



Universitat
de les Illes Balears

TREBALL DE FI DE GRAU

EFFECTE DE L'APLICACIÓ D'ULTRASONS EN L'ESTABILITAT OXIDATIVA D'EMULSIONS D'OLI EN AIGUA ELABORADES AMB PECTINES I SUBPRODUCTES DE TARONJA

Joan Frau Puigròs

Grau de: Química

Facultat de: Ciències

Any acadèmic 2021-22

EFFECTE DE L'APLICACIÓ D'ULTRASONS EN L'ESTABILITAT OXIDATIVA D'EMULSIONS D'OLI EN AIGUA ELABORADES AMB PECTINES I SUBPRODUCTES DE TARONJA

Joan Frau Puigròs

Treball de Fi de Grau

Facultat de: Ciències

Universitat de les Illes Balears

Any acadèmic 2021-22

Paraules clau del treball:

Fibra de taronja, emulsió, pectina, ultrasò

Nom del tutor / la tutora del treball: Valeria Soledad Eim Iznardo

Autoritz la Universitat a incloure aquest treball en el repositori institucional per consultar-lo en accés obert i difondre'l en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació

Autor/a		Tutor/a	
Sí	No	Sí	No
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Resum

Degut a la importància de les emulsions en la indústria alimentària, de cada vegada més s'estan investigant diferents maneres de produir-les, tant sigui amb noves matèries primes com amb diferents processos. Aquest treball es centra en l'estabilitat de l'oli en emulsions de doble capa formades a partir de residus de taronges provinents de la indústria alimentària com a font de pectines ja que, al no estar purificades com les pectines comercials, poden contenir composts antioxidants que aportin una protecció afegida per a evitar l'oxidació de l'oli. Les emulsions varen ser homogeneïtzades en un bany d'ultrasons durant 5min amb una potència de 50 ± 4 W/L.

Al desconèixer les conseqüències que tenen els efectes de cavitació sobre l'estabilitat oxidativa de les emulsions, s'ha avaluat l'aplicació d'aquest procés sobre emulsions de doble capa elaborades a partir de proteïnes de soja i subproductes de taronja i s'han comparat amb emulsions elaborades amb pectines comercials. D'aquestes emulsions es va avaluar com afectaven els ultrasons a partir de la mesura del contingut d'àcids grassos, de diens i de polifenols i la capacitat antioxidant mitjançant els mètodes de CUPRAC, FRAP i ABTS. Els resultats obtinguts senyalen que la utilització de pectines provinents del subproducte de taronja no afecta a les concentracions d'àcids grassos ni de diens, però sí altera la concentració d'antioxidants i de polifenols, les quals eren superiors que en les emulsions de pectina comercial. Les emulsions a les quals se'ls hi va aplicar ultrasons no varen presentar diferències significatives en cap paràmetre enfront a les emulsions que no se'ls hi aplicà el procés a excepció del mètode ABTS, on s'observà un major poder antioxidant després d'aplicar el procés.

Resumen

Debido a la importancia de las emulsiones en la industria alimentaria, cada vez más se están investigando diferentes maneras de producirlas, tanto con nuevas materias primas como con diferentes procesos. Este trabajo se centra en la estabilidad del aceite en emulsiones de doble capa formadas a partir de residuos de naranja provenientes de la industria alimentaria como fuente de pectinas ya que, al no estar purificadas como las pectinas comerciales, pueden contener compuestos antioxidantes que aporten una protección añadida para evitar la oxidación del aceite. Las emulsiones fueron y homogeneizadas en un baño de ultrasonidos durante 5 min con una potencia de 50 ± 4 W/L.

