principales constituyentes de la fibra. Figuerola *et al.*, (2005) reportaron valores de 54% de fibra dietética en peso seco en la cáscara de naranja (cultivar 'Valencia'), y Grigelmo-Miguel y Martín-Belloso (1999) reportaron valores de 38% en peso seco. Ambos autores determinaron que la fracción principal de fibra dietética en naranja es la fracción insoluble.

Las naranjas contienen una gran variedad de fitoquímicos tales como flavanonas, en particular hesperidina que representa el 50% del total de compuestos fenólicos, flavonas tales como neodiosmina y ácido hidroxicinámico tales como el ácido ferúlico (Fernández-López *et al.*, 2009). Roussos (2011) identificó hesperidina (236.4 mg/L) como el principal flavonoide que se encuentra en naranja seguido de narirutina (71.4 mg/L) y sólo cantidades traza de β -caroteno (0.43 mg/L) en las naranjas. Varios estudios realizados con extractos de la cáscara de naranja han demostrado que tiene actividad antidiabética, antihipercolesterolémica y antiperoxidativa (**Cuadro 3**) (Parmar y Kar, 2007; Ahmad *et al.*, 2013; Parkar y Addepalli, 2014; Muhtadi *et al.*, 2015). Debido a sus características, la cáscara de naranja puede ser considerada como un ingrediente viable para una amplia variedad de productos (O'Shea *et al.*, 2012).

Cuadro 3. Estudios *in vitro* e *in vivo* de la naranja y sus efectos en la salud

Material	Extracto	Modelo	Efecto
Semilla	Acuoso	<i>In vitro</i>	↑ Actividad antiglicación
Cáscara	Acuoso	Ratas macho Swiss diabéticos-Alloxan	Potencial antidiabético y antiperoxidativo
	Etanólico	Ratas diabéticas-Estreptozotocina	↓ Glucosa en sangre ↓Tiempo de cerrar heridas
		Ratas Wistar diabéticas-Alloxan	Actividades antidiabética y antihipercolesterolémica
	Alcohólico	Ratas diabéticas-Estreptozotocina	Prevención de la nefropatía diabética
Jugo		Personas con riesgo cardiovascular	↑ Función endotelial ↓ Inflamación

(Parmar y Kar, 2007; Buscemi *et al.*, 2012; Ahmad *et al.*, 2013; Deve *et al.*, 2014; Parkar y Addepalli, 2014; Muhtadi *et al.*, 2015).

Con respecto a los flavonoides presentes en la naranja, se ha reportado un efecto benéfico para apigenina, diosmina, hesperidina, naringenina, naringina, rutina y tangeretina. La apigenina disminuye el nivel de glucosa en sangre, aumenta la actividad de enzimas antioxidantes y la secreción de insulina e inhibe citocinas inflamatorias (Panda y Kar 2007; Cazarolli *et al.*, 2009; Suh *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2014). La diosmina estimula la producción de insulina por las células β existentes del páncreas, disminuye el nivel de glucosa en sangre, la glicación y la peroxidación lipídica, aumenta el peso corporal y enzimas antioxidantes (Vertommen *et al.*, 1994; Srinivasan y Pari 2012, 2013; Jain *et al.*, 2014). Por su parte, la hesperidina disminuye el nivel de glucosa en la sangre, peroxidación lipídica y citocinas inflamatorias, regula la glucólisis, la gluconeogénesis, las reservas de glucógeno hepático y el metabolismo de los lípidos, aumenta enzimas antioxidantes y reduce el estrés oxidativo y la apoptosis (Jung *et al.*, 2004; Akiyama *et al.*, 2009a, 2009b; Mahmoud *et al.*, 2012; Ashafaq *et al.*, 2014; Agrawal *et al.*, 2014). La naringenina disminuye la hiperglucemia, estimula la secreción de insulina, inhibe la actividad de la α -glucosidasa intestinal; disminuye el colesterol y la síntesis de ésteres de colesterol, mejora la sensibilidad a la insulina y la tolerancia a la glucosa, aumenta enzimas antioxidantes y reduce el estrés oxidativo y citocinas inflamatorias (Mulvihill *et al.*, 2009; Rahigude *et al.*, 2012; Yoshida *et al.*, 2013; Bhattacharya *et al.*, 2014; Hasanein y Fazeli 2014; Priscilla *et al.*, 2014). Por otro lado, La naringina disminuye la glucemia, la trigliceridemia, la colesterolemia, la insulinemia y la resistencia a la insulina, aumenta enzimas antioxidantes y reduce citoquinas inflamatorias (Jung *et al.*, 2006; Sharma *et al.*, 2011; Pu *et al.*, 2012). La rutina disminuye el nivel de glucosa en sangre, aumenta la secreción de insulina, inhibe citocinas inflamatorias, mejora los perfiles de lípidos y antioxidantes, disminuye la peroxidación lipídica y el estrés oxidativo y protege las células β del páncreas (Kamalakkannan y Prince 2006; Akondi *et al.*, 2011, Niture *et al.*, 2014; Ola *et al.*, 2015). Por su parte, la tangeretina tiene actividad antiinflamatoria, aumenta la excreción de insulina y la producción de glucógeno (Kim *et al.*, 2012; Sundaram *et al.*, 2014).

2.5. Tecnologías emergentes aplicadas a los alimentos

El desarrollo de las tecnologías emergentes en el procesamiento de alimentos aborda las necesidades específicas de los consumidores hacia alimentos seguros, saludables y mínimamente procesados (Toepfl *et al.*, 2006). Los objetivos principales de estas tecnologías son reducir el tiempo de procesamiento, ahorrar energía y mejorar la vida útil y la calidad de los productos alimenticios (Chemat y Khan, 2011). La alta presión hidrostática (HHP), los campos eléctricos pulsados (PEFs), el ultrasonido (US) y el plasma frío (CP) se utilizan para ejemplificar técnicas de fabricación de alimentos escalables y flexibles (Knorr *et al.*, 2011).

La aplicación de tecnologías emergentes puede reemplazar, mejorar o modificar técnicas convencionales de producción de alimentos, manteniendo o mejorando la calidad y la inocuidad de los alimentos (Toepfl *et al.*, 2006).

2.5.1. Ultrasonido

Durante los últimos años, el procesamiento asistido por ultrasonido ha atraído un interés creciente en el campo de la ciencia y la tecnología de los alimentos. Se han notificado efectos positivos en diversas aplicaciones, como la asistencia a tratamientos térmicos, la mejora de los procesos de transferencia de masa y la conservación de alimentos, así como para la manipulación y análisis de texturas (Knorr *et al.*, 2011).

El ultrasonido consta de ondas elásticas cuya frecuencia se transmite sobre el umbral del oído humano (aproximadamente 20 kHz) (Mason *et al.*, 2005). Se pueden distinguir tres tipos de ondas: longitudinales, que se desplazan en el sentido del ordenamiento de las partículas; ondas tipo esquiroleo, que se mueven de forma perpendicular a tal ordenamiento; y las tipo Rayleigh, que viajan muy cercanas a la superficie (Mulet *et al.*, 2002). Cuando la energía sonora es transferida a un medio, se forman ondas longitudinales que causan compresión y rarefacción continuas de materiales elásticos (Povey y Mason, 1998).

Desde el punto de vista industrial, el ultrasonido se puede dividir en dos grandes grupos: Ultrasonido de alta intensidad (UAI) y el ultrasonido de baja intensidad

(UBI). El UAI es usado para modificar procesos o productos, mientras que el UBI se aplica para el diagnóstico (Condón *et al.*, 2005).

Las frecuencias altas son más fácilmente atenuadas que las bajas, de ahí que el UAI es aplicado a bajas frecuencias (20-100 kHz) para obtener “niveles de poder altos” (10-1000 W/cm²), por lo que también se le conoce como ultrasonido de poder. Por otro lado, el UBI, utiliza frecuencias mayores (250 kHz a 1 MHz o superiores) para garantizar una adecuada resolución, pero a “niveles de poder bajos”, típicamente menores a 1 W/cm² (Torley y Bhandari, 2007).

El ultrasonido es generado por una corriente eléctrica que se transforma mediante transductores. Los equipos modernos ultrasónicos consisten en un generador eléctrico y un transductor. El generador produce pulsos de energía de alto voltaje a la frecuencia establecida en el transductor, siendo éste el componente más importante del sistema (Mason, 1998). El transductor es movido por la potencia suministrada de un primer sistema a un segundo. El transductor genera el principio piezoeléctrico para convertir la energía eléctrica en ultrasónica con una eficiencia del 98% (Mason *et al.*, 2005). Los dos equipos más comunes a nivel laboratorio son el baño ultrasónico y las puntas ultrasónicas. Los sistemas más poderosos de ultrasonido son los que utilizan puntas sónicas, ya que introducen la vibración directamente en la muestra (Mason, 1998; Zenker *et al.*, 2003).

Cuando el ultrasonido pasa a través de un medio líquido, la interacción entre las ondas ultrasónicas, el líquido y el gas disuelto conduce a un fenómeno conocido como cavitación acústica (AC), que consiste en que los núcleos de gas disuelto oscilan bajo la influencia del campo acústico debido a la presión fluctuante alrededor de ellos. Durante las oscilaciones, el gas disuelto y el vapor disolvente difunden dentro y fuera de las burbujas oscilantes. Debido al proceso de difusión rectificadora, la cantidad de gas/vapor que se difunde en las burbujas durante la fase de expansión es mayor que la cantidad que se difunde fuera de la burbuja durante la fase de compresión de la oscilación de la burbuja. Esto conduce al crecimiento de las burbujas hacia un intervalo de tamaño de resonancia. Cuando las burbujas alcanzan el rango de tamaño de resonancia, crecen hasta un tamaño máximo dentro

de un ciclo acústico y violentamente se colapsan generando condiciones de temperatura muy alta (2000-10000 K) dentro de las burbujas de colapso (Ashokkumar y Mason, 2007; Chandrapala *et al.*, 2012).

Además de generar reacciones químicas, la cavitación acústica también genera violentas fuerzas físicas que incluyen microjets, fuerzas de corte, ondas de choque y turbulencia (Ashokkumar y Mason, 2007). En algunas aplicaciones, tanto las fuerzas físicas como las reacciones químicas son útiles (Chandrapala *et al.*, 2012).

Hay un gran número de aplicaciones potenciales del ultrasonido de alta intensidad en el procesamiento de alimentos como en la filtración, la desgasificación, la desaireación, la despolimerización, la cocción, la extrusión, el cortado, la congelación, la cristalización, la descongelación, el secado, la esterilización, la pasteurización, la emulsificación, la homogeneización y como antiespumante (Chemat y Khan, 2011).

2.5.1.1. Despolimerización

Una de las aplicaciones más antiguas del ultrasonido es la degradación de los polímeros (Schmid y Rommel, 1939). El proceso de despolimerización se produce a través de los efectos de la cavitación y puede implicar dos posibles mecanismos: degradación mecánica del polímero por la burbuja de cavitación colapsada y degradación química como resultado de la reacción química entre el polímero y moléculas de alta energía como radicales hidroxilo producidos por el fenómeno de cavitación (Grönroos *et al.*, 2004).

En la industria alimentaria, un área activa es el uso de ultrasonido para despolimerizar almidón (Zuo *et al.*, 2009) La sonicación proporciona generalmente una ruta de despolimerización eficaz en términos de mejores velocidades, rendimientos y quimio, regio y estereo selectividades y éstos se realizan generalmente usando sondas de inmersión simples que funcionan a 20 kHz (Jambrak *et al.*, 2009). La aplicación de ultrasonidos de baja potencia provocará generalmente una reducción temporal de la viscosidad de los líquidos poliméricos. Sin embargo, altas potencias causarán despolimerización y resultarán en un cambio permanente en su reología. Tales cambios permanentes son de uso en la

elaboración de alimentos (Seshadri *et al.*, 2003; Iida *et al.*, 2008). De hecho, la frecuencia del ultrasonido, la potencia del ultrasonido, la temperatura, el tiempo de procesamiento y otros parámetros en el procesamiento de alimentos deben ser evaluados no sólo para ver sus efectos positivos, sino también sus impactos negativos en la calidad de los alimentos y la estructura (Jambrak *et al.*, 2010).

La irradiación por ultrasonidos ofrece un potencial importante para la conversión de materias primas de biomasa, como los carbohidratos poliméricos a moléculas útiles de menor peso (Kardos y Luche, 2001). Recientemente, un estudio comparativo entre el ultrasonido y algunas otras tecnologías innovadoras como la radiación- γ y el calentamiento con microondas demostró la ultrasonicación como el procedimiento más conveniente para despolimerizar xiloglucano (Vodeničarová *et al.*, 2006) y hialuronano (Dřimalová *et al.*, 2005).

En el trabajo realizado por Sujka y Jamroz (2013), se concluyó que el tratamiento ultrasónico de almidones de papa, trigo, maíz y arroz en agua o etanol dio como resultado una despolimerización y cambios en sus propiedades funcionales, los almidones sonicados se caracterizaron por tener las mayores capacidades de absorción de aceite y agua, solubilidad y capacidad de hinchamiento en comparación con sus homólogos nativos.

La fibra soluble obtenida mediante ultrasonido del orujo de manzana, en comparación con el método convencional con ácido, tiene valores más altos de capacidad de retención de agua, capacidad de hinchamiento y capacidad de retención de aceite (Li *et al.*, 2014). Estas propiedades dependen de la naturaleza de la superficie de la fibra, porosidad y tamaño de partícula (Elleuch *et al.*, 2011), por lo que aquellos con gran área superficial pueden presentar una alta capacidad para adsorber y unir agua y aceite. La fibra dietética con propiedades de alta hidratación puede utilizarse como ingrediente funcional para evitar la sinéresis y modificar la textura de algunos alimentos formulados (Grigelmo-Miguel y Martín-Belloso 1999). El ultrasonido podría ayudar a la disrupción de la pared celular de los tejidos a través de los efectos de la cavitación (Bagherian *et al.*, 2011).

3. JUSTIFICACIÓN

La diabetes es una enfermedad metabólica cuyas repercusiones clínicas, sociales y económicas son cada vez mayores, ya que año con año tiene un incremento gradual en su incidencia y prevalencia. En este sentido, México ocupa el sexto lugar de prevalencia a nivel mundial. Las complicaciones de este síndrome son la segunda causa de muerte en nuestro país, lo que está estrechamente relacionado con la condición de estrés oxidativo en el que se encuentra el organismo de la persona diabética, lo cual es ocasionado a su vez, principalmente, por la condición de hiperglucemia crónica.

En la actualidad, para disminuir esta problemática se ha incrementado el uso de alternativas naturales para complementar los tratamientos farmacológicos convencionales, entre las cuales se incluye una dieta rica en fibra y antioxidantes, ya que estos dos componentes bioactivos ayudan a disminuir los efectos perjudiciales de la enfermedad y a prevenir sus complicaciones.

Una fuente de fibra dietética son los subproductos de frutas. Se ha demostrado que el subproducto de la extracción de jugo de naranja es rico en fibra, compuestos fenólicos, vitaminas y carotenoides.

Recientemente, se han implementado diversas tecnologías emergentes para mejorar la calidad de los alimentos, entre las que destaca el ultrasonido de alta intensidad ya que genera despolimerización y cambios permanentes en la reología de un producto, lo que permite generar productos con características funcionales (capacidad de retención de agua y capacidad de hinchamiento), fisicoquímicas (porosidad y viscosidad) y organolépticas diferentes.

Por todo lo anterior, en el presente trabajo se evaluó el efecto de la aplicación de ultrasonido sobre el subproducto de naranja y evaluar su potencial efecto antidiabético, con el objetivo de aprovechar subproductos de origen natural que pudieran ser alternativas para el control de enfermedades crónico-degenerativas relacionadas con el estrés oxidativo como la diabetes.

4. HIPÓTESIS

El tratamiento con ultrasonido de los subproductos generados en la extracción de jugo de naranja provocará la ruptura de las paredes celulares, el aumento de la fibra soluble y de su porosidad, así como una mayor disponibilidad de sus compuestos bioactivos mejorando su actividad para el control de la glucosa y protección renal.

5. OBJETIVOS

5.1. GENERAL

Evaluar el efecto de la aplicación de ultrasonido sobre la composición fitoquímica del subproducto de naranja así como sus propiedades funcionales y antidiabéticas.

5.2. ESPECÍFICOS

1. Evaluar el efecto de la aplicación de ultrasonido variando el sistema de aplicación, el tiempo, la potencia, la temperatura y la frecuencia, sobre las propiedades de hidratación y el contenido de flavonoides del subproducto de naranja.
2. Caracterizar a nivel fisicoquímico, funcional y fitoquímico el subproducto de naranja sin tratar, el subproducto de naranja con el mejor tratamiento con ultrasonido y el subproducto de naranja control sometido a hidratación.
3. Evaluar el efecto del subproducto cítrico sin tratar y tratado con ultrasonido sobre el control de glucosa y daño renal en animales diabéticos tipo 2.

6. METODOLOGÍA

6.1. Material biológico

6.1.1. Animales de experimentación

Se emplearon ratas Wistar machos de 180 ± 20 g de peso corporal. Los animales se adquirieron en el bioterio del Instituto de Neurobiología de la UNAM, Campus Juriquilla, y se alimentaron con croqueta comercial para rata 5001 marca Rodent Laboratory Chow de Purina.

6.1.2. Subproducto de naranja

Se adquirió naranja variedad March de la central de abastos de Querétaro. Las naranjas se lavaron con agua y jabón. Posteriormente, se cortaron a la mitad y se hizo la extracción del jugo con un extractor de jugo de la marca Jugomex. El residuo colectado después de la extracción del jugo fue considerado como el subproducto de naranja.

Se hizo una selección de las cáscaras retirando aquellas que tuvieran daño físico. Consecutivamente se realizó una desinfección con hipoclorito de sodio a 200 ppm por 2 minutos (WHO, 1998). El subproducto se molió en una licuadora y se guardó en congelación a -20 °C hasta su tratamiento.

6.2. Métodos

6.2.1. Tratamiento con ultrasonido de alta intensidad

Se evaluaron dos equipos, el tipo baño y el tipo sonda. El sistema tipo baño es un equipo de baño ultrasónico Cole-Parmer Ultrasonic Cleaner, Heater/Digital Timer; 2.5 gal, 115V, con una potencia de salida de 160 W (**Figura 1**), evaluando las condiciones del **Cuadro 4**, el cual es un factorial 2^2 con puntos al centro, para ambos valores de frecuencia que se pueden emplear con el equipo (28 y 40 KHz).

Cuadro 4. Diseño factorial 2^2 con puntos al centro a considerar en el equipo de baño ultrasónico

Tiempo (min)	Temperatura (°C)	X ₁	X ₂
1	20	-1	-1
1	60	-1	1
5	20	1	-1
5	60	1	1
3	40	0	0



Figura 1. Equipo de baño ultrasónico (Cole-Parmer Ultrasonic Cleaner, Heater/Digital Timer)

El sistema tipo sonda consistió en un equipo de sonda ultrasónica Cole Parmer 500 W Ultrasonic Homogenizer, con un diámetro de 13 mm y una frecuencia fija de 20 kHz (**Figura 2**), se evaluaron las condiciones del **Cuadro 5**, el cual es un diseño 2^2 con puntos al centro.

Cuadro 5. Diseño 2^2 con puntos al centro a considerar en el equipo de sonda ultrasónica

Tiempo (min)	Potencia (W)	X ₁	X ₂
1	158	-1	-1
1	442	-1	1
5	158	1	-1
5	442	1	1
3	300	0	0



Figura 2. Equipo de sonda ultrasónica (Cole Parmer 500 Watt Ultrasonic Homogenizer)

Después del tratamiento, el subproducto se secó a 45 °C en una estufa de secado, posteriormente se molió y se tamizó por una malla no. 40 (425 µm). Las muestras fueron almacenadas en bolsas de plástico con cierre hermético.