Al desconocer las consecuencias que tienen los efectos de cavitación sobre la estabilidad oxidativa de las emulsiones, se ha evaluado la aplicación de este proceso sobre emulsiones de doble capa elaboradas a partir de proteínas de soja y subproducto de naranja y se han comparado con emulsiones elaboradas con pectinas comerciales. De estas emulsiones se evaluó como afectaban los ultrasonidos a partir de la medida del contenido en ácidos grasos, de dienos y de polifenoles y la capacidad antioxidante mediante los métodos de CUPRAC, FRAP y ABTS. Los resultados obtenidos señalan que la utilización de pectinas provenientes del subproducto de naranja no afecta a las concentraciones de ácidos grasos ni de dienos, pero sí altera la concentración de antioxidantes y de polifenoles, las cuales eran superiores que en las emulsiones de pectina comercial. Las emulsiones a las cuales se les aplicó ultrasonidos no presentaron diferencias significativas en ningún parámetro frente a las emulsiones que no se les aplicó el proceso a excepción del método ABTS, donde se observó un aumento del poder antioxidante después de aplicar el proceso.

Abstract

Due to the importance of emulsions in the food industry, different ways of producing them are being investigated more than before, both with new raw materials and with different processes. This work focuses on the stability of oil in double-layer emulsions formed from orange waste from the food industry as a source of pectins since, as they are not purified as commercial pectins, they may contain antioxidants compounds that provide extra protection to prevent oil oxidation. The emulsions were homogenized in an ultrasonic bath for 5 minutes with a power of 50 ± 4 W/L

By not knowing the consequences that cavitation effects have on the oxidative stability of emulsions, the application of this process to double-layer emulsions made from soy proteins and orange by-products has been evaluated and compared to emulsions made with commercial pectin. The effect of ultrasound on these emulsions was evaluated by measuring the content of fatty acids, dienes and polyphenols and the antioxidant capacity using the CUPRAC, FRAP and ABTS methods. The results obtained indicate that the use of pectin from the orange by-product does not affect the concentrations of fatty acids or dienes, but it does alter the concentration of antioxidants and polyphenols, which were higher than in commercial pectin emulsions. The emulsions to which ultrasound was applied did not present significant differences in any parameter compared to the emulsions in which the process was not applied, except for the ABTS method, where a greater antioxidizing power was observed after applying the ultrasounds.

Índex

1. INTRODUCCIÓ	6
1.1 EMULSIONS EN EL SECTOR ALIMENTARI.....	6
1.1.1 <i>Estabilitat de les emulsions</i>	6
1.1.2 <i>Agents emulsionants</i>	7
1.1.3 <i>Ultrasò per a homogeneïtzar les emulsions</i>	8
1.2 OXIDACIÓ DE LÍPIDS.....	9
1.3 SUBPRODUCTES DE LA INDÚSTRIA ALIMENTÀRIA	10
1.3.1 <i>Subproductes de la taronja</i>	10
2. OBJECTIUS.....	11
3. MATERIALS I MÈTODES	11
3.1 MATÈRIA PRIMA	11
3.2 REACTIUS.....	12
3.3 DISSENY EXPERIMENTAL	12
3.4 PREPARACIÓ DE L'OLI DE GIRA-SOL	13
3.5 PREPARACIÓ DE LES EMULSIONS.....	14
3.5.1 <i>Emulsió de pectina comercial amb proteïna de soja</i>	15
3.5.2 <i>Emulsió de subproducte de taronja amb proteïna de soja</i>	16
3.6 TRACTAMENT DE LES EMULSIONS AMB ULTRASONOS	16
3.7 CARACTERITZACIÓ DE LES EMULSIONS	16
3.7.1 <i>Àcids grassos</i>	16
3.7.2 <i>Diens conjugats</i>	17
3.7.3 <i>Capacitat antioxidant</i>	17
3.7.4 <i>Polifenols</i>	18
3.8 TRACTAMENT ESTADÍSTIC	19
4. RESULTATS Y DISCUSSIÓ	19
4.1 ÀCIDS GRASSOS	19
4.1.1 <i>Anàlisis qualitatiu</i>	19
4.1.2 <i>Anàlisis quantitatiu</i>	20
4.2 DIENS CONJUGATS	22
4.3 CAPACITAT ANTIOXIDANT	22
4.4 POLIFENOLS.....	23
5. CONCLUSIONS.....	24
6. BIBLIOGRAFIA	25