6.2.2. Caracterización fisicoquímica y funcional del subproducto

6.2.2.1. Determinación del color

Las muestras en polvo se colocaron en portaobjetos en una capa uniforme y se registraron las lecturas correspondientes al espacio CIELAB a través de los parámetros de a^* , b^* , C^* , L^* y h , empleando un colorímetro marca Minolta 2002.

Los valores de color se expresaron usando coordenadas de CIELAB, donde el valor L^* es una medida de luminosidad, que varía de 0 (negro) a 100 (blanco); el valor a^* oscila entre -100 (verdor) y +100 (enrojecimiento) y el valor b^* oscila entre -100 (azul) y +100 (amarillez). A partir de estas coordenadas, se calcularon el matiz (h^*) y el croma (C^*) como sigue:

$$h^* = \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*} \qquad C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

6.2.2.2. Capacidad de absorción de agua (CAA) y aceite (CAa)

Se realizó de acuerdo al método propuesto por Robertson *et al.* (2000) con algunas modificaciones. 0.5 g de muestra se colocaron en un tubo previamente pesado, se le añadió 10 mL de agua destilada y se dejó hidratar durante 18 h. Posteriormente,

se centrifugó a 3000 x g por 20 min y el sobrenadante se decantó, se registró el peso del tubo con la muestra húmeda.

La CRA se expresó como la cantidad de agua retenida por gramo de muestra seca.

$$\text{CRA (g/g)} = \frac{(\text{peso de la muestra húmeda}) - (\text{peso de muestra seca})}{\text{peso de muestra seca}}$$

La capacidad de absorción de aceite se midió de forma similar que para la CRA, sustituyendo el agua por el aceite de maíz (Sathe y Salunkhe, 1981).

6.2.2.3. Densidad aparente

Se determinó empleando una probeta graduada (10 mL) previamente pesada. Se llenó con la muestra hasta 10 mL. El contenido se pesó y por diferencia se obtuvo el peso de la muestra. La densidad aparente se calculó como g/mL (Chau y Huang, 2003).

6.2.2.4. Densidad real

Se determinó por el método de desplazamiento del tolueno. 2 mL de tolueno se agregaron a una probeta graduada y 1 g de subproducto fue inmerso en este solvente. La relación del peso del subproducto y el volumen de tolueno desplazado dio la densidad real (Konak *et al.*, 2002).

6.2.2.5. Porosidad

Se determinó utilizando la densidad aparente (6.2.2.3.) y la densidad real (6.2.2.4.) anteriormente mencionadas (Konak *et al.*, 2002).

$$\text{Porosidad} = \frac{\text{Densidad real} - \text{Densidad aparente}}{\text{Densidad real}}$$

6.2.2.6. Capacidad de hinchamiento

En una probeta graduada de 5 mL, se pesaron 0.25 g de muestra y se adicionaron 5 mL de agua destilada. Se agitó ligeramente para eliminar las burbujas de aire atrapadas. Se dejó 18 h a temperatura ambiente con la finalidad que la muestra se asiente. Finalmente, se midió el volumen ocupado por la muestra (mL). La capacidad de hinchamiento se expresó como mL/g de muestra seca (Mateos-Aparicio *et al.*, 2010).

6.2.2.7. Índice de Solubilidad en Agua (ISA) e Índice de Absorción de Agua (IAA)

Se pesaron 2.5 g de muestra y se adicionaron 30 mL de agua destilada a 30 °C, en un tubo falcon de 50 mL, se agitó intermitentemente durante 30 min. Posteriormente la suspensión se centrifugó a 3 000 x g por 10 min. El sobrenadante se decantó cuidadosamente y se secó a 100 °C durante 24 h, y el gel retenido en los tubos se pesó. El ISA es la cantidad de sólidos secos recuperados por la evaporación del sobrenadante de la prueba de IAA (Anderson *et al.*, 1970). El ISA y el IAA se calcularon de la siguiente manera:

$$IAA = \frac{\text{Peso del gel}}{\text{Peso de la muestra seca}}$$

$$ISA (\%) = \frac{\text{Peso del residuo de evaporación}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

6.2.2.8. Viscosidad

De cada una de las muestras se pesaron 1.8 g, se les adicionaron 36 mL de agua destilada. Se colectaron 16 mL de la mezcla y se midió la viscosidad en un reómetro de pantalla táctil DV3T de la marca Brookfield con el eje ULA. Se trabajó a 25 °C con una velocidad de 10-25 rpm. Los resultados obtenidos se expresaron en centipoise (cP).

6.2.2.9. Determinación de azúcares reductores

Se mezclaron 9 µL de la muestra y 171 µL del reactivo 3,5 dinitrosalicílico (DNS) (1:20, muestra: reactivo DNS), se calentaron los tubos a 100 °C durante 5 min, se colocaron en un baño con hielo por 2 min y posteriormente se pasaron 150 µL a una microplaca de 96 pozos para leer en espectrofotómetro a 540 nm. Los resultados se expresaron como mg equivalente de glucosa/g (Wood *et al.*, 2012).

6.2.3. Determinación de compuestos benéficos a la salud de los subproductos y las formulaciones

6.2.3.1. Determinación de la fibra dietaría total, soluble e insoluble

El contenido de fibra dietaría total, soluble e insoluble, se determinó por el método enzimático-gravimétrico (AOAC 985.29, 2002) utilizando un kit enzimático. Las muestras secas y libres de grasa se gelatinizaron con α -amilasa estable y luego se digirieron con proteasa y amiloglucosidasa para remover la proteína y el almidón presente en la muestra. Se filtró la muestra con una bomba de vacío; la muestra retenida en el papel filtro es la fibra insoluble, a la cual se le realizaron lavados consecutivos con etanol 78 %, etanol 95 % y acetona, se dejaron secar a 100 °C toda la noche; al filtrado se le agregaron cuatro volúmenes de etanol 95 %, con el objetivo de precipitar la fibra soluble, posteriormente se dejaron todas las muestras reposando toda la noche. Al día siguiente se filtraron las muestras y se realizaron lavados consecutivos en el residuo con etanol 78 %, etanol 95 % y acetona. Se dejaron secar a 100 °C toda la noche y al siguiente día se registró el peso. Se determinó ceniza (AOAC 923.03, 2005) en los residuos.

6.2.3.2. Extracción de compuestos fenólicos extraíbles

Para la obtención del extracto se empleó la metodología descrita por Pérez-Jiménez *et al.*, (2008). Se pesó 0.5 g de muestra y se agregaron 20 mL de una solución de metanol/agua (50:50) acidificada con HCl para obtener un pH final de 2, se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Posteriormente, se centrifugó por 10 min a 4 000 x g a 4 °C y se recuperó el sobrenadante (extracto A). Al residuo se le agregó nuevamente una mezcla de 20 mL de acetona/agua (70:30), y se agitó a temperatura ambiente por 1 h. Posteriormente, se centrifugó a 4 000 x g a 4 °C por 10 min, y se recuperó el sobrenadante (extracto B).

Se mezclaron ambos extractos A y B para realizar la determinación de fenoles totales y flavonoides, y se guardó el residuo para las determinaciones de polifenoles no extraíbles.

6.2.3.3. Cuantificación de fenoles totales

Para la determinación de polifenoles totales se utilizó el método de Folin y Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999). Se tomó una alícuota del extracto obtenido en el punto **6.2.3.2.** de cada uno de los subproductos, la cual se colocó en microplaca y se completó el volumen a 25 μL con agua destilada, se adicionaron 12.5 μL del reactivo de Folin Ciocalteu 1 N, se agitó durante 5 min, y luego se agregaron 62.5 μL de Na_2CO_3 al 20%, se dejó reposar durante 30 min en la oscuridad, finalmente se leyó la absorbancia a 760 nm. La cuantificación se realizó por interpolación de los resultados en una curva estándar de ácido gálico y los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico por g de materia seca (Singleton *et al.*, 1999).

6.2.3.4. Extracción etanólica de compuestos fenólicos extraíbles

Se pesaron 200 mg de las muestras y se les agregó 10 mL de etanol acuoso al 80% v/v, los tubos se agitaron 2 h en oscuridad a temperatura ambiente. Pasado el tiempo, las muestras se centrifugaron a 13 000 x g durante 10 min. Los sobrenadantes se recuperaron y se almacenaron en la oscuridad a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ hasta el análisis (Oomah *et al.*, 2005). Este tipo de extracción sólo se utilizó para la determinación de flavonoides totales de las muestras obtenidas en la evaluación del tratamiento con ultrasonido.

6.2.3.5. Determinación de flavonoides totales

El contenido total de flavonoides totales se estimó usando el método colorimétrico descrito por Oomah *et al.* (2005). El método consistió en mezclar 50 μL del extracto con 180 μL de agua destilada y 20 μL de una solución de 10 g/L de 1-aminoeildifenilborato en una microplaca de fondo plano de 96 pocillos. La absorbancia de la solución se midió a 404 nm con un espectrofotómetro (Multiskan GO 1.01.12). La cuantificación se realizó por interpolación de los resultados en una curva estándar de rutina y los resultados se expresaron como mg equivalentes de rutina/g de muestra.

6.2.3.6. Cuantificación de taninos condensados

La cuantificación de taninos condensados se realizó mediante la hidrólisis ácida con n-butanol del residuo (pellet) de la extracción de fenoles extraíbles del subproducto

(6.2.3.2.), siguiendo el método establecido por Zurita *et al.* (2012). Los residuos se secaron y se mezclaron con 10 mL de butanol/HCl/FeCl₃ (97.5:2.5:0.07, v/v/m) y se incubaron a 100 °C con agitación por 1 h. Los tubos se dejaron enfriar y luego se centrifugaron a 3 000 rpm por 10 min, los sobrenadantes se recuperaron. Posteriormente, los residuos se lavaron con 10 mL de butanol/HCl/FeCl₃ y se repitió la centrifugación. Se colectó el sobrenadante y se combinó con el anterior, el volumen final se aforó a 25 mL con la solución butanol/HCl/FeCl₃. Las absorbancias se leyeron a una longitud de onda de 450 y 555 nm y se sumaron los valores. Los resultados se expresaron como mg de proantocinidinas por 100 g de muestra seca.

6.2.3.7. Obtención de polifenoles hidrolizables

Se partió del residuo de la obtención de polifenoles extraíbles (6.2.3.2.), y se añadieron 20 mL de metanol y 2 mL de ácido sulfúrico (gota a gota). Se cerraron los tubos con mucha fuerza (si no, el metanol, se evaporaría y las muestras se quemarían) y se incubaron por 20 h a 85 °C con agitación. Después de este tiempo, se dejaron enfriar los tubos y se centrifugaron a 3 000 rpm por 10 minutos. Se colectó el sobrenadante en un matraz aforado de 50 mL y se lavó el residuo 2 veces con 10 mL de agua destilada, centrifugando y combinando el nuevo sobrenadante con los anteriores. Se enrasó a 50 mL con agua destilada. La cantidad de polifenoles hidrolizables se midió con el método Folin (6.2.3.3).

6.2.3.8. Cuantificación de carotenoides

Para el procedimiento de extracción se empleó la metodología propuesta por Olives *et al.* (2006) con algunas modificaciones. La extracción se llevó a cabo bajo condiciones de obscuridad. Se pesaron 0.5 g de muestra y se adicionaron 20 mL de solución de extracción de hexano-acetona-etanol (2:1:1 v/v/v). Se agitaron durante 30 min y se agregaron 3 mL de agua destilada, posteriormente se dejó en reposo para permitir la separación de fases. Se separó la fase orgánica (superior) y se guardó protegida de la luz. Se agregaron nuevamente 20 mL de la solución de extracción y se repitió el proceso hasta la separación de fases. Se juntaron las fases orgánicas y se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro a 446 nm. La

concentración de β -caroteno se calculó empleando la siguiente fórmula, de acuerdo a la ley Beer-Lambert:

$$\text{Concentración de } \beta\text{-caroteno} = \frac{\text{Abs} \cdot \text{PM} \cdot \text{factor de dilución}}{\epsilon \cdot \text{distancia}}$$

Dónde:

Abs= Absorbancia a 446 nm

PM= Peso molecular (536.8726 g/mol)

ϵ = Coeficiente de extinción molar para β -caroteno en hexano (139 200 L/ mol*cm) (Craft y Soares, 1992)

Distancia= 1 cm

6.2.4. Análisis proximal del suplemento

Se emplearon los métodos propuestos por la AOAC para ceniza (923.03) humedad (925.09) y grasa (983.23).

6.2.5. Evaluación de propiedades fisicoquímicas

6.2.5.1. Determinación de la capacidad de adsorción de glucosa

La capacidad de adsorción de glucosa de las muestras se determinó según el método de Ou *et al.* (2001). Se añadió 0.25 g de la muestra (1 %) a 25 mL de solución de glucosa de concentración creciente (5, 10, 20, 50 y 100 mM), se agitó bien la mezcla, se incubó en un baño de agua agitador a 37 °C durante 6 h. Se centrifugó a 4 000 x g durante 20 minutos y se determinó el contenido de glucosa en el sobrenadante con un kit enzimático de la marca Randox. El límite de glucosa se calculó usando la siguiente fórmula:

$$\text{Glucosa enlazada} = \frac{G1-G6}{\text{Peso de la muestra}} \cdot \text{Volumen de la solución}$$

Donde:

G1=Concentración de glucosa en la solución original

G6=Concentración de glucosa después de 6 h.

6.2.5.2. Efecto en la difusión de glucosa *in vitro*

A 25 mL de solución de glucosa (20 mM) se le agregó 0.25 g de la muestra (1 %), se dializaron en bolsas de diálisis contra 200 mL de agua destilada a 37 °C en un baño de agua con agitación. El contenido de glucosa en el dializado se determinó a 60, 120, 180 y 240 min utilizando el kit enzimático de la marca Randox (Ou *et al.*, 2001). Se realizó un ensayo de control sin muestra. El GDRI se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{GDRI} = 100 - \frac{\text{Contenido de glucosa con la adición de la muestra}}{\text{Contenido de glucosa en el control}} * 100$$

6.2.5.3. Efecto de las muestras en la cinética de amilolisis *in vitro*

Se añadieron 40 g de almidón de papa a ≈900 mL de tampón de fosfato 0,05 M (pH 6,5). Se agitó a 65 °C durante 30 min y se llevó hasta un volumen final de 1 L para dar una solución de almidón al 4% (p/v). A 25 mL de la solución de almidón anterior, se le agregó 0.1 g de α-amilasa (0,4%) y 0.25 g de la muestra (1 %), esta mezcla se colocó en bolsas de diálisis contra 200 mL de agua destilada a 37 °C (pH 7,0) en un baño de agua con agitación. El contenido de glucosa en el dializado se determinó a 60, 120, 180 y 240 min utilizando el kit enzimático de la marca Randox. Se llevó a cabo un ensayo de control sin muestra. La actividad inhibidora de α-amilasa (%) se definió como el porcentaje de disminución en la velocidad de producción de glucosa sobre el control (Ou *et al.*, 2001).

6.2.6. Evaluación sensorial de las muestras de naranja sin tratar y tratadas

Se realizó un análisis sensorial de las muestras obtenidas en este estudio, con la participación de un panel no entrenado, integrado por personas de 18-35 años de edad, alumnos de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro. El análisis consistió en la evaluación de los parámetros de color olor, sabor, apariencia y agrado global de las muestras. Se manejó una escala hedónica de nueve puntos donde el punto nueve fue me gusta extremadamente y el punto uno me disgusta extremadamente (**Figura 3**). Se utilizó un panel de n=45. La

evaluación se realizó a temperatura ambiente en una habitación iluminada con luz artificial.



Figura 3. Escala hedónica de nueve puntos utilizada en la evaluación sensorial

También se evaluaron los parámetros de color amarillo, amargor, resabio y olor aromático de los polvos de naranja obtenidos en este estudio en un escala de 0 a 10, definido como ninguno a notorio.

6.2.7. Estudio *in vivo*

Se trabajó con 30 ratas macho Wistar en total, con un peso promedio de 180 ± 20 g.

6.2.7.1. Aclimatación de los animales de experimentación

Las ratas se sometieron a un período de adaptación de una semana en el bioterio, bajo un ciclo de luz-oscuridad de 12 h cada uno, a temperatura de 18-24 °C, a una humedad relativa de $50 \pm 10\%$ y con acceso libre a comida y agua.

6.2.7.2. Inducción de diabetes con estreptozotocina

Las ratas se dividieron en 4 grupos y se alimentaron con una dieta estándar (4.5 % grasa, 23 % proteína, 6 % fibra y 46.5 % carbohidratos) para el grupo control sano o una dieta alta en grasa (27.42 % grasa, 17.48 % proteína, 4.56 % fibra y 35.34 % carbohidratos) para grupos diabéticos. Las dietas se administraron *ad libitum* por 5 semanas. Posteriormente, las ratas alimentadas con la dieta alta en grasa se dejaron en un estado de ayuno de 12 h y se inyectaron vía intraperitoneal con una dosis única de estreptozotocina (STZ) de 30 mg/kg de peso corporal. A las ratas control se les administró una dosis de 0.5 mL de solución salina. Siete días posteriores a la inducción de diabetes con STZ se determinaron los niveles de glucosa en ayuno en los animales en estudio; aquellos que presentaron niveles de

glucosa alrededor de 160-200 mg/dL se consideraron como diabéticos y se asignaron dentro de los grupos experimentales. Las ratas diabéticas se dividieron aleatoriamente en 3 grupos, distribuidos de acuerdo al **Cuadro 6**. Se tomó como unidad experimental una jaula y el número de ratas se contemplaron como el número de repeticiones.

El grupo control sano se alimentó con dieta estándar; el grupo control diabético fue alimentado con una dieta alta en grasa; el grupo diabético suplementado con subproducto de naranja se le dio la dieta alta en grasa suplementada a un 8 % de fibra tomando en cuenta el porcentaje de fibra total del subproducto de naranja sin tratar en polvo y el grupo diabético suplementado con subproducto tratado con ultrasonido se alimentó con dieta alta en grasa ajustada a un 8 % de fibra (Amaya-Cruz *et al.*, 2015) tomando en cuenta el porcentaje de fibra total del subproducto de naranja tratado con el mejor tratamiento con ultrasonido en polvo. Las dietas se administraron *ad libitum* hasta el sacrificio.

Cuadro 6. Grupos experimentales para la evaluación del efecto antidiabético del suplemento alimenticio

Grupo	Dieta
Control sano	6 ratas con dieta estándar (2 jaulas con 3 ratas cada una)
Control diabético	8 ratas con dieta alta en grasa + STZ (2 jaulas con 4 ratas cada una)
Diabético suplementado con subproducto sin tratar	8 ratas con dieta alta en grasa + STZ+ 8% de fibra del subproducto (2 jaulas con 3 ratas cada una)
Diabético suplementado con subproducto tratado con ultrasonido	8 ratas con dieta alta en grasa + STZ+ 8% de fibra del subproducto tratado (2 jaulas con 3 ratas cada una)

6.2.4.3. Evaluación del efecto antidiabético del subproducto de naranja

6.2.4.3.1. Medición semanal

Se cuantificó semanalmente el aumento de peso corporal, la glucosa en ayuno, el consumo de alimento, y se registró un valor promedio por cada grupo de ratas. El nivel de glucosa (mg/dL) se cuantificó en la sangre obtenida de la vena caudal de

las ratas (localizada en el extremo de la cola del animal), con un mínimo de 8 h de ayuno. Para ello se empleó un glucómetro ROCHE y tiras reactivas Accu-Check, con una sensibilidad de 10-600 mg/dL de glucosa.

Esta determinación se basa en el siguiente fundamento: la glucosa presente en la muestra de sangre reacciona con la enzima glucosa deshidrogenasa presente en la tira reactiva, para dar lugar a gluconolactona y poder reductor en forma de NADH + H⁺, el cual genera una corriente eléctrica que es registrada por el glucómetro, indicando la concentración de glucosa en mg/dL.