1. Introducció

1.1 Emulsions en el sector alimentari

Una emulsió es defineix com una barreja de dos líquids immiscibles dins la qual un dels líquids està en forma de petites gotes esfèriques dins de l'altre. En la indústria alimentària generalment s'utilitza aigua i algun tipus d'oli per a la formació d'emulsions degut a la seva innocuïtat. Aquestes es poden classificar depenent de la proporció de cada líquid. Un sistema que consisteix en gotes disperses d'oli dins aigua es coneix com una emulsió O/W (oil in water), per exemple, la llet, sopa o salses, mentre que si el sistema es compon de gotes d'aigua dins oli es coneix com una emulsió W/O (water in oil), per exemple, la margarina o la mantega. Per a ser consistents, es referirà al líquid en forma de gotes disperses com a la fase dispersa, discontinua o interna i al líquid que l'envolta, com a fase externa o contínua (McClements & Jafari, 2018).

En les Indústries Alimentàries és molt important conèixer la ciència darrera les emulsions per a diversos motius. Per una banda, molts aliments naturals i processats consisteixen parcialment o totalment en emulsions o han estat emulsionats en algun moment durant la seva producció. Per altra banda, es va incrementant l'ús de les emulsions com a sistemes col·loïdals per a encapsular, protegir i alliberar agents funcionals com sabors, colors, micronutrients o nutracèutics amb la finalitat de millorar-ne la seva manipulació, l'estabilitat o l'eficàcia (McClements, 2016; Velikov & Pelan, 2008).

1.1.1 Estabilitat de les emulsions

El terme "estabilitat" de l'emulsió s'utilitza per a descriure la capacitat d'una emulsió a resistir els canvis de les seves propietats amb el temps (McClements, 2016). En el procés d'emulsificació, l'àrea entre la fase contínua i la fase dispersa augmenta considerablement junt amb l'energia lliure de la interfase. Seguint el principi termodinàmic on tots els sistemes evolucionen cap a l'estat mínim d'energia, les emulsions tendeixen ràpidament a separar-se de fases per minimitzar aquesta àrea de contacte interfacial i, en conseqüència, minimitzar l'energia lliure. Aquesta inestabilitat es pot donar per diversos mecanismes.

Creaming/Sedimentació: ambdós processos ocorren a causa de la gravetat. El creaming es el procés en el qual les gotes de la fase discontinua ascendeixen degut a una menor densitat mentre que en la sedimentació és el procés en el qual les gotes descendeixen a causa d'una major densitat (Loi et al., 2019).

Floculació: la floculació és el procés en el qual dues o més gotes s'associen en un grup o agregat on cada gota manté les seves dimensions inicials però es mantenen juntes degut a interaccions electrostàtiques (Dickinson, 2019).

Coalescència: la coalescència és el procés en el qual dues o més gotes de la fase discontinua s'agrupen i s'uneixen formant una gota de major mida per tal de disminuir la seva tensió superficial (McClements & Gumus, 2016).

Maduració de Ostwald: la maduració de Ostwald és la continuació de la coalescència, les gotes de major grandària absorbeixen les gotes més petites i augmenten més les seves dimensions (McClements & Gumus, 2016).

Separació de fases: al igual que la maduració de Ostwald, la separació de fases és un procés que es forma a continuació del creaming o de la sedimentació. En la separació de fases, com per exemple en una emulsió O/W, totes les gotes d'oli, al tenir menor densitat que l'aigua, ascendeixen fins a formar una fase totalment separada de l'aigua, que conforma l'altre fase (McClements & Gumus, 2016).

1.1.2 Agents emulsionants

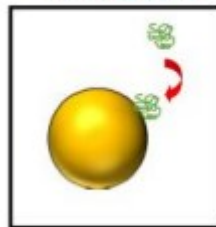
Amb la finalitat d'obtenir productes comercials amb una vida útil més longeva, és necessari la incorporació de substàncies estabilitzants de la interfase. Aquestes substàncies poden ser emulsionants, agents espessidors, gelificants o inhibidors de maduració. En concret, els emulsionants que s'utilitzen més per a emulsions O/W es tracten de tensioactius sintètics o emulsionants d'origen animal, com la proteïna de l'ou o de la llet. Els tensioactius són molècules amfipàtiques que tendeixen a adsorbir-se a la interfase entre l'oli i l'aigua i disminueix la tensió superficial de la fase discontinua (Li et al., 2021).