6.2.4.3.2. Sacrificio y obtención de muestras

Un día antes del sacrificio, se recolectaron las heces y la orina de cada animal, y se almacenaron a -20 °C. Las ratas se sacrificaron por decapitación, se colectó la sangre en tubos vacutaine. Se extrajeron riñones, hígado y páncreas, los cuales se lavaron con solución salina 0.9%. Los riñones y el hígado se cortaron y se tomó un fragmento para colocarlo en solución de formol amortiguado al 10% histológicamente y el resto se congeló inmediatamente en nitrógeno líquido y se almacenó a -70 °C para su posterior análisis; mientras que, el páncreas se almacenó en solución de formol amortiguado al 10% histológicamente para el análisis histopatológico.

6.2.4.3.3. Cuantificación de glucosa en suero

Para estas mediciones se utilizó la sangre colectada de las ratas, inmediatamente el suero se obtuvo por medio de una centrifugación a 3 000 x g durante 10 min a 4 °C. Las muestras se almacenaron a -70 °C hasta el momento de su análisis. Para la medición de glucosa en suero se utilizó el kit enzimático de Randox.

6.2.4.3.4. Análisis histopatológico

Para evaluar el efecto protector del subproducto mediante el análisis histopatológico, el páncreas, el riñón y el hígado extraídos se lavaron con solución salina al 0.9 %; posteriormente, se fijaron en una solución de formol amortiguado al 10% histológicamente. Después se realizó la fijación e inclusión en parafina y finalmente se llevó a cabo la microdissección, obteniendo cortes de 5 µm, en los

cuales se llevó a cabo la tinción con hematoxilina-eosina (HE), para posteriormente tomar las imágenes representativas.

En el caso del páncreas, se realizó el análisis y las mediciones del eje mayor de los islotes de Langerhans.

6.2.4.3.5. Evaluación de parámetros bioquímicos en suero relacionados con el daño renal

Para la medición de creatinina, urea y ácido úrico en suero se utilizaron kits enzimáticos de Spinreact.

6.3. Diseño y análisis estadístico

Para la evaluación del efecto de la aplicación de ultrasonido, se realizó un factorial 2^2 con puntos al centro para ambos sistemas de aplicación, en el tipo baño se tomaron como parámetros el tiempo, la frecuencia y la temperatura, mientras que para el tipo sonda fueron la potencia y el tiempo. Los resultados de la caracterización se reportaron como la media \pm desviación estándar. Los resultados del análisis *in vivo* se reportaron como la media \pm error estándar. Se realizará el análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza del 95% y para la comparación entre más de dos medias se utilizó la prueba de Tukey-Kramer. Los datos se analizaron con el paquete estadístico JMP 10.0.1.

7. Resultados y discusión

7.1. Tratamiento con ultrasonido

Para realizar la evaluación del sistema tipo baño se variaron los parámetros de tiempo, temperatura y frecuencia, que tienen un efecto en la cavitación producida por las ondas ultrasónicas (Young, 1989). Se realizó un diseño 2^2 con replicaciones al centro presentado en el **Cuadro 4**. Para mejorar la propagación de las ondas ultrasónicas en la muestra fresca se le adicionó agua destilada, ya que la cavitación se produce en aquellas regiones de un líquido que se encuentran sometidas a presiones de alta amplitud que alternan rápidamente (Herrero y Romero, 2006). Se adicionó 5 mL de agua destilada a una proporción de 1 g de subproducto de naranja fresco. Los flavonoides tienen baja solubilidad en agua, por lo que se utilizó agua como solvente (Miyake *et al.*, 1991; Abou El Hassan *et al.*, 2000; Boumendjel *et al.*, 2003; Saija *et al.*, 2003; Tommasini *et al.*, 2004).

El control empleado en el tratamiento con ultrasonido fue la muestra de naranja fresca a la cual solo se le agregó agua y se dejó reposar por el tiempo indicado.

Una vez obtenidas las muestras tratadas se les determinó la capacidad de retención de agua, capacidad de hinchamiento, flavonoides totales en el subproducto y en el filtrado, obteniéndose los resultados mostrados en el **Cuadro 7**.

Uno de los compuestos a evaluar incluye a los flavonoides, ya que se espera que durante el tratamiento se retenga una cantidad suficiente para que dichos compuestos puedan tener beneficios a la salud. Los tratamientos en los cuales sólo se humectó la muestra disminuyeron de un 11 a un 34 % el contenido de flavonoides en el subproducto; mientras que, los tratamientos con ultrasonido disminuyeron desde un 30 a un 69 %. Sin embargo, solo se observó diferencia estadística significativa de la extracción entre el subproducto tratado con agua y el tratado con ultrasonido, en los tratamientos 5 min 60 °C a 28 y 40 KHz.

La disminución de los flavonoides durante el tratamiento podría mejorar las propiedades sensoriales, ya que se le ha atribuido el amargor de la naranja al flavonoide naringina (Shaw *et al.*, 1984; Barthelemy-González *et al.*, 2013); Esta

reducción puede ser causada a que dichos compuestos se están lixiviando en el agua, ya que al determinar los flavonoides en el filtrado se cuantificó desde 46 a 58 μg equivalentes de rutina/mL; sin embargo, la cantidad liberada de los flavonoides al medio, no corresponde a la cantidad total disminuida. Por lo tanto, una parte de los flavonoides puede degradarse, posiblemente durante el tratamiento con ultrasonido.

Cuadro 7. Propiedades del subproducto de naranja variedad March tratado con ultrasonido tipo baño

MUESTRA		Flavonoides en el subproducto	Flavonoides en el filtrado	Capacidad de hinchamiento (mL/g)	Capacidad de retención de agua (g/g)	
		mg Eq de rutina/g muestra	μg Eq de rutina/mL			
Sin tratamiento		2.70 \pm 0.10 a		7.94 \pm 0.10 e	5.02 \pm 0.02 d	
Con agua	1 min	2.40 \pm 0.16 ab	52.68 \pm 3.11 a	9.99 \pm 0 cd	7.01 \pm 0.49 c	
	3 min	1.99 \pm 0.22 abc	52.67 \pm 7.77 a	10.66 \pm 0.58 bcd	7.96 \pm 0.32 abc	
	5 min	1.78 \pm 0.20 bcde	48.10 \pm 3.23 a	9.88 \pm 0.10 cd	7.60 \pm 0.37 abc	
Con agua y ultrasonido	28 KHz	1 min 20 $^{\circ}\text{C}$	1.90 \pm 0.19 bcd	46.62 \pm 2.24 a	10.43 \pm 0.35 bcd	7.39 \pm 0.31 bc
		5 min 20 $^{\circ}\text{C}$	1.23 \pm 0.33 cdefg	58.15 \pm 11.70 a	11.15 \pm 0.58 abc	8.62 \pm 0.97 a
		3 min 40 $^{\circ}\text{C}$	1.57 \pm 0.36 cdefg	46.90 \pm 2.12 a	10.27 \pm 0.63 bcd	7.91 \pm 0.20 abc
		1 min 60 $^{\circ}\text{C}$	1.39 \pm 0.30 cdefg	48.94 \pm 3.00 a	10.77 \pm 0.25 abcd	7.36 \pm 0.15 bc
		5 min 60 $^{\circ}\text{C}$	0.91 \pm 0.42 fg	55.29 \pm 1.54 a	11.38 \pm 0.51 ab	7.78 \pm 0.57 abc
	40 KHz	1 min 20 $^{\circ}\text{C}$	1.66 \pm 0.21 bcdef	46.32 \pm 4.14 a	10.27 \pm 0.63 bcd	6.88 \pm 0.29 c
		5 min 20 $^{\circ}\text{C}$	1.11 \pm 0.16 efg	52.82 \pm 1.25 a	10.88 \pm 0.20 abcd	7.76 \pm 0.41 abc
		3 min 40 $^{\circ}\text{C}$	1.38 \pm 0.11 cdefg	48.68 \pm 1.95 a	9.77 \pm 0.25 d	7.28 \pm 0.31 bc
		1 min 60 $^{\circ}\text{C}$	1.12 \pm 0.45 defg	48.47 \pm 4.20 a	10.05 \pm 0.10 cd	7.82 \pm 0.16 abc
		5 min 60 $^{\circ}\text{C}$	0.84 \pm 0.15 g	57.93 \pm 0.56 a	11.99 \pm 0.72 a	8.23 \pm 0.15 ab

30 g de subproducto de naranja fresco en 150 mL de agua destilada (1:5). Los resultados son expresados como la media \pm desviación estándar (DE) (n=3). Letras diferentes por columna indican diferencia estadística significativa de acuerdo a la prueba Tukey-Kramer. Eq de rutina= equivalentes de rutina.

Con respecto a las propiedades de hidratación, la capacidad de retención de agua y capacidad de hinchamiento, valores más altos en los materiales podrían aumentar el peso de las heces, formar soluciones más viscosas y potencialmente disminuir la

tasa de absorción de nutrientes del intestino (Gallaher y Schneeman, 2001). La capacidad de hinchamiento del subproducto aumentó de un 24-34 % al ser solo humectado y un 23-51 % tratado con ultrasonido. El tratamiento de 5 min a 60 °C a 40 kHz fue estadísticamente mayor a los tratamientos solo con agua, ya que aumentó un 51 % comparada con la muestra sin tratamiento. Los tratamientos en los cuales solo se humectó la muestra aumentaron de un 40-59 % la capacidad de retención de agua y los tratamientos con ultrasonido de un 37-72 %; sin embargo, no hay diferencia significativa, por lo que no se ve un efecto del ultrasonido en la muestra de subproducto tratada. Esto puede ser debido a que se ha comprobado que el agua es capaz de aumentar la capacidad de retención de agua y disminuir el contenido de azúcares libres de la cáscara de naranja (Larrauri, 1999).

Para maximizar el efecto del ultrasonido se propuso aumentar los tiempos de tratamiento teniendo como niveles (-1, 0, 1) para el tiempo 5, 10 y 15 min y para la temperatura 20, 40 y 60 °C, empleando las dos frecuencias manejadas por el equipo (28 y 40 kHz). En las muestras tratadas se midieron las mismas propiedades que en el experimento anterior, obteniéndose el contenido del **Cuadro 8**.

Los tratamientos en los cuales solo se agregó agua a la muestra, el contenido de flavonoides disminuyó de un 49 a un 52 % en el subproducto, mientras que los tratamientos con ultrasonido tuvieron una reducción del contenido desde un 33 a un 62 %. Este decremento puede atribuirse a que se están lixiviando en el agua ya que al determinar los flavonoides en el filtrado se cuantificó desde 84 a 130 µg equivalentes de rutina/mL, siendo 50 % mayor este contenido que en los tratamientos de 1, 3 y 5 minutos. Sin embargo, no hubo diferencia significativa de la extracción entre los tratamientos solo con agua y los tratados con ultrasonido, por lo que el incremento de la concentración de flavonoides en el filtrado se debió a tiempos más largos de tratamiento.

Cuadro 8. Propiedades del subproducto de naranja variedad March tratado con ultrasonido tipo baño a tiempos largos

MUESTRA		Flavonoides en el subproducto	Flavonoides en el filtrado	Capacidad de hinchamiento (mL/g)	Capacidad de retención de agua (g/g)	
		mg Eq de rutina/g muestra	µg Eq de rutina/mL			
Sin tratamiento		2.35 ± 0.11 a		7.94 ± 0.25 g	5.77 ± 0.04 e	
Con agua	5 min	1.18 ± 0.16 bcd	103.94 ± 4.38 bcde	11.22 ± 0.19 cdef	8.84 ± 0.20 d	
	10 min	1.21 ± 0.15 bcd	119.14 ± 3.31 abc	12.06 ± 0.10 abcde	9.60 ± 0.11 abcd	
	15 min	1.14 ± 0.10 bcd	120.22 ± 3.64 abc	12.17 ± 0.60 abcde	9.67 ± 0.17 abcd	
Con agua y ultrasonido	28 KHz	5 min 20 °C	1.57 ± 0.21 b	99.64 ± 7.00 cde	10.78 ± 0.25 ef	9.17 ± 0.28 bcd
		15 min 20 °C	1.40 ± 0.12 bc	126.66 ± 20.17 ab	11.33 ± 0.33 bcdef	9.76 ± 0.47 abcd
		10 min 40 °C	1.21 ± 0.13 bcd	113.82 ± 9.07 abcd	11.78 ± 0.35 abcde	9.98 ± 0.26 abc
		5 min 60 °C	0.99 ± 0.16 cd	110.20 ± 5.27 abcd	12.56 ± 0.59 abc	10.06 ± 0.24 ab
		15 min 60 °C	0.99 ± 0.21 cd	84.13 ± 3.41 e	12.83 ± 0.33 a	9.70 ± 0.38 abcd
	40 KHz	5 min 20 °C	1.40 ± 0.03 bc	101.46 ± 6.96 cde	10.28 ± 0.25 f	9.03 ± 0.22 cd
		15 min 20 °C	0.89 ± 0.19 d	130.32 ± 6.28 a	10.83 ± 0.29 def	9.10 ± 0.30 bcd
		10 min 40 °C	0.97 ± 0.16 cd	106.33 ± 5.89 bcde	11.56 ± 0.63 abcdef	9.82 ± 0.49 abcd
		5 min 60 °C	1.02 ± 0.28 cd	115.77 ± 7.48 abcd	12.22 ± 0.67 abcd	9.81 ± 0.60 abcd
		15 min 60 °C	0.96 ± 0.15 cd	94.35 ± 4.93 de	12.72 ± 0.95 ab	10.26 ± 0.35 a

30 g de subproducto de naranja fresco en 150 mL de agua destilada (1:5). Los resultados son expresados como la media ± DE (n=3). Letras diferentes por columna indican diferencia estadística significativa de acuerdo a la prueba Tukey-Kramer. Eq de rutina= equivalentes de rutina.

La capacidad de hinchamiento del subproducto incrementó de un 41-53 % al ser solo humectado y en un 30-62 % al ser tratado con ultrasonido. La capacidad de retención de agua aumentó un 53-68 % con solo agregar agua a la muestra y un 57-78 % con los tratamientos con ultrasonido. Sin embargo, a pesar de los tiempos largos de contacto no hay un aumento significativo en los tratamientos que fueron humectados y sometidos a un tratamiento con ultrasonido comparados con aquellos que solo fueron humectados con agua, por lo que, en base a estos resultados, el sistema tipo baño se descarta para los siguientes objetivos de este trabajo.

Por otro lado, para realizar la evaluación del sistema tipo sonda se variaron los parámetros de tiempo y potencia, los cuales tienen un efecto en la cavitación

producida por las ondas ultrasónicas (Young, 1989). Se realizó un diseño 2² con replicaciones al centro teniendo como niveles (-1, 0, 1) para el tiempo 1, 3 y 5 min y para la potencia 158, 300 y 442 W. Para mejorar la propagación de la cavitación por la muestra, también se le adicionó agua destilada en una proporción de 1 g de subproducto de naranja fresco: 5 mL de agua destilada. Para evaluar el efecto provocado por el agua, se realizaron tratamientos solo humectando la muestra con agua en los cuales se varió el tiempo de contacto.

Una vez obtenidas las muestras tratadas se les determinó la capacidad de retención de agua, capacidad de hinchamiento, flavonoides totales tanto en el subproducto como en el filtrado, obteniéndose los resultados mostrados en el **Cuadro 9**.

Cuadro 9. Propiedades del subproducto de naranja variedad March tratado con ultrasonido tipo sonda

MUESTRA		Flavonoides en el subproducto	Flavonoides en el filtrado	Capacidad de hinchamiento (mL/g)	Capacidad de retención de agua (g/g)
		mg Eq de rutina/g muestra	µg Eq de rutina/mL		
Sin tratamiento		2.92 ± 0.25 a		9.06 ± 0.10 f	6.09 ± 0.13 e
Con agua	1 min	2.18 ± 0.19 b	39.75 ± 3.43 d	10.78 ± 0.54 e	8.29 ± 0.26 d
	3 min	1.39 ± 0.37 cde	45.27 ± 2.98 d	11.97 ± 0.55 bcd	9.05 ± 0.95 cd
	5 min	1.80 ± 0.09 bc	44.51 ± 2.89 d	10.83 ± 0.17 de	8.38 ± 0.07 d
Con agua y ultrasonido	1 min 158 W	1.70 ± 0.21 bc	71.72 ± 4.35 cd	12.00 ± 0.29 bc	9.20 ± 0.42 bcd
	5 min 158 W	1.01 ± 0.14 de	89.53 ± 25.59 bc	12.33 ± 0.60 abc	9.80 ± 0.44 abc
	3 min 300 W	1.36 ± 0.23 cde	118.13 ± 15.53 ab	13.22 ± 0.42 a	10.35 ± 0.37 ab
	1 min 442 W	1.45 ± 0.13 cd	120.48 ± 4.87 ab	11.50 ± 0.44 cde	9.41 ± 0.36 bcd
	5 min 442 W	0.83 ± 0.10 e	140.77 ± 8.93 a	13.06 ± 0.10 ab	10.70 ± 0.32 a

30 g de subproducto de naranja fresco en 150 mL de agua destilada (1:5). Los resultados son expresados como la media ± DE (n=3). Letras diferentes por columna indican diferencia estadística significativa de acuerdo a la prueba Tukey-Kramer.

Los tratamientos en los cuales solo se adicionó agua a la muestra, el contenido de flavonoides disminuyó de un 25 a un 52 % en el subproducto, mientras que el contenido en los tratamientos con ultrasonido disminuyó de un 42 a un 72 %. Esta reducción puede atribuirse a que se están lixiviando en el agua ya que al determinar

los flavonoides en el filtrado se cuantificó desde 39-45 hasta 71-140 μg equivalentes de rutina/mL. Con este sistema de ultrasonido si existe una diferencia significativa positiva de la extracción entre los tratamientos solo con agua y los tratados con ultrasonido, ya que aumenta hasta el doble o el triple el contenido de flavonoides en el filtrado en los tratados ultrasónicamente. Se observa que hay una relación directamente proporcional con la potencia empleada en el tratamiento, ya que conforme ésta aumenta incrementa la extracción de flavonoides en el filtrado.

Con respecto a las propiedades de hidratación, la capacidad de hinchamiento del subproducto aumentó en un 19-33 % cuando sólo se le adicionó agua y en un 27-46 % al tratado con ultrasonido. El tratamiento por 3 min a 300 W fue significativamente mayor a los tratamientos solo con agua ya que aumentó un 46 % comparado con la muestra sin tratamiento. Los tratamientos en los cuales solo se humectó la muestra, la capacidad de retención de agua aumentó de un 36-49 % y los tratamientos con ultrasonido de un 51-76 %, obteniéndose diferencia significativa con los tratamientos por 3 min a 300 W y el de 5 min a 442 W. Al comprobarse que hay una diferencia significativa entre los tratamientos en los cuales la muestra sólo se humectó con los tratamientos a los que se les adicionó agua a la muestra y fueron sometidos a ultrasonido, se confirma que la cavitación está provocando una modificación en la estructura de la fibra que es independiente del efecto inducido por el agua agregada.

Por todo lo anterior, se seleccionó como el mejor tratamiento el de 3 min a 300 W ya que fue con el que se logró una mayor diferencia significativa en ambas propiedades de hidratación evaluadas, además de ser un tiempo de tratamiento corto.

7.2. Caracterización parcial del subproducto

7.2.1. Determinación de color por el sistema CIELAB

El color es uno de los parámetros de calidad más importantes en las frutas y hortalizas deshidratadas. Los posibles cambios de color pueden influir en las

propiedades organolépticas de las muestras de cáscara de naranja seca y limitar sus posibles aplicaciones (Garau *et al.*, 2007).

El **Cuadro 10** muestra los parámetros CIELAB (L^* , a^* , b^* , C^* y h) de los polvos de la naranja sin tratar, de la naranja sometida a un tratamiento con agua por 3 minutos y de la naranja tratada con un ultrasonido tipo sonda a 300 W por 3 minutos.