En la Indústria Alimentària generalment s'utilitzen proteïnes i polisacàrids com a emulsionants per a aconseguir una consistència densa i sedosa per a que els aliments siguin més agradables per als consumidors. Degut a l'alta demanda de la societat actual per a productes "naturals" o vegans, s'han cercat alternatives als tensioactius sintètics com polisacàrids o fosfolípids i, a més, enlloc de proteïnes provinents d'origen animal es cerca l'extracció de proteïnes d'origen vegetal provinents del cigrò o de la soja (Zhong et al., 2021)

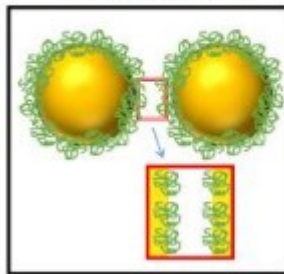
L'aïllat de la proteïna de soja prové d'una planta d'alta qualitat i factible econòmicament. Gràcies a les seves característiques amfifíliques s'adsorbeix a la interfície (Il·lustració 1)

actuant com a tensioactiu. Depenent de les condicions del processat, com ara el pH, les proteïnes poden formar agregats i precipitar. A més, les proteïnes es combinen amb estabilitzadors com els polisacàrids per a millorar el rendiment, mentre que l'emulsió resultant augmenta la seva viscositat i, alhora, disminueix la tensió superficial de la fase discontinua. Les pectines són polisacàrids que a causa de la seva àmplia disponibilitat i a cost molt econòmic, s'han convertit en un dels additius més utilitzats en la indústria alimentària per a gelificar o per a l'engrossiment. A més, al ser un polisacàrid aniònic natural, interaccionarà amb la proteïna mitjançant forces electrostàtiques i evita l'agregació de les gotes (Neckebroek et al., 2021).

Formació emulsió



Estabilització de l'emulsió



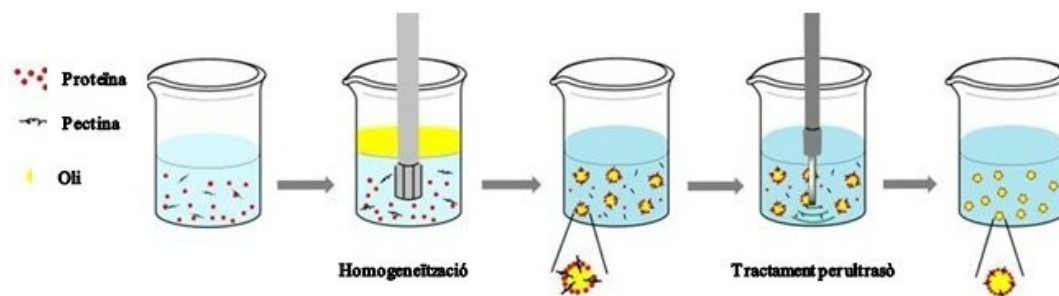
Il·lustració 1 Formació i estabilització d'emulsions (McClements & Gumus, 2016).

1.1.3 Ultrason per a homogeneïtzar les emulsions

És molt important que les dues fases es barregin correctament per aconseguir que la fase dispersa es trobi en forma de gotes fines dins la fase contínua. Per això, processos que permetin la correcta homogeneïtzació de l'emulsió són estudiats per a observar l'impacte que produeix sobre l'estabilitat de l'emulsió. En aquests processos s'inclouen tècniques com augmentar la pressió, augmentar la velocitat d'homogeneïtzació o l'aplicació d'ultrasons (Guo et al., 2014; Pinnamaneni et al., 2003).