Cuadro 10. Medición de color CIELAB del subproducto de naranja tratado con ultrasonido

Color	Naranja sin tratar	Con agua 3 min	Sonda 3 min 300 W
L^*	71.0 ± 0.4 c	73.5 ± 0.1 b	75.4 ± 0.5 a
a^*	4.0 ± 0.0 a	1.9 ± 0.1 c	2.3 ± 0.3 b
b^*	24.9 ± 0.1 a	23.3 ± 0.1 b	22.4 ± 0.3 c
C^*	25.2 ± 0.1 a	23.4 ± 0.1 b	22.5 ± 0.3 c
h	80.7 ± 0.1 c	85.2 ± 0.3 a	84.1 ± 0.8 b

Datos expresados como media \pm DE (n=3). Valores con diferente letra en el mismo renglón indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$) (Prueba de Tukey-Kramer).

Comparándolos, ambos tratamientos modificaron significativamente todos los parámetros de color medidos; la muestra de naranja sin tratar se caracterizó por tener los valores más altos de a^* , b^* y C^* y valores más bajos de L^* y h . Por otro lado, las muestras que se sometieron a ultrasonido presentaron los valores más altos de L^* y los valores más bajos de b^* y C^* , lo que sugiere que la luminosidad incrementa mientras que el color amarillo decrece. La disminución de los valores b^* en las muestras de naranja tratadas podría relacionarse con la pérdida en el contenido de pigmentos carotenoides. El color característico de la cáscara de la mayoría de las variedades de naranjas maduras se debe a los pigmentos carotenoides (Arena *et al.*, 2000; Meléndez-Martínez *et al.*, 2007).

7.2.2. Caracterización fitoquímica del subproducto de naranja

Se determinó el contenido de polifenoles extraíbles (fenoles y flavonoides totales), polifenoles no extraíbles (taninos condensados y polifenoles hidrolizables) y carotenoides de los polvos de la naranja sin tratar, de la naranja sometida a un tratamiento con agua por 3 minutos y de la naranja tratada con un ultrasonido tipo sonda a 300 W por 3 minutos. Los resultados se muestran en el **Cuadro 11**.

Cuadro 11. Caracterización fitoquímica del subproducto de naranja tratado con ultrasonido

Determinación		Naranja sin tratar	Con agua 3 min	Sonda 3 min 300 W
Polifenoles extraíbles	Fenoles totales ¹	27.7 ± 3.7 a	19.9 ± 1.7 b	17.8 ± 1.9 b
	Flavonoides ²	3.9 ± 0.1 a	2.5 ± 0.2 b	1.2 ± 0.1 c
Polifenoles no extraíbles	Taninos condensados ³	0.34 ± 0.02 a	0.36 ± 0.02 a	0.30 ± 0.01 b
	Polifenoles hidrolizables ⁴	7.7 ± 0.3 c	9.2 ± 0.6 b	9.7 ± 0.4 a
Carotenoides ⁵		0.014 ± 0.002 a	0.006 ± 0.001 c	0.010 ± 0.001 b

Los valores representan la media ± DE (n=3). Letras diferentes en la misma fila indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$) con la prueba Tukey-Kramer.

¹Compuestos fenólicos totales expresados en mg equivalentes de ácido gálico/g de materia seca.

² Flavonoides expresados en mg equivalentes de rutina/g de materia seca.

³ Taninos condensados expresados mg de proantocianidinas/g de materia seca.

⁴ Polifenoles hidrolizables expresados en mg equivalentes de ácido gálico/g de materia seca.

⁵ Carotenoides expresados en mg equivalentes de β -caroteno/g de materia seca.

La muestra de la naranja sin tratar tuvo las concentraciones más altas de fenoles totales, flavonoides, taninos condensados y carotenoides. En la muestra tratada con agua durante 3 minutos, el contenido de fenoles disminuyó un 28.14 %, el contenido de flavonoides un 36.71 % y el contenido de carotenoides un 49.31 %; mientras que el contenido de polifenoles hidrolizables aumentó un 18.23%. El aumento en el contenido de polifenoles hidrolizables puede atribuirse a que al eliminar compuestos solubles en el agua, se concentran los polifenoles hidrolizables; además, el agua modifica la estructura de la matriz, lo cual podría dejar más disponibles compuestos que estén unidos a la fibra (Larrauri, 1999). Los carotenoides son compuestos

lipófilos y, por lo tanto, insolubles en agua, excepto cuando grupos polares muy fuertes, tales como polisacáridos, esterifican el esqueleto carotenoide y pueden encontrarse formando complejos hidrosolubles estables, a estos complejos se les podría atribuir la disminución de carotenoides en la muestra hidratada (Pfander y Witter, 1975; Pfister *et al.*, 1996).

En la muestra de naranja tratada con un ultrasonido tipo sonda a 300 W por 3 minutos, el contenido de fenoles disminuyó en un 36 %, el contenido de flavonoides en un 67 % y para taninos condensados en un 13 %, siendo ligeramente mayor estas disminuciones que para el subproducto humectado. Mientras que, se observó un aumento de polifenoles hidrolizables del 25 %. La mayor pérdida de fenoles y flavonoides en la muestra tratada con ultrasonido puede deberse a que esta tecnología rompe paredes celulares, despolimeriza e intensifica la transferencia de masa y calor mejorando el efecto de penetración del disolvente en el tejido vegetal (Rombaut *et al.*, 2014; M'hiri *et al.*, 2015), con lo cual aumenta la extracción de compuestos, en comparación al tratamiento solo con agua, y provoca la despolimerización de taninos condensados por las implosiones provocadas en la cavitación a lo cual se le puede atribuir la reducción de su contenido en la muestra.

7.2.3. Contenido de fibra dietaria del subproducto de naranja

La fibra dietaria se ha clasificado en fibra soluble e insoluble y esta clasificación se basa en la solubilidad de las sustancias que componen la fibra dietaria total en agua (Periagio *et al.*, 1993). En el **Cuadro 12** se presentan los valores para las fracciones soluble e insoluble de las muestras. En cuanto a la fibra insoluble no se observó una diferencia significativa entre las muestras, ya que todas presentaron valores de 53-59% para esta fracción, similar a lo reportado por Figuerola *et al.* (2005) y Nassar *et al.* (2008), para un subproducto en la elaboración de jugo de naranja variedad Valencia con un porcentaje de fibra insoluble del 54% y para naranja dulce de 52-55%.

Por otra parte, los datos obtenidos en este estudio en cuanto a la fracción soluble fueron de 20-29%, los cuales están dentro del rango de lo reportado de 9-30 g/100

g de materia seca (Chau y Huang, 2003; Figuerola *et al.*, 2005; Nassar *et al.*, 2008; Talens *et al.*, 2017). La variación en la concentración puede deberse a diferencias entre los cultivares según lo informado por Grigelmo-Miguel y Martín-Belloso (1998). Los subproductos de naranja que fueron tratados solamente con agua mostraron un contenido significativamente mayor de fibra soluble que el subproducto sin tratar (13.4%) y en la naranja tratada con un ultrasonido tipo sonda a 300 W por 3 minutos aumentó en un 42.5%. Esto es importante ya que a esta fracción se le han atribuido de forma importante los beneficios a la salud.

Se ha demostrado que cada fracción tiene propiedades fisicoquímicas y funcionales diferentes. La parte insoluble está mayormente relacionada con la regulación intestinal y características relacionadas con la textura; mientras que, la parte soluble está asociada con la viscosidad, adsorción de agua, la reducción de los niveles de colesterol y la mejora de los niveles post-prandiales de glucosa en sangre (Slavin *et al.*, 2005; Brummer *et al.*, 2015). En términos de beneficios a la salud, ambas fracciones se complementan, es decir, los beneficios del consumo de fibra dependen del tipo y la cantidad de fibra consumida, así como de las proporciones entre cada una de las fracciones. Por lo anterior, varios autores recomiendan que se deben consumir ambas fracciones dentro de una relación de 70:30 a 50:50 (insoluble: soluble), la cual es la ideal para maximizar los beneficios ya mencionados. Se puede observar en el **Cuadro 12** que esta relación es similar a la que se tiene en el subproducto de naranja tratado y sin tratar, ya que la proporción entre las fracciones de las frutas está más balanceada en comparación con la fibra de los cereales (Schneeman, 1987; Ajila *et al.*, 2013).

En el **Cuadro 12** se presentan los resultados de la fibra dietaria total (FDT), en donde se encontró que el subproducto de naranja presentó 73.9% (expresado en materia seca), mientras que los subproductos de naranja tratados tiene un porcentaje significativamente mayor de FDT con respecto al subproducto sin tratar, con un valor del 83%. Los valores reportados de FDT van de 35.4% a 74.8 g/ 100 g de materia seca en estudios previos (Grigelmo-Miguel y Martín-Belloso, 1998; Chau

y Huang, 2003; Figuerola *et al.*, 2005; Nassar *et al.*, 2008; Talens *et al.*, 2017), el valor superior es similar a lo que se encontró en nuestro estudio.

Los productos de fibra dietética comercializados se caracterizan por un contenido de fibra dietética total superior a 50 g/100 g (Larrauri, 1999). En este sentido, el subproducto de naranja tiene el potencial para su uso como producto comercializado por su contenido de fibra dietética.

Cuadro 12. Contenido de fibra dietaria del subproducto de naranja tratado con ultrasonido

Muestra	Naranja sin tratar	Con agua 3 min	Sonda 3 min 300 W
Fibra dietaria insoluble (FDI) ¹	53.2 ± 1.5 a	59.7 ± 2.8 a	54.4 ± 0.3 a
Fibra dietaria soluble (FDS) ¹	20.7 ± 0.8 c	23.5 ± 0.1 b	29.5 ± 0.7 a
Fibra dietaria Total (FDT) ¹	73.9 ± 0.7 b	83.2 ± 2.6 a	83.9 ± 0.3 a
Relación FDI:FDS	72 : 28	72 : 28	65 : 35
Azúcares reductores ²	381 ± 27 a	229 ± 11 b	148 ± 12 c

Datos expresados como media ± DE. Experimentos con tres réplicas cada uno. Valores con diferente letra en la misma fila indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$) (Prueba de Tukey-Kramer).

¹ Los valores de fibra son expresados en %.

² Azúcares reductores expresados en mg equivalente de glucosa/g de materia seca.

Al determinar el contenido de azúcares reductores se observa un menor contenido en los polvos de los subproductos de naranja que fueron tratados con agua (25 %) y con ultrasonido (61 %) en comparación con el subproducto sin tratar; esto puede ser debido a que se ha comprobado que el agua es capaz de disolver los azúcares libres de la cáscara de naranja (Larrauri, 1999). Con la aplicación del ultrasonido se extrajo un porcentaje mayor de azúcares, ya que incrementa la transferencia de masa y calor mejorando el efecto de penetración del disolvente en el tejido vegetal (Rombaut *et al.*, 2014; M'hiri *et al.*, 2015). Este efecto es benéfico ya que disminuye el índice glucémico del subproducto de naranja tratado ultrasónicamente.

7.2.4. Análisis proximal del subproducto de naranja

En el **Cuadro 13** se presenta la composición proximal y se observa que las muestras fueron significativamente diferentes en contenido de humedad, grasa y cenizas, y la muestra tratada con ultrasonido tiene el contenido mayor de cenizas y los porcentajes menores de humedad y grasa.

Cuadro 13. Análisis proximal del subproducto de naranja

Composición (%)	Naranja sin tratar	Con agua 3 min	Sonda 3 min 300 W
Humedad	9.61 ± 0.09 a	8.35 ± 0.19 b	7.91 ± 0.02 c
Cenizas	4.83 ± 0.01 c	5.10 ± 0.01 b	5.26 ± 0.01 a
Grasa	1.05 ± 0.007 b	1.18 ± 0.014 a	0.93 ± 0.001 c

Datos expresados como media ± DE (n=3). Valores con diferente letra en la misma fila indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$) (Prueba de Tukey-Kramer).

Las muestras de naranja tienen bajos contenidos de humedad (7.9-9.6 g/100 g), similares a los valores encontrados para la cáscara de *Citrus sinensis* (7.5-7.9 g/100 g) (Chau y Huang, 2003; de Moraes-Crizel *et al.*, 2013), y a los valores de fibra procedentes de los residuos de naranja de Valencia (10.5 g/100 g de peso seco) (Figuerola *et al.*, 2005).

El contenido de lípidos fue de aproximadamente 0.93-1.18 g/ 100 g en peso seco, menor a los valores publicados por Chau y Huang (2003) (22.22 g/100 g de peso seco) y Fernández-López *et al.* (2009) (4.43 g/100 g de peso seco) para fibras de naranja; sin embargo, estos valores son similares al contenido en lípidos de harina de cáscara de naranja (1.64 g/100 g de peso seco) y fibra de pulpa de naranja (1.52 g/100 g de peso seco) (Rincón *et al.*, 2005).

Los contenidos de cenizas entre las muestras fueron significativamente diferentes y mayores (4.83-5.26 g/100 g de peso seco), en comparación con los resultados de Chau y Huang (2003) para la cáscara de naranja (3.30 g/100 g de peso seco) y Fernández-López *et al.* (2009) para fibra de subproducto naranja (4.52 g/100 g de peso seco).

7.2.5. Propiedades funcionales del subproducto de naranja

El **Cuadro 14** muestra algunas propiedades funcionales del subproducto como la capacidad de retención de agua y capacidad de hinchamiento. Para retención de agua el tratamiento con agua durante 3 minutos aumentó en un 36.01 % y el tratamiento con ultrasonido tipo sonda a 300 W por 3 minutos incrementó en un 41.96 %. Para hinchamiento, se observó un efecto similar, ambos tratamientos empleados incrementaron los valores de esta propiedad de hidratación, el tratamiento con agua por 3 minutos aumentó un 18% y el tratamiento con ultrasonido incrementó un 27%. Para hinchamiento, algunos autores reportan valores de 6.11 a 16.5 mL/g influyendo la variedad utilizada (Grigelmo-Miguel y Martín-Belloso, 1998; Figuerola *et al.*, 2005; Talens *et al.*, 2017). Por lo anterior los resultados obtenidos del subproducto de naranja variedad March se encuentran dentro del rango reportado.

Para determinar la calidad tecnológica de los polvos se determinó el índice de absorción de agua y el índice de solubilidad en agua. Los datos se presentan en el **Cuadro 14**. Los resultados obtenidos en este estudio de las muestras tratadas son mayores en comparación con la muestra de subproducto de naranja sin tratar, el tratamiento con agua durante 3 minutos aumentó un 27.96% mientras que el tratamiento con ultrasonido incrementó un 25.43%. Estos resultados demuestran que el ultrasonido no afectó esta propiedad.

Para el índice de solubilidad en agua (ISA), el tratamiento con agua por 3 minutos disminuyó este parámetro en un 67.84% y el tratamiento con ultrasonido lo disminuyó en un 83.57%. Diversos autores han reportado que el aumento del contenido de humedad en la muestra provoca una disminución en el ISA (Onyango *et al.*, 2004; Ding *et al.*, 2005; Yağcı y Göğüş, 2008); similar a lo encontrado en este estudio, ya que las muestras sometidas a los tratamientos con agua tienen un ISA menor que la muestra sin tratar.

Cuadro 14. Propiedades funcionales del subproducto de naranja tratado con ultrasonido

Propiedad funcional	Naranja sin tratar	Con agua 3 min	Sonda 3 min 300 W
Capacidad de retención de agua (g/g)	6.22 ± 0.08 c	8.46 ± 0.11 b	8.83 ± 0.09 a
Hinchamiento (mL/g)	8.25 ± 0.08 c	9.72 ± 0.21 b	10.51 ± 0.19 a
Índice de Absorción de Agua (IAA; g de gel/g de muestra)	6.33 ± 0.07 b	8.10 ± 0.16 a	7.94 ± 0.12 a
Índice de Solubilidad en Agua (ISA; %)	15.58 ± 1.05 a	5.01 ± 0.95 b	2.56 ± 0.84 c

Datos expresados como media ± DE (n=3). Valores con diferente letra en la misma fila indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$) (Prueba de Tukey-Kramer).

7.2.6. Caracterización fisicoquímica del subproducto de naranja

El **Cuadro 15** muestra los resultados para densidad aparente y real, porosidad, capacidad de retención de aceite y viscosidad. La densidad aparente de los subproductos de naranja tratados fueron significativamente menores comparados con la naranja sin tratar; El tratamiento con ultrasonido redujo este valor un 9 %; por lo que esta propiedad no fue mejorada por efecto del ultrasonido. Para densidad real no hubo ningún cambio, ni por hidratación, ni por aplicación de ultrasonido. Para el caso de la porosidad, la muestra tratada con agua durante 3 minutos tiene la porosidad mayor, seguida de la muestra tratada con ultrasonido y por último la muestra sin tratar.

Para capacidad de retención de aceite, ambos tratamientos evaluados aumentaron esta propiedad en los subproductos de naranja variedad March en un 24-34 %. Sin embargo, el ultrasonido no mejoró estas características. Para viscosidad, las muestras humedecidas y las tratadas con ultrasonido incrementaron en un 21-25 % respecto a las muestras sin tratar, sin presentar diferencia por efecto del ultrasonido.

Cuadro 15. Caracterización fisicoquímica del subproducto de naranja sometido a ultrasonido

Propiedad fisicoquímica	Naranja sin tratar	Con agua 3 min	Sonda 3 min 300 W
Densidad aparente (g/mL)	0.656 ± 0.004 a	0.566 ± 0.003 c	0.594 ± 0.002 b
Densidad real (g/mL)	1.4292 ± 0.0002 a	1.4295 ± 0.0004 a	1.4294 ± 0.0004 a
Porosidad (%)	54.09 ± 0.32 c	60.42 ± 0.18 a	58.42 ± 0.12 b
Capacidad de retención de aceite (mL/g)	2.03 ± 0.10 c	2.72 ± 0.14 a	2.52 ± 0.14 b
Viscosidad (cP)	12.59 ± 1.03 b	15.26 ± 1.25 a	15.80 ± 1.76 a

Datos expresados como media ± DE (n=3). Valores con diferente letra en la misma fila indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$) (Prueba de Tukey-Kramer).

Las propiedades como la viscosidad pueden ser características importantes en términos de beneficios fisiológicos. Las fibras viscosas son aquellas que tienen propiedades formadoras de gel en el tracto intestinal, En general, las fibras solubles tienen una viscosidad más alta que las fibras insolubles (Slavin, 2013). Las fibras solubles se caracterizan por su capacidad para aumentar la viscosidad del bolo alimenticio, para reducir la respuesta glucémica y el colesterol plasmático (Foschia *et al.*, 2013).

En esta sección se muestran los resultados obtenidos en la prueba de capacidad de adsorción de glucosa de las muestras (**Cuadro 16**). No se observaron diferencias significativas entre las capacidades de adsorción con agua 3 min y sonda 3 min 300 W. Sin embargo, sus capacidades de adsorción fueron significativamente mayores en comparación con la naranja sin tratar, obteniéndose mejores resultados con la muestra tratada ultrasónicamente. Esto puede atribuirse a que es la muestra que tiene menos glucosa, consecuencia del tratamiento, por lo que libera menos glucosa al sobrenadante.