Centrant-se amb els ultrasons, aquests són ones de freqüència superiors a la que les persones poden percebre. Les ones poden classificar-se entre ultrasons de senyal o ultrasons de potència segons la seva intensitat i freqüència. Les ones que s'emeten amb una freqüència de entre 500kHz fins a 10MHz correspondran les ones ultrasòniques de senyal. Les ones amb una freqüència compresa entre 20kHz i 100kHz corresponen a les ones ultrasòniques de potència. Com a tècnica de processament no tèrmica (les tècniques tèrmiques provoquen la degradació de la proteïna), l'ultrasò ha estat reconegut com una tècnica segura, no tòxica, respectuosa amb el medi ambient i de baix consum energètic (Wang et al., 2022). A més,

segons els estudis de Khatkar et al. (2018) es sap que l'aplicació d'ultrasons no té efectes perjudicials sobre la qualitat de les proteïnes utilitzades com emulsionants. Altres estudis suggereixen que els ultrasons es poden utilitzar per accelerar diverses reaccions químiques, augmentar la velocitat de difusió de les proteïnes o dispersar agregats de proteïnes de la fase discontinua (Alavi et al., 2021; Zou et al., 2020). Wang et al. (2022) atribueixen a l'efecte de cavitació produïda pels ultrasons el responsable de la millora en l'emulsificació. La cavitació és un fenomen que consisteix en la generació de microbombolles dins l'emulsió que van creixent de mida fins explotar provocant que, en conseqüència, es generin pressions elevades i temperatures elevades a llocs puntuals de l'emulsió afectant a les gotes de fase discontinua fent que, aquestes, redueixin les seves dimensions, s'exposin millor els grups hidrofòbics de les proteïnes a la seva superfície i que es rompin agregats de les gotes repartint-se millor dins la fase contínua.

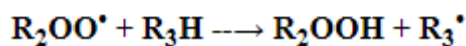
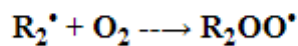
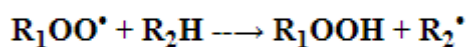
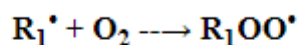
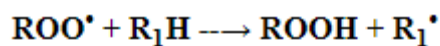


Il·lustració 2. Homogeneïtzació d'una emulsió O/W mitjançant ultrasò. (Wang et al., 2022)

1.2 Oxidació de lípids

El procés d'oxidació de lípids és la segona causa de deteriorament dels aliments, després de l'acció dels microorganismes. Tenen com a conseqüència l'alteració dels aromes i del gust (enranciment), en la textura, en el color, en la pèrdua de determinats nutrients i la formació de substàncies nocives (Domínguez et al., 2019)..

Els àcids grassos insaturats i l'oxigen poden reaccionar i ocórrer l'anomenat procés d'oxidació dels lípids. Els lípids es poden oxidar de tres maneres principals: autooxidació, oxidació i fotooxidació catalitzada per enzims. D'entre els tres mecanismes, l'autooxidació, que és una reacció en cadena de radicals lliures contínua (Il·lustració 3), és el procés més important. Durant la fase d'iniciació, l'hidrogen s'abstreu d'un àcid gras insaturat formant un radical. El radical alquil, tendeix a establitzar-se mitjançant un reordenament de dobles enllaços a un sistema de diens conjugats. Conèixer el contingut en diens de l'emulsió ens permet detectar una possible oxidació dels àcids grassos (Domínguez et al., 2019).



Il·lustració 3. Reaccions en cadena de radicals amb l'oxigen donant lloc a hidroperòxids (Miguel Calvo, 2016).