Cuadro 16. Capacidad de adsorción de glucosa y glucosa enlazada del subproducto sometido a ultrasonido

Muestra	Disolvente	Glucosa en el sobrenadante (mMol/L)	Glucosa enlazada (mMol/g)
Naranja sin tratar	Agua	4.76 ± 0.38 a	
Con Agua 3 min		1.08 ± 0.02 b	
Sonda 3 min 300 W		0.61 ± 0.05 b	
Naranja sin tratar	Glucosa 5 mM	9.52 ± 0.29 a	-4.52 ± 0.32 b
Con agua 3 min		5.64 ± 0.18 b	-0.64 ± 0.16 a
Sonda 3 min 300 W		5.23 ± 0.07 b	-0.23 ± 0.08 a
Naranja sin tratar	Glucosa 10 mM	15.16 ± 0.38 a	-5.16 ± 0.42 b
Con agua 3 min		10.66 ± 0.05 b	-0.66 ± 0.04 a
Sonda 3 min 300 W		10.64 ± 0.07 b	-0.64 ± 0.03 a
Naranja sin tratar	Glucosa 20 mM	24.38 ± 0.53 a	-4.38 ± 0.59 b
Con agua 3 min		20.28 ± 0.24 b	-0.28 ± 0.24 a
Sonda 3 min 300 W		19.32 ± 0.40 b	0.68 ± 0.44 a
Naranja sin tratar	Glucosa 50 mM	49.23 ± 1.18 a	0.77 ± 1.44 b
Con agua 3 min		46.05 ± 0.84 b	3.95 ± 0.50 a
Sonda 3 min 300 W		44.71 ± 0.54 b	5.29 ± 0.62 a
Naranja sin tratar	Glucosa 100 mM	92.12 ± 1.74 a	7.88 ± 1.54 a
Con agua 3 min		92.04 ± 0.82 a	7.96 ± 1.00 a
Sonda 3 min 300 W		91.82 ± 1.63 a	8.18 ± 1.32 a

Datos expresados como media ± DE (n=3). Valores con diferente letra en la misma columna con la misma gama de color indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$) (Prueba de Tukey-Kramer).

Por el contrario los valores de glucosa en el sobrenadante de la naranja sin tratar son elevados, ya que esta muestra tiene mayor cantidad de azúcares que son liberados al entrar en contacto con el disolvente (**Cuadro 12**).

Se observa que la capacidad de adsorción de glucosa de las muestras está directamente relacionada con la concentración de glucosa disponible; esto también

fue reportado por Gohil y Lele (2014) Las cantidades más altas de glucosa se unieron con la concentración más elevada de glucosa; esto también fue observado por Ahmed *et al.* (2011). La mayor capacidad de adsorción de las muestras puede atribuirse a su contenido de fibra dietética, ya que tanto las fibras insolubles como las solubles adsorben la glucosa (Adiotomre *et al.*, 1990).

De acuerdo a los datos reportados por Chau *et al.* (2003), fibras provenientes de naranja presentaron capacidades de absorción de glucosa semejantes a las mostradas en este estudio por la muestra tratada con ultrasonido tipo sonda por 3 min a 300 W y por la muestra tratada con agua durante 3 min. Esto es relevante, ya que el polvo empleado en el estudio no está compuesto solo por fibra como los probados por Chau *et al.* (2003).

El efecto de las muestras sobre la difusión de glucosa se presenta en el **Cuadro 17**. En el presente estudio, el movimiento de glucosa a través de la membrana de diálisis se monitoreó desde los 60 min hasta los 240 min y se encontró que todas las muestras tuvieron valores más altos en comparación con el control. Esto puede atribuirse a que las muestras contienen azúcares reductores que se disuelven en la solución de glucosa y se difunden a la solución externa a través de la membrana de diálisis.

Cuadro 17. Efecto de los subproductos tratados con ultrasonido sobre la difusión de glucosa

Muestra	Contenido de glucosa en el dializado (mMol/L)			
	60 min	120 min	180 min	240 min
Control	1.35 ± 0.01 c	1.79 ± 0.04 c	1.88 ± 0.05 d	2.04 ± 0.02 c
Naranja sin tratar	1.83 ± 0.05 a	2.25 ± 0.04 a	2.39 ± 0.03 a	2.62 ± 0.04 a
Con agua 3 min	1.57 ± 0.05 b	2.09 ± 0.02 b	2.10 ± 0.06 b	2.21 ± 0.06 b
Sonda 3 min 300 W	1.52 ± 0.03 bc	2.01 ± 0.04 b	2.03 ± 0.04 c	2.03 ± 0.02 c

Datos expresados como media ± DE. Experimentos con tres réplicas cada uno. Valores con diferente letra en la misma columna indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$) (Prueba de Tukey-Kramer).

Cabe destacar que la muestra tratada con ultrasonido tipo sonda por 3 min 300 W tiene las concentraciones más bajas de glucosa en comparación con la naranja sin tratar; nuevamente dicho efecto podría estar relacionado a la menor concentración de glucosa presente en el subproducto. Sin embargo, la información sugiere que el subproducto tratado con ultrasonido no mejora la capacidad de enlazamiento de glucosa.

El índice de retraso de diálisis de glucosa (GDRI) es un índice *in vitro* útil para predecir el efecto de una fibra en el retraso en la absorción de glucosa en el tracto gastrointestinal (López *et al.*, 1996). Los datos obtenidos para las muestras evaluadas en este estudio se muestran en el **Cuadro 18**.

En el presente estudio, los valores de GDRI aumentaron a lo largo del tiempo, excepto en la naranja sin tratar, donde se encontró el GDRI más alto a los 120 min. A los 60 min, el GDRI de las muestras tratadas fue significativamente mayor que el de la naranja sin tratar (-36.15%). Se observó una tendencia similar a 120, 180 y 240 min de incubación. Las muestras tratadas tienen un porcentaje mayor de fibra soluble, al solubilizarse los hidratos de carbono presentes en el sistema, aumenta la viscosidad dentro de la membrana y con ello se crea una barrera que impide la difusión de la glucosa al medio (Gorgue *et al.*, 1992).

Cuadro 18. Efectos de los subproductos tratados con ultrasonido sobre el índice de retraso de la diálisis de glucosa (GDRI)

Muestra	GDRI			
	60 min	120 min	180 min	240 min
Naranja sin tratar	-36.15 ± 4.26 b	-25.89 ± 2.74 b	-27.01 ± 1.27 b	-28.18 ± 0.66 c
Con agua 3 min	-16.64 ± 4.05 a	-17.04 ± 0.53 a	-11.73 ± 1.16 a	-8.37 ± 0.00 b
Sonda 3 min 300 W	-12.59 ± 2.37 a	-12.28 ± 0.32 a	-7.95 ± 0.22 a	0.72 ± 0.25 a

Datos expresados como media ± DE (n=3). Valores con diferente letra en la misma columna indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$) (Prueba de Tukey-Kramer).

El retraso en la difusión de la glucosa también podría atribuirse al obstáculo físico que presentan las partículas de fibra hacia las moléculas de glucosa y al

atrapamiento de la glucosa dentro de la red formada por las fibras (Jenkins *et al.*, 1978; López *et al.*, 1996). Diversos autores reportan que los valores del GDRI disminuyen a lo largo del tiempo (Ahmed *et al.*, 2011; Gohil y Lele, 2014). En este estudio se obtuvo una tendencia opuesta y valores negativos, lo que puede ser causado por los azúcares contenidos en la muestra que son liberados y disueltos en la solución de glucosa y la muestra empieza a absorber la glucosa del medio hasta que llega al equilibrio.

Los datos del efecto de la adición de las muestras en el sistema de fibra-almidón- α -amilasa en la tasa de difusión de glucosa y el porcentaje de inhibición de la α -amilasa se muestran en los **Cuadros 19 y 20**.

Cuadro 19. Efecto de los subproductos tratados con ultrasonido sobre la digestibilidad del almidón *in vitro*

Muestra	Contenido de glucosa en el dializado (mMol/L)			
	60 min	120 min	180 min	240 min
Control	1.00 ± 0.15 a	1.45 ± 0.09 a	1.72 ± 0.11 b	1.83 ± 0.06 b
Naranja sin tratar	0.95 ± 0.12 a	1.52 ± 0.16 a	2.06 ± 0.11 a	2.16 ± 0.11 a
Con agua 3 min	1.01 ± 0.11 a	1.53 ± 0.13 a	1.77 ± 0.11 ab	1.92 ± 0.07 b
Sonda 3 min 300 W	0.90 ± 0.08 a	1.46 ± 0.09 a	1.75 ± 0.10 ab	1.91 ± 0.08 b

Datos expresados como media ± DE. Experimentos con tres réplicas cada uno. Valores con diferente letra en la misma columna indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$) (Prueba de Tukey-Kramer).

En comparación con el control positivo, la tasa de difusión de la glucosa en los sistemas que contienen los subproductos fue igual en cada intervalo de tiempo.

El máximo porcentaje de inhibición de la enzima α -amilasa (%IAA) se obtuvo con la muestra tratada con sonda por 3 min a 300 W a los 60 min de incubación (14.81%); valor similar a lo reportado por Chau *et al.* (2003). A partir de los resultados obtenidos se observó que los valores del %IAA de todas las muestras generalmente disminuían a medida que aumentaba el tiempo de incubación, excepto en la muestra tratada con agua por 3 min que tiene un comportamiento muy variante y su máximo

%IAA fue a los 180 min. También se ha reportado en estudios anteriores que los valores de %IAA de las muestras de fibra disminuyeron con el tiempo (Chau *et al.*, 2003; Ahmed *et al.*, 2011).

Cuadro 20. Efecto de los subproductos tratados con ultrasonido sobre el porcentaje de inhibición de la enzima α -amilasa

Muestra	% IAA			
	60 min	120 min	180 min	240 min
Naranja sin tratar	0.04 \pm 5.05 b	-6.63 \pm 7.04 a	-17.33 \pm 1.98 b	-16.88 \pm 3.36 b
Con agua 3 min	-6.75 \pm 0.35 b	-7.13 \pm 0.95 a	-2.41 \pm 0.67 a	-3.85 \pm 1.18 a
Sonda 3 min 300 W	14.81 \pm 2.94 a	2.60 \pm 0.83 a	0.08 \pm 3.01 a	-3.70 \pm 1.24 a

Datos expresados como media \pm DE. Experimentos con tres réplicas cada uno. Valores con diferente letra en la misma columna indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$) (Prueba de Tukey-Kramer).

Se sugiere que el efecto de la fibra dietética insoluble en la inhibición de la difusión de glucosa en el intestino delgado se debe a la adsorción o inclusión de las moléculas de azúcar más pequeñas dentro de la estructura de las partículas de fibra (Jenkins *et al.*, 1978; Nishimune *et al.*, 1991). El retraso de la difusión de glucosa también se debe a la inhibición de la α -amilasa, limitando de este modo la liberación de glucosa del almidón. El retraso de la actividad de α -amilasa (**Cuadro 20**) y la cinética de amilólisis (**Cuadro 19**) por la muestra de naranja tratada ultrasónicamente podrían atribuirse a varios factores posibles, tales como la concentración de fibra, la presencia de inhibidores sobre fibras, la encapsulación de almidón y enzima por fibras, reducción de la accesibilidad de la enzima al almidón debido a la viscosidad y la adsorción directa de la enzima sobre las fibras que conduce a la disminución de la actividad de amilasa (Gorgue *et al.*, 1992; Ou *et al.*, 2001; Chau *et al.*, 2003).

7.2.7. Evaluación sensorial de las muestras de subproducto de naranja sin tratar y tratadas

Para determinar el efecto de los tratamientos en las propiedades organolépticas del subproducto de naranja se realizó una evaluación sensorial. Los datos se muestran en el **Cuadro 21**, donde se puede observar que para los parámetros evaluados no hubo diferencia significativa en las muestras que fueron sometidas a un tratamiento comparándolas con la muestra sin tratar. Sin embargo, los panelistas no entrenados evaluaron el agrado global de las muestras como Ni me gusta ni me disgusta; por lo que, se tendrían que buscar alternativas para mejorar el sabor y el agrado global de los polvos.

Cuadro 21. Evaluación sensorial de los subproductos de naranja

Muestra	Apariencia	Color	Olor	Sabor	Agrado global
Naranja sin tratar	6.33 ± 1.54 a	6.70 ± 1.26 a	5.90 ± 1.65 a	4.00 ± 1.89 a	4.70 ± 1.76 a
Con agua 3 min	6.87 ± 1.17 a	6.33 ± 1.18 a	5.80 ± 1.42 a	4.87 ± 2.08 a	5.27 ± 1.91 a
Sonda 3 min 300 W	6.48 ± 1.15 a	6.53 ± 0.90 a	6.03 ± 1.22 a	4.23 ± 1.57 a	4.87 ± 1.55 a

Datos expresados como media ± DE (n=3). Valores con diferente letra en la misma columna indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$) (Prueba de Tukey-Kramer). Escala de 1 a 9.

También se evaluaron los parámetros de color amarillo, amargor, resabio y olor aromático de los polvos de naranja obtenidos en este estudio en un escala de 0 a 10, que significaban ninguno a notorio, respectivamente, y los datos se presentan en el **Cuadro 22**. El tratamiento con agua durante 3 min disminuyó el color amarillo, el sabor amargo, el olor aromático y el resabio del subproducto de naranja. El tratamiento con ultrasonido tipo sonda a 300 W por 3 min también disminuyó estos parámetros; sin embargo, esta disminución es menor en comparación que el tratamiento con agua. Con estos resultados se puede concluir que la hidratación tiende a generar un producto de naranja más insípido y con menor aroma, mientras que el ultrasonido mejora el sabor y conserva el aroma.

Cuadro 22. Evaluación de atributos de los subproductos de naranja

Muestra	Color amarillo	Sabor amargo	Resabio	Olor aromático
Naranja sin tratar	6.72 ± 2.04 a	6.51 ± 2.63 a	6.29 ± 2.33 a	5.72 ± 2.52 a
Con agua 3 min	4.28 ± 2.68 b	4.95 ± 2.34 b	4.18 ± 2.45 b	3.72 ± 2.36 b
Sonda 3 min 300 W	5.38 ± 1.65 b	5.93 ± 2.08 ab	5.14 ± 2.53 ab	5.46 ± 2.18 a

Datos expresados como media ± DE. Valores con diferente letra en la misma columna indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$) (Prueba de Tukey-Kramer).

7.3. Ensayos *in vivo*

Los pacientes con diabetes deben tener un control metabólico óptimo, es decir, mantener los niveles sanguíneos basales de glucosa y lípidos, controlar la presión arterial y evitar alteraciones renales, para prevenir y controlar las complicaciones propias de la enfermedad. El propósito de aminorar las complicaciones de la diabetes representa una alternativa terapéutica de gran importancia, sobre todo por los altos costos de sus tratamientos. Gracias a ello, la búsqueda de alimentos nutraceuticos es constante, ya que tienen la ventaja de que, además de ser más económicos, presentan menos efectos secundarios. Por lo anterior, para determinar el posible efecto antidiabético del subproducto de naranja se realizaron ensayos *in vivo* en un modelo de diabetes inducido con dieta alta en grasa y estreptozotocina (STZ).

7.3.1. Efecto del subproducto de naranja sobre el consumo de alimento de ratas diabéticas

La polifagia (incremento de apetito y el consecuente aumento en el consumo de alimento), junto con la polidipsia (sed excesiva) y la poliuria (excreción excesiva de orina), son los tres principales síntomas tempranos de la diabetes fáciles de detectar.

La **Figura 4** corresponde a la cantidad promedio de alimento consumido por animal de cada uno de los grupos de experimentación (g/día). Se puede observar que hay una diferencia entre los grupos control, ya que desde un inicio y a lo largo de las seis semanas los animales sanos consumen más gramos de alimento con respecto a los animales enfermos. Esto es debido a que los animales diabéticos tienen un régimen de dieta alta en grasa, lo cual provoca que las ratas se sientan satisfechas con menor cantidad de alimento.

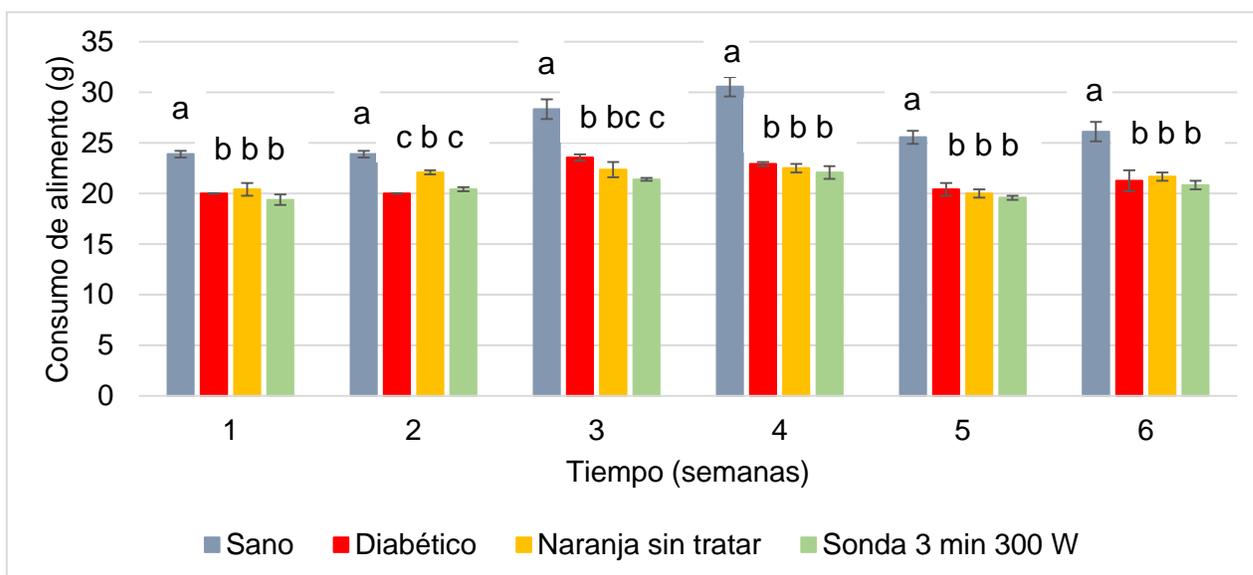


Figura 4. Consumo de alimento de ratas macho Wistar experimentales durante las 6 semanas de tratamiento

Los datos se expresan como la media \pm Error estándar (EE). Letras diferentes en cada semana indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$) con la prueba de Tukey-Kramer.

En la primer semana, no existe diferencia significativa entre los dos grupos con los tratamientos de fibras y el control diabético; sin embargo, en la segunda semana hubo un aumento significativo en este consumo, con un valor de 10.42% para el grupo suplementado con el subproducto de naranja sin tratar comparado con el grupo control diabético. En la tercera semana, los grupos suplementados con fibra tienen un menor consumo de alimento tomando como referencia al grupo control, la naranja sin tratar redujo un 5% y el subproducto tratado con sonda disminuyó 9%.

Aunque se observa la misma tendencia por el resto de las semanas, esta disminución no fue significativa.

7.3.2. Efecto del subproducto de naranja sobre el peso corporal de ratas diabéticas

La relación de peso corporal de las ratas diabéticas, desde el día de la asignación de los grupos (semana cero) hasta el final del experimento se presenta en la **Figura 5**. En la semana dos se puede distinguir que los animales del control diabético y los animales que fueron suplementados con el subproducto de naranja sin tratar son estadísticamente diferentes, las ratas con el tratamiento tuvieron una menor ganancia de peso de manera significativa en un 8 % en comparación con el control diabético. En la última semana de tratamiento, el grupo que tuvo el menor peso corporal fue el grupo suplementado con el subproducto de naranja tratado con ultrasonido; el grupo suplementado con el subproducto de naranja sin tratar y el grupo tratado con ultrasonido fueron estadísticamente similares al del grupo diabético.

El modelo de rata alimentadas con dieta alta en grasa con dosis baja de STZ (35 mg/kg) puede considerarse más representativo del estado fisiopatológico de la diabetes tipo 2 y va acompañado de un aumento marginal del peso corporal en contraste con la pérdida catabólica de peso corporal, característica de la condición diabética producida por la dosis alta de STZ (Srinivasan *et al.*, 2005).