1.3 Subproductes de la indústria alimentària

Els residus generats en la indústria alimentària constitueixen un problema seriós a gran part de la població (La Unió Europea va publicar que aproximadament 90 milions de tones de restes de menjar són produïdes cada any per la Indústria Alimentària de les quals 7,7 es produeixen en Espanya (MAGRAMA, 2014)). Degut a que la societat actual està construïda sobre un cercle en el qual un producte es produeix, es consumeix i després, es rebutja, provoca que s'estiguin exprimint al límit els recursos naturals i, a més, amb el creixement demogràfic actual, no està sent suficient per abastir a tota la població. Per això, la indústria alimentària està invertint recursos en aconseguir un desenvolupament sostenible de les cadenes de producció; de cada vegada més s'estan aplicant moltes mesures per a aprofitar i valoritzar els residus generats de tal manera que se'n puguin extreure un valor comercial i passin a ser subproductes (Fernández Ginés., et al., 2008).

Dins la indústria alimentària, les fruites i els vegetals es caracteritzen per ser les cadenes de producció que majors substàncies de rebuig produeixen. Dins d'aquest grup, els subproductes dels cítrics es poden utilitzar, per exemple, per a extreure diferents biocomposts com pectines, aromes, àcids orgànics, etc. La polpa es pot utilitzar per a millorar l'aroma de suc reconstruïts, la pell com ingredients de pinso animal o per a l'extracció de flavonoides per a la indústria farmacèutica. (Fernández Ginés, J.M., et al., 2008)

1.3.1 Subproductes de la taronja

La taronja és la fruita major produïda en tot el món. Segons Abigail Orús (2021) es produïren 49,4 milions de tones només a l'any 2020 en tot el món. De tota aquesta matèria prima, només el 50% dels cítrics es processa per a l'obtenció de suc, mentre que l'altre 50% correspon al

residu (polpa, pell i llavors). En conseqüència d'aquest alt cabal de residus, s'han anat cercant alternatives per al seu aprofitament.

Una alternativa dins la indústria alimentària és la seva utilització com a additius gràcies a que, com es demostra en els estudis (Subproductos De La Naranja Y Su Aplicación En La & Serrano García, 2021) els residus de les taronges presenten composts bioactius com la vitamina C, carotens, fibres, flavonoides, àcids orgànics i olis essencials i, per tant, poden presentar un alt valor comercial. A més, gràcies a les seves propietats nutricionals poden ser utilitzats com a additius alimentaris en forma d'estabilitzants, antioxidants, emulsionants i colorants.

D'entre aquests composts, cal destacar la presència de pectines dins els residus de taronja. Les pectines són polisacàrids que s'utilitzen com a estabilitzants naturals d'emulsions. A més, també cal destacar la presència de composts antioxidants útils per a la prevenció de l'oxidació de lípids (Dalmau et al., 2020).

2. Objectius

L'objectiu general d'aquest treball consisteix en avaluar l'efecte que produeix l'aplicació d'ultrasons sobre una emulsió O/W utilitzant com a emulsionants proteïnes de soja i pectines extretes a partir de residus de taronja. Més en concret, s'avalua si les altes temperatures en punts concrets degudes a l'efecte de cavitació puguin afectar a l'estabilitat oxidativa de l'oli i provocar-ne la seva degradació. Com a referència, també s'utilitza el mateix procediment sobre una emulsió utilitzant una pectina comercial pura. Per a l'avaluació corresponent, s'han elegit com a punts claus, l'estudi de la quantitat de polifenols, la capacitat antioxidant i el contingut en àcids grassos i diens de l'emulsió.

3. Materials i mètodes

3.1 Matèria prima

Per a la preparació de les emulsions, s'ha utilitzar un aïllat de proteïna de soja (Manufacturas Ceylan, S.L) amb un percentatge del 90% en contingut de proteïnes com a emulsionant. Com a estabilitzant, s'ha utilitzat pectina pura comercial (Sigma Aldrich) amb un contingut al 74% d'àcid galacturònic i el subproducte de taronja obtingut a partir del treball de Llull (2021) en el qual una vegada es va extreure tot el suc de les taronges, la pell sobrant es va tallar en quatre parts i es va sotmetre a un procés d'escaldat amb vapor d'aigua a 100°C durant 5 min. Al tornar a estar a temperatura ambient, es varen congelar a -80°C per a una posterior liofilització

a 0,3mbar i a -50°C en un liofilitzador de laboratori (LyoQuest, Telstar, España). A continuació, es va moldre (ZM 200, Retsch®, Alemanya) i es va recol·lectar, envasar al buit i emmagatzemar a -20°C. El concentrat obtingut presentava un $22,6 \pm 0,9$ g/100 g en base seca de pectines i una capacitat antioxidant de 25 ± 1 mg equivalent de TROLOX/g b.s al aplicar el mètode CUPRAC. En quant a l'oli emprat, es va comprar en una ampolla d'1L d'oli de girasol refinat BIO (La Cosecha 100).