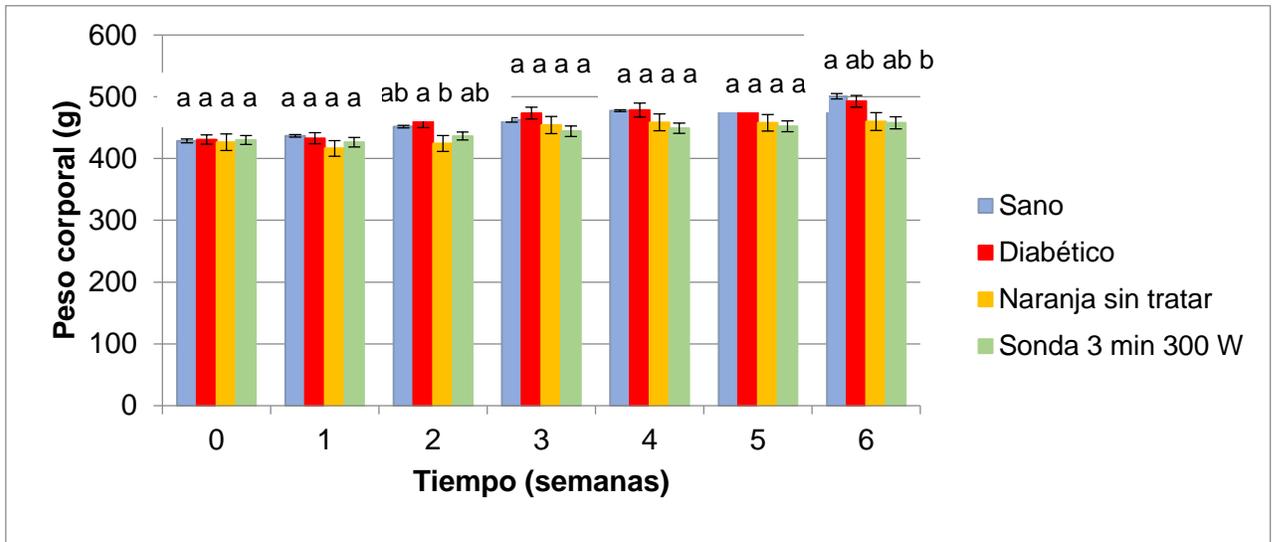


Figura 5. Peso corporal de ratas macho Wistar experimentales durante las 6 semanas de tratamiento

En la semana cero, las ratas diabéticas se dividieron aleatoriamente en 3 grupos. Una semana antes fue la inducción con STZ. Las ratas (excepto el control sano) consumieron una dieta alta en grasa durante 5 semanas previo a la inducción y después de ésta. Los datos se expresan como la media \pm EE. Letras diferentes en cada semana indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$) con la prueba de Tukey-Kramer.

En individuos obesos, la acumulación de grasa abdominal produce liberación de ácidos grasos a través de la vena porta y ocasiona un exceso de síntesis hepática de triglicéridos, resistencia a la insulina e hiperinsulinemia. La grasa tisular tiene aparentemente dos mecanismos en la fisiopatología de la diabetes. Por un lado, aumenta la demanda de insulina y por otro, en individuos obesos aumenta la resistencia a la insulina y, por consiguiente, la hiperinsulinemia (Chan *et al.*, 1994).

7.3.3. Efecto del subproducto de naranja sobre la concentración de glucosa sanguínea de ratas diabéticas

La STZ genera citotoxicidad sobre las células β del páncreas, debido a su afinidad por estas células; su mecanismo de acción se basa en la generación de radicales libres que causan la fragmentación del ADN, generando la destrucción progresiva de las células β -pancreáticas, y reduciendo así la producción y secreción de insulina. Lo anterior provocará una disminución en la incorporación de la glucosa en tejidos periféricos,

como el adiposo y muscular y, por lo tanto, un incremento en la glucemia (Ling, 2001; Szkudelski, 2001; Srinivasan *et al.*, 2005).

En la **Figura 6** se presentan las concentraciones de glucosa sanguínea de los animales en ayuno a lo largo de las semanas de tratamiento. Se puede observar que en la semana 0 existe una diferencia significativa entre el grupo control sano y diabético, confirmándose la presencia de la enfermedad. Los datos son similares a lo reportado en animales sanos por Yin *et al.*, (2011), donde las concentraciones de glucosa en sangre en ayunas oscilan entre 70-100 mg/dL; con valores mayores se consideran animales con alteraciones.

La diabetes es una enfermedad progresiva, incrementando los niveles de glucosa a través del tiempo. El grupo control diabético presentó valores de glucosa promedio de 287 mg/dL al inicio, y después de 5 semanas, los animales presentaron niveles de 338 mg/dL, un grado más avanzado de la enfermedad.

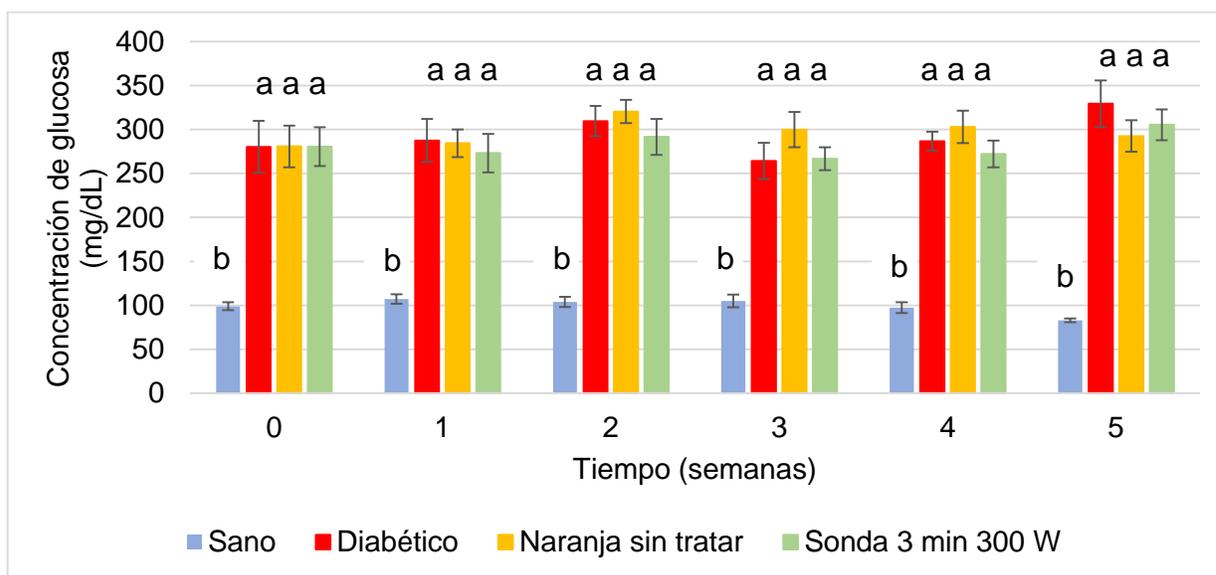


Figura 6. Concentración de glucosa sanguínea en sangre periférica de ratas macho Wistar experimentales durante las 5 semanas de tratamiento antes del sacrificio.

En la semana cero, las ratas diabéticas se dividieron aleatoriamente en 3 grupos. Una semana antes fue la inducción con STZ. Las ratas (excepto el control sano) consumieron una dieta alta en grasa durante 5 semanas previas a la inducción y después de ésta. Los datos se expresan como la media \pm EE. Letras diferentes en cada semana indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$) con la prueba de Tukey-Kramer.

Se puede observar que los grupos de animales alimentados con una dieta alta en grasa suplementada con fibra tuvieron una reducción en la concentración de la glucosa sanguínea en la última semana de tratamiento, en comparación con el control diabético. Sin embargo, no fue significativa.

Al realizar la determinación de glucosa en suero colectado en el sacrificio de las ratas del experimento *in vivo*, observamos diferencia significativa entre el control sano y los animales diabéticos, confirmando la hiperglucemia característica de la enfermedad. Sin embargo, los grupos tratados con los subproductos no tuvieron diferencia significativa con el control diabético (**Cuadro 23**).

Cuadro 23. Determinación de glucosa en suero de ratas macho Wistar experimentales después del sacrificio.

Grupo	Glucosa en suero
Sano	86.39 ± 9.39 b
Diabético	274.64 ± 48.54 a
Naranja sin tratar	261.74 ± 33.44 a
Sonda 3 min 300 W	270.48 ± 33.24 a

Los datos se expresan en mg/dL y representan la media ± DE. Letras diferentes en la columna indican diferencia significativa ($\alpha = 0.05$) con la prueba de Tukey-Kramer

7.3.4. Efecto del subproducto de naranja sobre el tamaño de los islotes de Langerhans de ratas diabéticas

Se realizó un análisis histopatológico del páncreas con el objetivo de observar el efecto de los tratamientos sobre el tamaño de los islotes de Langerhans, los cuales corresponden a la porción endócrina del páncreas; las hormonas más importantes que producen son la insulina y el glucagón.

En la **Figura 7** se muestran ejemplos de las microfotografías representativas de los cortes realizados sobre el páncreas de los animales en estudio. A partir de este tipo de imágenes se tomaron las mediciones del eje mayor de cada islote y se calculó un promedio por cada grupo de experimentación. Los resultados se presentan en el **Cuadro 24** y se expresan como unidades arbitrarias.

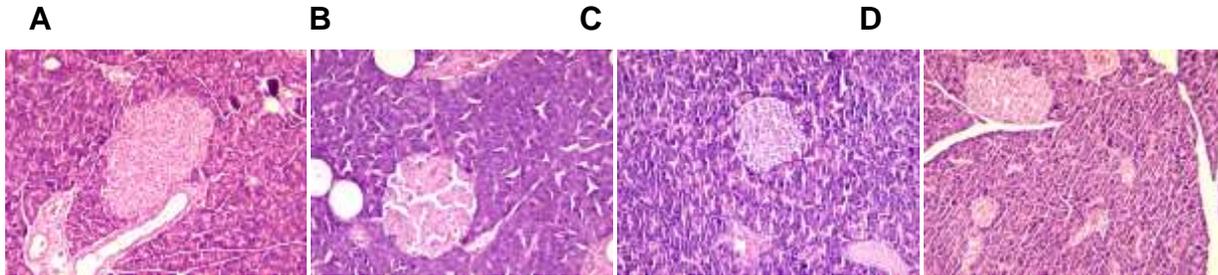


Figura 7. Microfotografías representativas del análisis histopatológico de los islotes de Langerhans de ratas macho Wistar experimentales. A: grupo sano; B: grupo diabético; C: grupo suplementado con el subproducto de naranja sin tratar; D: grupo suplementado con el subproducto de naranja tratado con ultrasonido. Todas las microfotografías tienen un aumento de 300X.

En la **Figura 7-A** se puede observar el islote de una rata sana, el cual se puede tomar como referencia de un islote sin daño o alteraciones, con un tamaño de 10.05 unidades arbitrarias en promedio. La **Figura 7-B** pertenece al páncreas de un animal diabético, en la cual se puede ver una disminución significativa en el tamaño del eje con un valor de 2.38 unidades arbitrarias; visiblemente existe un menor número de células, además de presentar rompimientos en la estructura y daños. Esto se debe a que el páncreas es un tejido muy susceptible al daño oxidativo producido por la STZ, y altos niveles glucosa provocan un incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno (EROs). Aunado a lo anterior, las células β tienen baja expresión de enzimas antioxidantes en comparación con otro tipo de células, por lo que el daño es mayor (Tiedge *et al.*, 1997).

Cuadro 24. Efecto del subproducto de naranja tratado con ultrasonido en los islotes de Langerhans

	Sano	Diabético	Naranja sin tratar	Sonda 3 min 300 W
Número de islotes por corte	35.67 ± 9.48 a	12.00 ± 4.07 b	12.75 ± 4.98 b	15.14 ± 4.49 b
Tamaño de los islotes de Langerhans	10.05 ± 1.48 a	7.67 ± 1.13 b	5.61 ± 1.03 c	6.36 ± 1.17 c

Los datos representan la media ± DE. Letras diferentes en la misma fila indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$) con la prueba de Tukey-Kramer.

En ninguno de los tratamientos se observó un aumento significativo en el tamaño de los islotes en comparación con el control diabético; de hecho los grupos suplementados con el subproducto de naranja mostraron valores menores; sin embargo, en la cuantificación de islotes de Langerhans por corte se observa un incremento no significativo en el número de éstos cuando se compara contra el control diabético (**Cuadro 24**).

Debido a que tampoco se observó efecto en el tamaño de los islotes, los subproductos de naranja no tienen la capacidad de proteger a las células β del páncreas.

7.3.5. Efecto del subproducto de naranja sobre marcadores de daño renal de ratas diabéticas

La nefropatía diabética es una complicación de la diabetes; es un proceso patológico irreversible y progresivo que culmina con la insuficiencia renal crónica (Martín-López *et al.*, 2002). Una de las características es la hipertrofia de los riñones, por lo que en este experimento se tomó en cuenta como un indicador del control de esta complicación el peso relativo de los riñones.

En el **Cuadro 25** se encuentran los resultados para este parámetro, en donde se puede observar que el peso relativo de los riñones de las ratas diabéticas no fue estadísticamente mayor al de las ratas sanas, con un valor de 0.0066 y 0.0060 respectivamente.

Por otro lado, los grupos de ratas diabéticas a los que se les incorporó en su dieta el subproducto de naranja tratado y sin tratar no mostraron diferencia significativa al ser comparado con el grupo control diabético. Sin embargo, el único grupo diabético que fue estadísticamente mayor al grupo control sano, fue el grupo de animales diabéticos que fueron suplementados con el subproducto de naranja sin tratar. Esto puede ser consecuencia de los altos niveles de glucosa, al estrés oxidativo y a interrelaciones hormonales en las que se implica a la hormona de crecimiento, el glucagón, la insulina, las catecolaminas y el sistema renina-angiotensina, ya que

producen cambios morfológicos caracterizados por el aumento de tamaño de los riñones en general, y de los glomérulos en particular, con aumento de la superficie de filtración (Viberti, 1979).

Cuadro 25. Parámetros de daño renal en ratas macho Wistar experimentales

Grupo	Peso relativo de los riñones ¹	Creatinina ²	Urea ²	Ácido úrico ²
Sano	0.0060 ± 0.0008 b	1.11 ± 0.22 b	44.00 ± 9.09 a	0.57 ± 0.14 c
Diabético	0.0066 ± 0.0009 ab	1.22 ± 0.15 b	20.62 ± 4.04 c	0.75 ± 0.17 bc
Naranja sin tratar	0.0075 ± 0.0012 a	1.59 ± 0.08 a	25.56 ± 7.12 bc	1.36 ± 0.18 a
Sonda 3 min 300 W	0.0067 ± 0.0005 ab	1.11 ± 0.07 b	37.24 ± 4.76 ab	0.97 ± 0.30 b

Los datos representan la media ± DE. Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ($\alpha=0.05$) con la prueba de Tukey-Kramer.

¹Peso relativo= (Peso del riñón/peso corporal).

²Resultados expresados en mg/dL.

En una condición normal, los riñones filtran la sangre para eliminar los productos de desecho, como la creatinina y urea, para posteriormente desecharlos en la orina; si los riñones no funcionan bien, ambos elementos se acumulan en suero. La creatinina es un producto de la descomposición de la creatina, la cual es eliminada por la orina. Este compuesto se utiliza como marcador en la diabetes como medida del funcionamiento renal; si el nivel de creatinina sérica es alto, es posible que esté presente un daño en la función renal (Bazari *et al.*, 2007).

En el **Cuadro 25** se muestra la cuantificación de creatinina en suero. El grupo sano y el grupo diabéticos son similares. Se encontró una diferencia significativa entre el grupo control diabético y el grupo de animales diabéticos suplementados con el subproducto de naranja sin tratar, con un valor de 1.22 y 1.59 respectivamente. Esto es debido a que en un organismo diabético existe un daño a nivel del túbulo proximal y se ve alterada su función de reabsorción, por lo que la creatinina, un metabolito de desecho, se reabsorbe con lo cual aumenta su concentración en suero. Por lo que podríamos decir que el grupo de las ratas diabéticas suplementadas con el subproducto de naranja sin tratar tiene un nivel más avanzado de la enfermedad,

mientras que los animales suplementados con el subproducto de naranja tratado con ultrasonido fueron similares a los controles diabéticos.

Otro parámetro que también se evalúa para determinar si existe daño renal es la urea, ésta se sintetiza en el hígado como producto de desaminación de los aminoácidos y se excreta en la orina (Caravaca *et al.*, 1996). Los datos obtenidos en el estudio nos muestran que el grupo control sano es estadísticamente igual al grupo diabético suplementado con el subproducto de naranja tratado con ultrasonido, teniendo valores similares a lo reportado por Eidi *et al.*, (2006).

El ácido úrico es el producto final del metabolismo de las purinas. Cuando este compuesto está en contacto con altos niveles de sodio, forma cristales de urato monosódico que son la estructura biológica activa del ácido úrico. Los cristales se reabsorben en los túbulos del riñón, pero si existe alguna alteración estructural a nivel tubular, principalmente asociado a la generación de productos de glucosilación avanzada, los cristales no son excretados a través de la orina y quedan circulando en torrente sanguíneo (Torres-Vilora y Zacarias-Castillo, 2002; Jiménez Cocco *et al.*, 2003). Los resultados (**Cuadro 25**) muestran que no hay diferencia significativa en las concentraciones de ácido úrico en suero entre los grupos control sano y diabético. Sin embargo, el grupo que fue suplementado con el subproducto sin tratar tiene un valor superior al control diabético.

En una insuficiencia renal progresiva hay una retención de urea, creatinina y ácido úrico en sangre, las ratas diabéticas que tuvieron una dieta alta en grasa suplementada con el subproducto de naranja sin tratar muestran los niveles más elevados de creatinina y ácido úrico y los riñones con un mayor peso relativo, con lo que podríamos decir que tienen un nivel más avanzado de la enfermedad con un mayor daño.

Cabe destacar que el tratamiento con subproducto de naranja que no fue sometido a tratamiento produce más alteraciones en riñón que el control diabético; mientras que, el subproducto de naranja tratado con ultrasonido no presentó este efecto.

8. CONCLUSIONES

El tratamiento con ultrasonido con un sistema tipo baño no incrementó las propiedades funcionales del subproducto de naranja, mientras que el tipo sonda mejoró las propiedades de hidratación. Esto pudiera estar relacionado a la mayor potencia usada en este último sistema.

Al emplear un sistema tipo sonda, la cavitación provocó modificaciones de la estructura de la matriz y esto se confirmó con el contenido mayor de fibra soluble, dicho efecto podría explicar el aumento de viscosidad, la capacidad de hinchamiento y la inhibición de la enzima α -amilasa en las muestras tratadas. Sin embargo, el ultrasonido disminuyó el contenido de fenoles y flavonoides totales.

Los animales diabéticos tratados con el subproducto modificado con ultrasonido no presentaron una mejoría en el peso corporal, glucosa sanguínea y en la protección de las células β -pancreáticas. Mientras que el subproducto de naranja sin tratar incrementó los niveles de creatinina y ácido úrico, con lo cual las ratas tuvieron un mayor daño de la enfermedad. El subproducto de naranja tratado con ultrasonido no produjo ninguna alteración mayor al ser comparado con el grupo diabético.

El tratamiento con ultrasonido del subproducto de naranja a las condiciones evaluadas, a pesar de que incrementó la concentración de fibra soluble y viscosidad, no es una alternativa viable para mejorar las propiedades antidiabéticas de este material.

9. BIBLIOGRAFÍA

Abou El Hassan, M. A., Touw, D. J., Wilhelm, A. J., Bast, A., & Van der Vijgh, W. J. F. (2000). Stability of monoHER in an aqueous formulation for iv administration. *International journal of pharmaceutics*, 211(1), 51-56.

Adiotomre, J., Eastwood, M. A., Edwards, C., & Brydon, W. G. (1990). Dietary fiber: in vitro methods that anticipate nutrition and metabolic activity in humans. *The American journal of clinical nutrition*, 52(1), 128-134.

Agrawal, Y. O., Sharma, P. K., Shrivastava, B., Ojha, S., Upadhya, H. M., Arya, D. S., & Goyal, S. N. (2014). Hesperidin produces cardioprotective activity via PPAR- γ pathway in ischemic heart disease model in diabetic rats. *PloS ONE*, 9(11), e111212.

Ahmad, M., Ansari, M. N., Alam, A., & Khan, T. H. (2013). Oral Dose of Citrus Peel Extracts Promotes Wound Repair in Diabetic Rats. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 16(20), 1086.

Ahmed, F., Sairam, S., & Urooj, A. (2011). In vitro hypoglycemic effects of selected dietary fiber sources. *Journal of food science and technology*, 48(3), 285-289.

Ajila, C. M., & Rao, U. P. (2013). Mango peel dietary fibre: Composition and associated bound phenolics. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 444-450.

Ajila, C. M., Naidu, K. A., Bhat, S. G., & Rao, U. P. (2007). Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. *Food Chemistry*, 105(3), 982-988.

Akiyama, S., Katsumata, S. I., Suzuki, K., Ishimi, Y., Wu, J., & Uehara, M. (2009a). Dietary hesperidin exerts hypoglycemic and hypolipidemic effects in streptozotocin-induced marginal type 1 diabetic rats. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 46(1), 87-92.

Akiyama, S., Katsumata, S. I., Suzuki, K., Nakaya, Y., Ishimi, Y., & Uehara, M. (2009b). Hypoglycemic and hypolipidemic effects of hesperidin and cyclodextrin-clathrated hesperetin in Goto-Kakizaki rats with type 2 diabetes. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 73(12), 2779-2782.

Akondi, R. B., Kumar, P., Annapurna, A., & Pujari, M. (2011). Protective Effect of rutin and naringin on sperm quality in streptozotocin (STZ) induced type 1 diabetic rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 10(3), 585.

Alarcon-Aguilara, F. J., Roman-Ramos, R., Perez-Gutierrez, S., Aguilar-Contreras, A., Contreras-Weber, C. C., & Flores-Saenz, J. L. (1998). Study of the anti-hyperglycemic effect of plants used as antidiabetics. *Journal of ethnopharmacology*, 61(2), 101-110.

Amaya-Cruz, D. M., Rodríguez-González, S., Pérez-Ramírez, I. F., Loarca-Piña, G., Amaya-Llano, S., Gallegos-Corona, M. A., & Reynoso-Camacho, R. (2015). Juice by-products as a source of dietary fibre and antioxidants and their effect on hepatic steatosis. *Journal of Functional Foods*, 17, 93-102.

Anderson, R. A., Conway, H., & Peplinski, A. J. (1970). Gelatinization of corn grits by roll cooking, extrusion cooking and steaming. *Starch-Stärke*, 22(4), 130-135.

AOAC. (1999). International. Official Methods of Analysis of AOAC International. Method AOAC 985.29. Association of Official Analyst Chemists.

Aranceta Bartrina J. (2007). Dieta y riesgo cardiovascular. Estudio DORICA II. Madrid: Editorial Médica Panamericana.

Arena, E., Fallico, B., & Maccarone, E. (2000). Influence of carotenoids and pulps on the color modification of blood orange juice. *Journal of food science*, 65(3), 458-460.

Aruoma, O. I., Landes, B., Ramful-Baboolall, D., Bourdon, E., Neergheen-Bhujun, V., Wagner, K. H., & Bahorun, T. (2012). Functional benefits of citrus fruits in the management of diabetes. *Preventive Medicine*, 54, S12-S16.

Ashafaq, M., Varshney, L., Khan, M. H. A., Salman, M., Naseem, M., Wajid, S., & Parvez, S. (2014). Neuromodulatory effects of hesperidin in mitigating oxidative stress in streptozotocin induced diabetes. *BioMed Research International*, 2014, 249031:9.

Ashokkumar, M., & Mason, T. J. (2007). Sonochemistry. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology On-Line*, Wiley Interscience.

Bagherian, H., Ashtiani, F. Z., Fouladitajar, A., & Mohtashamy, M. (2011). Comparisons between conventional, microwave-and ultrasound-assisted methods for extraction of pectin from grapefruit. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 50(11), 1237-1243.

Bampidis, V. A., & Robinson, P. H. (2006). Citrus by-products as ruminant feeds: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 128(3), 175-217.

Barthelemy-González C., Cornago-Ramírez P., Esteban-Santos S., Gálvez-Morros M. (2013). *La química en la vida cotidiana*. Editorial UNED.

Bazari, H. (2007). Approach to the patient with renal disease. *Cecil Medicine*. 23rd ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier, 569-580.

Benavente-Garcia, O., & Castillo, J. (2008). Update on uses and properties of citrus flavonoids: new findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(15), 6185-6205.

Bhattacharya, S., Oksbjerg, N., Young, J. F., & Jeppesen, P. B. (2014). Caffeic acid, naringenin and quercetin enhance glucose-stimulated insulin secretion and glucose sensitivity in INS-1E cells. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 16(7), 602-612.

Boluda-Aguilar, M., García-Vidal, L., del Pilar González-Castañeda, F., & López-Gómez, A. (2010). Mandarin peel wastes pretreatment with steam explosion for bioethanol production. *Bioresource Technology*, 101(10), 3506-3513.

Boumendjel, A., Mariette, A. M., Bresson-Rival, D., & Perrier, E. (2003). Hesperitin esters: Highly stable flavanones with both free radical scavenging and anti-elastase activities. *Pharmaceutical biology*, 41(7), 546-549.

Bousbia, N., Vian, M. A., Ferhat, M. A., Meklati, B. Y., & Chemat, F. (2009). A new process for extraction of essential oil from Citrus peels: Microwave hydrodiffusion and gravity. *Journal of Food Engineering*, 90(3), 409-413.

Brummer, Y., Kaviani, M., & Tosh, S. M. (2015). Structural and functional characteristics of dietary fibre in beans, lentils, peas and chickpeas. *Food Research International*, 67, 117-125.

Buscemi, S., Rosafio, G., Arcoleo, G., Mattina, A., Canino, B., Montana, M., ... & Rini, G. (2012). Effects of red orange juice intake on endothelial function and inflammatory markers in adult subjects with increased cardiovascular risk. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 95(5), 1089-1095.

Caravaca, F., Cid, M. C., Galán, J., García, M. C., Cubero, J. J., Arrobas, M., ... & Pizarro, J. L. (1996). Relación entre el aclaramiento de urea y la tasa de catabolismo proteico en pacientes en DPCA: importancia de la función renal residual. *Nefrología*, 16(3).

Cazarolli, L. H., Folador, P., Moresco, H. H., Brighente, I. M. C., Pizzolatti, M. G., & Silva, F. R. M. B. (2009). Mechanism of action of the stimulatory effect of apigenin-6-C-(2"-O- α -L-rhamnopyranosyl)- β -L-fucopyranoside on ¹⁴C-glucose uptake. *Chemico-Biological Interactions*, 179(2), 407-412.

Chan, J. M., Rimm, E. B., Colditz, G. A., Stampfer, M. J., & Willett, W. C. (1994). Obesity, fat distribution, and weight gain as risk factors for clinical diabetes in men. *Diabetes care*, 17(9), 961-969.

Chandrapala, J., Oliver, C., Kentish, S., & Ashokkumar, M. (2012). Ultrasonics in food processing. *Ultrasonics sonochemistry*, 19(5), 975-983.

Chang, Y. C., & Chuang, L. M. (2010). The role of oxidative stress in the pathogenesis of type 2 diabetes: from molecular mechanism to clinical implication. *American Journal of Translational Research*, 2(3), 316-31.

Chau, C. F., & Huang, Y. L. (2003). Comparison of the chemical composition and physicochemical properties of different fibers prepared from the peel of *Citrus*

sinensis L. Cv. Liucheng. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(9), 2615-2618.

Chau, C. F., Huang, Y. L., & Lee, M. H. (2003). In vitro hypoglycemic effects of different insoluble fiber-rich fractions prepared from the peel of *Citrus sinensis* L. cv. Liucheng. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(22), 6623-6626.

Chemat, F., & Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. *Ultrasonics sonochemistry*, 18(4), 813-835.

Chutkan, R., Fahey, G., Wright, W. L., & McRorie, J. (2012). Viscous versus nonviscous soluble fiber supplements: Mechanisms and evidence for fiber-specific health benefits. *Journal of the American Association of Nurse Practitioners*, 24(8), 476-487.

Condón, S., Raso, J., Pagán, R., Barbosa-Cánovas, G., Tapia, M., & Cano, M. (2005). Microbial inactivation by ultrasound. *Novel food processing technologies*, 423-442.

Conterno, L., Fava, F., Viola, R., & Tuohy, K. M. (2011). Obesity and the gut microbiota: does up-regulating colonic fermentation protect against obesity and metabolic disease?. *Genes & nutrition*, 6(3), 241-260.

Craft, N. E., & Soares, J. H. (1992). Relative solubility, stability, and absorptivity of lutein and beta-carotene in organic solvents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(3), 431-434.

De Moraes Barros, H. R., De Castro Ferreira, T. A. P., & 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.

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.

Deve, A. S., Kumaresan, K., & Rapheal, V. S. (2014). Extraction process optimization of polyphenols from Indian *Citrus sinensis*—as novel antiglycative agents in the management of diabetes mellitus. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, 13(1), 1.

Ding, Q. B., Ainsworth, P., Tucker, G., & Marson, H. (2005). The effect of extrusion conditions on the physicochemical properties and sensory characteristics of rice-based expanded snacks. *Journal of Food engineering*, 66(3), 283-289.

Dřimalová, E., Velebný, V., Sasinková, V., Hromádková, Z., & Ebringerová, A. (2005). Degradation of hyaluronan by ultrasonication in comparison to microwave and conventional heating. *Carbohydrate polymers*, 61(4), 420-426.

Eidi, A., Eidi, M., & Esmaeili, E. (2006). Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, 13(9), 624-629.

Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C., & Attia, H. (2011). Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food chemistry*, 124(2), 411-421.

Escudero Álvarez, E., & González Sánchez, P. (2006). La fibra dietética. *Nutrición hospitalaria*, 21, 61-72.

Eswaran, S., Muir, J., & Chey, W. D. (2013). Fiber and functional gastrointestinal disorders. *The American journal of gastroenterology*, 108(5), 718-727.

Fernández-López, J., Sendra-Nadal, E., Navarro, C., Sayas, E., Viuda-Martos, M., & Alvarez, J. A. P. (2009). Storage stability of a high dietary fibre powder from orange by-products. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(4), 748-756.

Fernández-Mejía, C. (1996). Biología molecular de la diabetes mellitus. *Revista de Endocrinología y Nutrición*, 4(3):55-62.

Ferrier, D. R. (2014). Lippincott's Illustrated Reviews: Bioquímica. Wolters Kluwer Health España, S. A. Lippincott Williams & Wilkins. 6ta edición. China.

Figuerola, F., Hurtado, M. L., Estévez, A. M., Chiffelle, I., & Asenjo, F. (2005). Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. *Food Chemistry*, 91(3), 395-401.

Foschia, M., Peressini, D., Sensidoni, A., & Brennan, C. S. (2013). The effects of dietary fibre addition on the quality of common cereal products. *Journal of Cereal Science*, 58(2), 216-227.

Gallaher, D. D., & Schneeman, B. O. (2001). Dietary fiber. *Present knowledge in nutrition*, 8.

Garau, M. C., Simal, S., Rossello, C., & Femenia, A. (2007). Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties of dietary fibre and antioxidant capacity of orange (*Citrus aurantium* v. Canoneta) by-products. *Food chemistry*, 104(3), 1014-1024.

Gohil, D. D., & Lele, S. S. (2014). Insoluble Vegetable Fiber as a Potential Functional Ingredient: Invitro Studies on Hypoglycemic and Hypocholesterolemic Effect. *American Journal of Food Science and Technology*, 2(2), 48-52.

Gorinstein, S., Martín-Belloso, O., Park, Y. S., Haruenkit, R., Lojek, A., Číž, M., Caspi A.; Libman I. & Trakhtenberg, S. (2001). Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. *Food Chemistry*, 74(3), 309-315.

Grigelmo-Miguel, N., & Martín-Belloso, O. (1998). Characterization of dietary fiber from orange juice extraction. *Food research international*, 31(5), 355-361.

Grigelmo-Miguel, N., & Martín-Belloso, O. (1999). Comparison of dietary fibre from by-products of processing fruits and greens and from cereals. *LWT-Food Science and Technology*, 32(8), 503-508.

Grönroos, A., Pirkonen, P., & Ruppert, O. (2004). Ultrasonic depolymerization of aqueous carboxymethylcellulose. *Ultrasonics Sonochemistry*, 11(1), 9-12.

Hanhineva, K., Törrönen, R., Bondia-Pons, I., Pekkinen, J., Kolehmainen, M., Mykkänen, H., & Poutanen, K. (2010). Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(4), 1365-1402.

Hasanein, P., & Fazeli, F. (2014). Role of naringenin in protection against diabetic hyperalgesia and tactile allodynia in male Wistar rats. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 70(4), 997-1006.

Herrero, A. M., & Romero de Ávila, M. D. (2006). Innovaciones en el procesado de alimentos: Tecnologías no térmicas. *Revista de Medicina de la Universidad de Navarra*, 50(4), 71-74.

Holman, R. R., Paul, S. K., Bethel, M. A., Matthews, D. R., & Neil, H. A. W. (2008). 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *New England Journal of Medicine*, 359(15), 1577-1589.

Hwang, S. L., Shih, P. H., & Yen, G. C. (2012). Neuroprotective effects of citrus flavonoids. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 60(4), 877-885.

Iida, Y., Tuziuti, T., Yasui, K., Towata, A., & Kozuka, T. (2008). Control of viscosity in starch and polysaccharide solutions with ultrasound after gelatinization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(2), 140-146.

Jain, D., Bansal, M. K., Dalvi, R., Urganlawar, A., & Somani, R. (2014). Protective effect of diosmin against diabetic neuropathy in experimental rats. *Journal of Integrative Medicine*, 12(1), 35-41.

Jambrak, A. R., Herceg, Z., Šubarić, D., Babić, J., Brnčić, M., Brnčić, S. R., Bosiljkov, T., Čvek, D., Tripalo, B., & Gelo, J. (2010). Ultrasound effect on physical properties of corn starch. *Carbohydrate Polymers*, 79(1), 91-100.

Jambrak, A. R., Lelas, V., Mason, T. J., Krešić, G., & Badanjak, M. (2009). Physical properties of ultrasound treated soy proteins. *Journal of Food Engineering*, 93(4), 386-393.

Jenkins, D. J., Wolever, T. M., Leeds, A. R., Gassull, M. A., Haisman, P., Dilawari, J., Goff, D. V., Metz, G. L., & Alberti, K. G. (1978). Dietary fibres, fibre analogues,

and glucose tolerance: importance of viscosity. *British Medical Journal*, 1(6124), 1392-1394.

Jiménez Cocco, R. A., López Mena, J. L., & Barranco Ventura, J. (2003). Nivel de conocimiento sobre el ácido úrico en médicos, enfermeras y estudiantes de diferentes Centros de Salud y Universidades de Santo Domingo, febrero-abril 2002. *Ciencia y sociedad*. 28:524-538.

Johansen, J. S., Harris, A. K., Rychly, D. J., & Ergul, A. (2005). Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovascular Diabetology*, 4(5), 1-11.

Jones, J. M. (2014). CODEX-aligned dietary fiber definitions help to bridge the 'fiber gap'. *Nutrition journal*, 13(1):34.

Jung, U. J., Lee, M. K., Jeong, K. S., & Choi, M. S. (2004). The hypoglycemic effects of hesperidin and naringin are partly mediated by hepatic glucose-regulating enzymes in C57BL/KsJ-db/db mice. *The Journal of Nutrition*, 134(10), 2499-2503.

Jung, U. J., Lee, M. K., Park, Y. B., Kang, M. A., & Choi, M. S. (2006). Effect of citrus flavonoids on lipid metabolism and glucose-regulating enzyme mRNA levels in type-2 diabetic mice. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 38(7), 1134-1145.

Kamalakkannan, N., & Prince, P. S. M. (2006). Antihyperglycaemic and Antioxidant Effect of Rutin, a Polyphenolic Flavonoid, in Streptozotocin-Induced Diabetic Wistar Rats. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 98(1), 97-103.

Kardos, N., & Luche, J. L. (2001). Sonochemistry of carbohydrate compounds. *Carbohydrate Research*, 332(2), 115-131.

Khan, M., Bibi, N., & Zeb, A. (2015). Optimization of Process Conditions for Pectin Extraction from Citrus Peel. *Science*, 34(1), 9-15.

Kim, M. S., Hur, H. J., Kwon, D. Y., & Hwang, J. T. (2012). Tangeretin stimulates glucose uptake via regulation of AMPK signaling pathways in C2C12 myotubes and improves glucose tolerance in high-fat diet-induced obese mice. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 358(1), 127-134.

Knorr, D., Froehling, A., Jaeger, H., Reineke, K., Schlueter, O., & Schoessler, K. (2011). Emerging technologies in food processing. *Annual review of food science and technology*, 2, 203-235.

Konak, M., Carman, K., & Aydin, C. (2002). PH—Postharvest Technology: Physical properties of chick pea seeds. *Biosystems Engineering*, 82(1), 73-78.

Lajolo, F. M., Saura-Calixto, F., Penna, E. W. D., & Menezes, E. W. D. (2001). Fibra Dietética en Iberoamérica: Tecnología y salud. *Obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación en alimentos*. Ed. Varela. Brasil. 84-358 p.

Larrauri, J. A. (1999). New approaches in the preparation of high dietary fibre powders from fruit by-products. *Trends in Food Science & Technology*, 10(1), 3-8.

Larrauri, J. A., Rupérez, P., Borroto, B., & Saura-Calixto, F. (1996). Mango peels as a new tropical fibre: preparation and characterization. *LWT-Food Science and Technology*, 29(8), 729-733.

LeRoith, D., Taylor, S. I., & Olefsky, J. M. (2003). Diabetes Mellitus. Texto básico y clínico. 2da. Ed. Ed. Mc-Graw Hill, Interamericana. México, D.F. pág 1331.

Li, X., He, X., Lv, Y., & He, Q. (2014). Extraction and functional properties of water-soluble dietary fiber from apple pomace. *Journal of food process engineering*, 37(3), 293-298.

López, G., Ros, G., Rincón, F., Periago, M. J., Martínez, M. C., & Ortuno, J. (1996). Relationship between physical and hydration properties of soluble and insoluble fiber of artichoke. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(9), 2773-2778.

M'hiri, N., Ioannou, I., Boudhrioua, N. M., & Ghouil, M. (2015). Effect of different operating conditions on the extraction of phenolic compounds in orange peel. *Food and bioproducts processing*, 96, 161-170.

Mahmoud, A. M., Ashour, M. B., Abdel-Moneim, A., & Ahmed, O. M. (2012). Hesperidin and naringin attenuate hyperglycemia-mediated oxidative stress and proinflammatory cytokine production in high fat fed/streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. *Journal of Diabetes and its Complications*, 26(6), 483-490.

Manthey, J. A., & Grohmann, K. (2001). Phenols in citrus peel byproducts. Concentrations of hydroxycinnamates and polymethoxylated flavones in citrus peel molasses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(7), 3268-3273.

Marín, F. R., Soler-Rivas, C., Benavente-García, O., Castillo, J., & Pérez-Alvarez, J. A. (2007). By-products from different citrus processes as a source of customized functional fibres. *Food Chemistry*, 100(2), 736-741.

Martín-López, A. M., Soto-Montenegro, M. L., & Jara-Albarrán, A. (2002). Nefropatía diabética. *Medicina clínica*, 118(8), 312-317.

Mason, T. J. (1998). Power ultrasound in food processing the way forward. *Ultrasound in food processing*. Blackie Academic and Professional. 264.

Mason, T. J., Riera, E., Vercet, A., & Lopez-Buesa, P. (2005). Application of ultrasound. *Emerging technologies for food processing*, 13:323-352.

- Mateos-Aparicio, I., Mateos-Peinado, C., Jiménez-Escrig, A., & Rupérez, P. (2010). Multifunctional antioxidant activity of polysaccharide fractions from the soybean byproduct okara. *Carbohydrate Polymers*, 82(2), 245-250.
- Meléndez-Martínez, A. J., Britton, G., Vicario, I. M., & Heredia, F. J. (2007). Relationship between the colour and the chemical structure of carotenoid pigments. *Food Chemistry*, 101(3), 1145-1150.
- Middleton, Jr, E., & Kandaswami, C. (1994). Potential health-promoting properties of citrus flavonoids. *Food Technology (USA)*. 48, 115–119.
- Miyake, T., Suzuki, K., & Yoneyama, M. (1991). 4G-alfa-D-glucopyranosyl rutin, and its preparation and uses. *EP0420376*.
- Miyake, Y., Suzuki, E., Ohya, S., Fukumoto, S., Hiramitsu, M., Sakaida, K., Osawa, T. & Furuichi, Y. (2006). Lipid-Lowering Effect of Eriocitrin, the Main Flavonoid in Lemon Fruit, in Rats on a High-Fat and High-Cholesterol Diet. *Journal of Food Science*, 71(9), S633-S637.
- Montanari, A., Chen, J., & Widmer, W. (1998). Citrus flavonoids: a review of past biological activity against disease. *Flavonoids in the Living System* 103-116.
- Muhtadi, H., Azizah, T., Suhendi, A., & Yen, K. H. (2015). Antidiabetic and antihypercholesterolemic activities of Citrus sinensis peel: in vivo study. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*, 5(5).
- Mulero, J., Bernabé, J., Cerdá, B., García-Viguera, C., Moreno, D. A., Albaladejo, M. D., Avilés, F., Parra, S., Abellán J. & Zafrilla, P. (2012). Variations on cardiovascular risk factors in metabolic syndrome after consume of a citrus-based juice. *Clinical Nutrition*, 31(3), 372-377.
- Mulet, A., Cárcel, J. A., Benedito, J. & Sanjuan, N. (2002). Applications of low-intensity ultrasonics in the dairy industry. *Engineering and food for the 21st Century*. CRC Press. Boca Raton, Florida. 763-783.
- Mulvihill, E. E., Allister, E. M., Sutherland, B. G., Telford, D. E., Sawyez, C. G., Edwards, J. Y., Markle, J. M., Hegele, R. A., & Huff, M. W. (2009). Naringenin prevents dyslipidemia, apolipoprotein B overproduction, and hyperinsulinemia in LDL receptor–null mice with diet-induced insulin resistance. *Diabetes*, 58(10), 2198-2210.
- Nassar, A. G., AbdEl-Hamied, A. A., & El-Naggar, E. A. (2008). Effect of citrus by-products flour incorporation on chemical, rheological and organoleptic characteristics of biscuits. *World Journal of Agricultural Sciences*, 4(5), 612-616.
- Niture, N. T., Ansari, A. A., & Naik, S. R. (2014). Anti-hyperglycemic activity of rutin in streptozotocin-induced diabetic rats: an effect mediated through cytokines,

antioxidants and lipid biomarkers. *Indian Journal of Experimental Biology*, 52(7), 720-727.

Niu, L. Y., Wu, J. H., Liao, X. J., Chen, F., Wang, Z. F., Zhao, G. H., & Hu, X. S. (2008). Physicochemical characteristics of orange juice samples from seven cultivars. *Agricultural Sciences in China*, 7(1), 41-47.

Ola, M. S., Ahmed, M. M., Ahmad, R., Abuhashish, H. M., Al-Rejaie, S. S., & Alhomida, A. S. (2015). Neuroprotective effects of rutin in streptozotocin-induced diabetic rat retina. *Journal of Molecular Neuroscience*, 56(2), 440-448.

Olives, A., Cámara, M., Sánchez, M., Fernández, V., & López, M. 2006. Application of a UV-vis detection-HPLC method for a rapid determination of lycopene and β -carotene in vegetables. *Food Chemistry*, 95 (2), 328-336.

OMS, Organización Mundial de la Salud. (2016). Citado 11 de Marzo de 2016. Link: <http://www.worlddiabetesday.org/es>.

Onyango, C., Noetzold, H., Bley, T., & Henle, T. (2004). Proximate composition and digestibility of fermented and extruded uji from maize-finger millet blend. *LWT-Food science and Technology*, 37(8), 827-832.

Oomah, B. D., Cardador-Martínez, A., & Loarca-Piña, G. (2005). Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(6), 935-942.

O'Shea, N., Arendt, E. K., & Gallagher, E. (2012). Dietary fibre and phytochemical characteristics of fruit and vegetable by-products and their recent applications as novel ingredients in food products. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 16, 1-10.

Ou, S., Kwok, K. C., Li, Y., & Fu, L. (2001). *In vitro* study of possible role of dietary fiber in lowering postprandial serum glucose. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(2), 1026-1029.

Panda, S., & Kar, A. (2007). Apigenin (4', 5, 7-trihydroxyflavone) regulates hyperglycaemia, thyroid dysfunction and lipid peroxidation in alloxan-induced diabetic mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 59(11), 1543-1548.

Papathanasopoulos, A., & Camilleri, M. (2010). Dietary fiber supplements: effects in obesity and metabolic syndrome and relationship to gastrointestinal functions. *Gastroenterology*, 138(1), 65-72.

Parkar, N., & Addepalli, V. (2014). Amelioration of diabetic nephropathy by orange peel extract in rats. *Natural Product Research*, 28(23), 2178-2181.

Parmar, H. S., & Kar, A. (2007). Antidiabetic potential of *Citrus sinensis* and *Punica granatum* peel extracts in alloxan treated male mice. *Biofactors*, 31(1), 17-24.

- Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Taberner, M., Díaz-Rubio, M. E., Serrano, J., Goñi, I., & Saura-Calixto, F. (2008). Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research International*, 41(3), 274-285.
- Pfander, H., & Witter, F. (1975). Carotenoid glycosides. 2. Carotenoid content of safran. *Helvetica Chimica Acta*, 58, 1608–1620.
- Pfister, S., Meyer, P., Steck, A., & Pfander, H. (1996). Isolation and structure elucidation of carotenoid- glycosyl esters in gardenia fruits (*Gardenia jasminoides* Ellis) and saffron (*Crocus sativus* Linne). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(9), 2612-2615.
- Povey, M. J., & Mason, T. J. (1998). *Ultrasound in food processing*. Springer Science & Business Media.
- Priscilla, D. H., Roy, D., Suresh, A., Kumar, V., & Thirumurugan, K. (2014). Naringenin inhibits α -glucosidase activity: A promising strategy for the regulation of postprandial hyperglycemia in high fat diet fed streptozotocin induced diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions*, 210, 77-85.
- Pu, P., Gao, D. M., Mohamed, S., Chen, J., Zhang, J., Zhou, X. Y., Zhou, N. J., Xie, J., & Jiang, H. (2012). Naringin ameliorates metabolic syndrome by activating AMP-activated protein kinase in mice fed a high-fat diet. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 518(1), 61-70.
- Rahigude, A., Bhutada, P., Kaulaskar, S., Aswar, M., & Otari, K. (2012). Participation of antioxidant and cholinergic system in protective effect of naringenin against type-2 diabetes-induced memory dysfunction in rats. *Neuroscience*, 226, 62-72.
- Rahimi, R., Nikfar, S., Larijani, B., & Abdollahi, M. (2005). A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 59(7), 365-373.
- Ramful, D., Bahorun, T., Bourdon, E., Tarnus, E., & Aruoma, O. I. (2010a). Bioactive phenolics and antioxidant propensity of flavedo extracts of Mauritian citrus fruits: potential prophylactic ingredients for functional foods application. *Toxicology*, 278(1), 75-87.
- Ramful, D., Tarnus, E., Aruoma, O. I., Bourdon, E., & Bahorun, T. (2011). Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulps. *Food Research International*, 44(7), 2088-2099.
- Ramful, D., Tarnus, E., Rondeau, P., Robert Da Silva, C., Bahorun, T., & Bourdon, E. (2010b). Citrus fruit extracts reduce advanced glycation end products (AGEs)-and H₂O₂-induced oxidative stress in human adipocytes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(20), 11119-11129.

Ramos, M. L., Batista, C. M., Gómez, B. C., & Zamora, A. L. (2006). Diabetes, estrés oxidativo y antioxidantes. *Investigación en Salud*, 8(1), 7-15.

Redondo-Cuenca, A., Villanueva-Suárez, M. J., & Mateos-Aparicio, I. (2008). Soybean seeds and its by-product okara as sources of dietary fibre. Measurement by AOAC and Englyst methods. *Food chemistry*, 108(3), 1099-1105.

Reyes, A., Galicia, M., & Carrillo, M. (2011). Antioxidantes: la magia de lo natural. *Revista Tlatemoani*, 2011(8), 1-16.

Rincón, A., Vásquez, M., & Padilla, F. (2005). Composición química y compuestos bioactivos de las harinas de cáscaras de naranja, mandarina y toronja cultivadas en Venezuela. Unidad de Análisis de Alimentos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 55(3), 305-310.

Robertson, J. A., de Monredon, F. D., Dysseleer, P., Guillon, F., Amado, R., & Thibault, J. F. (2000). Hydration properties of dietary fibre and resistant starch: a European collaborative study. *LWT-Food Science and Technology*, 33(2), 72-79.

Rodríguez, R., Jimenez, A., Fernández-Bolaños, J., Guillén, R., & Heredia, A. (2006). Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. *Trends in Food Science & Technology*, 17(1), 3-15.

Rodríguez-Perón, J. M., Menéndez-López, J. R., & Trujillo-López, Y. (2001). Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 30(1), 15-20.

Rojas, E., Molina, R., & Rodríguez, C. (2012). Definición, clasificación y diagnóstico de la diabetes mellitus. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*, 10(1), 1690-3110.

Rombaut, N., Tixier, A. S., Bily, A., & Chemat, F. (2014). Green extraction processes of natural products as tools for biorefinery. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 8(4), 530-544.

Roussos, P. A. (2011). Phytochemicals and antioxidant capacity of orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck cv. Salustiana) juice produced under organic and integrated farming system in Greece. *Scientia Horticulturae*, 129(2), 253-258.

Saija, A., Tomaino, A., Trombetta, D., Pellegrino, M. L., Tita, B., Messina, C., Bonina, F. P., Rocco, C., Nicolosi G. & Castelli, F. (2003). 'In vitro' antioxidant and photoprotective properties and interaction with model membranes of three new quercetin esters. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 56(2), 167-174.

Samman, S., Lyons Wall, P. M., & Cook, N. C. (1998). Flavonoids and coronary heart disease: Dietary perspectives. *Flavonoids in Health and Disease* 469-482.

Sandoval Rincón, J. A. 2011. Paquete Tecnológico Cítricos Producción de planta certificada en vivero. Centro de Investigación Regional Golfo Centro. Campo Experimental Ixtacuaco. Martínez de la Torre, Veracruz. SAGARPA. INIFAP.

Santa Cruz, N. M., & Castillo, R. Z. (2002). Tratamiento farmacológico para la diabetes mellitus. *Revista del Hospital General Dr. Manuel Gea González*, 5(1), 33-41.

Saura-Calixto, F. (2011). Dietary fiber as a carrier of dietary antioxidants: an essential physiological function. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(1), 43-49.

Schmid, G., & Rommel, O. (1939). Rupture of macromolecules with ultrasound. *The Journal of Physical Chemistry A*, 185, 97-139.

Schneeman, B. O. (1987). Soluble vs insoluble fiber: different physiological responses. *Food Technology*.

Serrano, J., Puupponen-Pimiä, R., Dauer, A., Aura, A. M., & Saura-Calixto, F. (2009). Tannins: current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Molecular Nutrition & Food Research*, 53(S2), S310-S329.

Seshadri, R., Weiss, J., Hulbert, G. J., & Mount, J. (2003). Ultrasonic processing influences rheological and optical properties of high-methoxyl pectin dispersions. *Food Hydrocolloids*, 17(2), 191-197.

Sharma, A. K., Bharti, S., Ojha, S., Bhatia, J., Kumar, N., Ray, R., Kumar, S., & Arya, D. S. (2011). Up-regulation of PPAR γ , heat shock protein-27 and-72 by naringin attenuates insulin resistance, β -cell dysfunction, hepatic steatosis and kidney damage in a rat model of type 2 diabetes. *British Journal of Nutrition*, 106(11), 1713-1723.

Shaw, P. E., Tatum, J. H., & Wilson III, C. W. (1984). Improved flavor of navel orange and grapefruit juices by removal of bitter components with. beta.-cyclodextrin polymer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32(4), 832-836.

Silva, F. M., Kramer, C. K., de Almeida, J. C., Steemburgo, T., Gross, J. L., & Azevedo, M. J. (2013). Fiber intake and glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus: a systematic review with meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrition Reviews*, 71(12), 790-801.

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.

Slavin, J. (2013). Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients*, 5(4), 1417-1435.

- Slavin, J. L. (2005). Dietary fiber and body weight. *Nutrition*, 21(3), 411-418.
- Srinivasan, K., Viswanad, B., Asrat, L., Kaul, C. L., & Ramarao, P. (2005). Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacological research*, 52(4), 313-320.
- Srinivasan, S., & Pari, L. (2012). Ameliorative effect of diosmin, a citrus flavonoid against streptozotocin-nicotinamide generated oxidative stress induced diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions*, 195(1), 43-51.
- Srinivasan, S., & Pari, L. (2013). Antihyperlipidemic effect of diosmin: A citrus flavonoid on lipid metabolism in experimental diabetic rats. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 484-492.
- Suh, K. S., Oh, S., Woo, J. T., Kim, S. W., Kim, J. W., Kim, Y. S., & Chon, S. (2012). Apigenin attenuates 2-deoxy-D-ribose-induced oxidative cell damage in HIT-T15 pancreatic β -cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 35(1), 121-126.
- Sujka, M., & Jamroz, J. (2013). Ultrasound-treated starch: SEM and TEM imaging, and functional behaviour. *Food hydrocolloids*, 31(2), 413-419.
- Sundaram, R., Shanthi, P., & Sachdanandam, P. (2014). Effect of tangeretin, a polymethoxylated flavone on glucose metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, 21(6), 793-799.
- Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological research*, 50(6), 537-546.
- Talens, C., Arbolea, J. C., Castro-Giraldez, M., & Fito, P. J. (2017). Effect of microwave power coupled with hot air drying on process efficiency and physico-chemical properties of a new dietary fibre ingredient obtained from orange peel. *LWT-Food Science and Technology*, 77, 110-118.
- Tiedge, M., Lortz, S., Drinkgern, J., & Lenzen, S. (1997). Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidative defense status of insulin-producing cells. *Diabetes*, 46(11), 1733-1742.
- Toepfl, S., Mathys, A., Heinz, V., & Knorr, D. (2006). Review: potential of high hydrostatic pressure and pulsed electric fields for energy efficient and environmentally friendly food processing. *Food Reviews International*, 22(4), 405-423.
- Tommasini, S., Raneri, D., Ficarra, R., Calabrò, M. L., Stancanelli, R., & Ficarra, P. (2004). Improvement in solubility and dissolution rate of flavonoids by complexation with β -cyclodextrin. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 35(2), 379-387.

Topuz, A., Topakci, M., Canakci, M., Akinci, I., & Ozdemir, F. (2005). Physical and nutritional properties of four orange varieties. *Journal of Food Engineering*, 66(4), 519-523.

Torley, P. J., & Bhandari, B. R. (2007). Ultrasound in food processing and preservation. *Handbook of food preservation*. CRC Press. Boca Raton, Florida. 713-739.

Torres-Viloria A. y Zacarías-Castillo, R. (2002). Nefropatía diabética. *Revista del Hospital General Dr. Manuel Gea González*. 5:24-32

USDA. National Nutrient Database for Standard Reference. <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2271?fgcd=Fruits+and+Fruit+Juices&manu=&facet=&format=&count=&max=35&offset=&sort=&qlookup=mango>. Volume Release 28, 2016.

Vergara-Valencia, N., Granados-Pérez, E., Agama-Acevedo, E., Tovar, J., Ruales, J., & Bello-Pérez, L. A. (2007). Fibre concentrate from mango fruit: Characterization, associated antioxidant capacity and application as a bakery product ingredient. *LWT-Food Science and Technology*, 40(4), 722-729.

Vertommen, J., Van den Enden, M., Simoens, L., & De Leeuw, I. (1994). Flavonoid treatment reduces glycation and lipid peroxidation in experimental diabetic rats. *Phytotherapy Research*, 8(7), 430-432.

Viberti, G. C. (1979). Early functional and morphological changes in diabetic nephropathy. *Clinical nephrology*, 12(2), 47.

Vodeničarová, M., Dřimalová, G., Hromádková, Z., Malovíková, A., & Ebringerová, A. (2006). Xyloglucan degradation using different radiation sources: a comparative study. *Ultrasonics Sonochemistry*, 13(2), 157-164.

Wood, I. P., Elliston, A., Ryden, P., Bancroft, I., Roberts, I. N., & Waldron, K. W. (2012). Rapid quantification of reducing sugars in biomass hydrolysates: Improving the speed and precision of the dinitrosalicylic acid assay. *Biomass and Bioenergy*, 44, 117-121.

Yağcı, S., & Göğüş, F. (2008). Response surface methodology for evaluation of physical and functional properties of extruded snack foods developed from food-by-products. *Journal of Food Engineering*, 86(1), 122-132.

Yepes, S. M., Montoya, L. J., & Orozco, F. (2008). Valorización de residuos agroindustriales-frutas en Medellín y el sur del valle del Aburrá, Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 61(1), 4422-4431.

Yin, P., Zhao, S., Chen, S., Liu, J., Shi, L., Wang, X., Liu, Y., & Ma, C. (2011). Hypoglycemic and hypolipidemic effects of polyphenols from burs of *Castanea mollissima* Blume. *Molecules*, 16(11), 9764-9774.

Yoshida, H., Takamura, N., Shuto, T., Ogata, K., Tokunaga, J., Kawai, K., & Kai, H. (2010). The citrus flavonoids hesperetin and naringenin block the lipolytic actions of TNF- α in mouse adipocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 394(3), 728-732.

Yoshida, H., Watanabe, W., Oomagari, H., Tsuruta, E., Shida, M., & Kurokawa, M. (2013). Citrus flavonoid naringenin inhibits TLR2 expression in adipocytes. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 24(7), 1276-1284.

Young, F. R. (1989). Cavitation. London: McGraw-Hill Book Company.

Zenker, M., Heinz, V., & Knorr, D. (2003). Application of ultrasound-assisted thermal processing for preservation and quality retention of liquid foods. *Journal of food protection*, 66(9), 1642-1649.

Zhang, X., Wang, G., Gurley, E. C., & Zhou, H. (2014). Flavonoid apigenin inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response through multiple mechanisms in macrophages. *PLoS ONE*, 9(9), e107072.

Zuo, J. Y., Knoerzer, K., Mawson, R., Kentish, S., & Ashokkumar, M. (2009). The pasting properties of sonicated waxy rice starch suspensions. *Ultrasonics sonochemistry*, 16(4), 462-468.

Zurita, J., Díaz-Rubio, M. E., & Saura-Calixto, F. (2012). Improved procedure to determine non-extractable polymeric proanthocyanidins in plant foods. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(8), 936-939.

Sitios web

FAOSTAT, <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>, [consultado agosto 28 de 2017].

SIAP,
http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/AvanceNacionalSinPrograma.do, [consultado agosto 28 de 2017].