3.2 Reactius

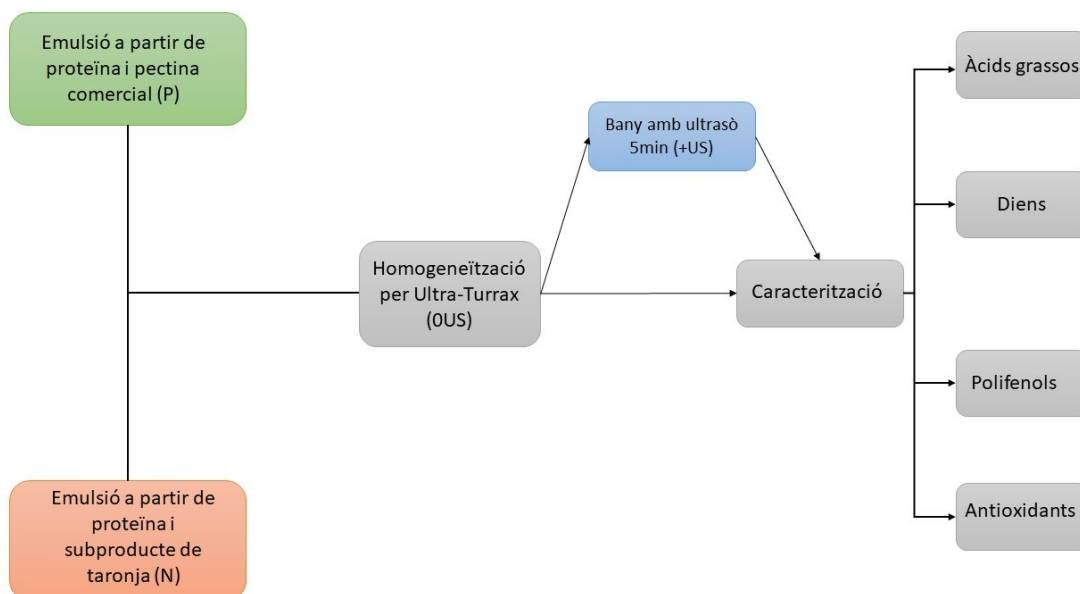
Per a preparar les emulsions: proteïna de soja (Manufacturas Ceylan, S.L.), pectina comercial (Sigma Aldrich), maltodextrina (Glucidex 12) i oli de girasol refinat BIO (La Cosecha 100). Per a ajustar el pH: HCl 37% (Scharlau).

A més, per als anàlisis: Folin-Ciocalteu (Scharlau), Neocuprina (Sigma Aldrich), $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Scharlau), $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Scharlau), $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (Scharlau), 2,4,6- tris (2-piridil) – triazina (Fluka Analytical), àcid gàl·lic monohidratat (Scharlau), Trolox 97 (Acros organics).

3.3 Disseny experimental

En la figura 3 es presenta un esquema del disseny experimental d'aquest treball. Aquest, és una continuació del treball desenvolupat en el grup d'enginyeria agroalimentària. En el disseny experimental es varen tenir en compte els resultats previs; per una banda es va considerar que el pH òptim que permetés l'obtenció d'emulsions estables i, per l'altre banda, es va considerar l'efecte de la potencia dels ultrasons sobre l'estabilitat de les emulsions. En base al coneixement dels estudis previs, es varen seleccionar com a condicions de treball, el pH òptim de 3,8 i l'ús dels ultrasons mitjançant un bany durant 5min.

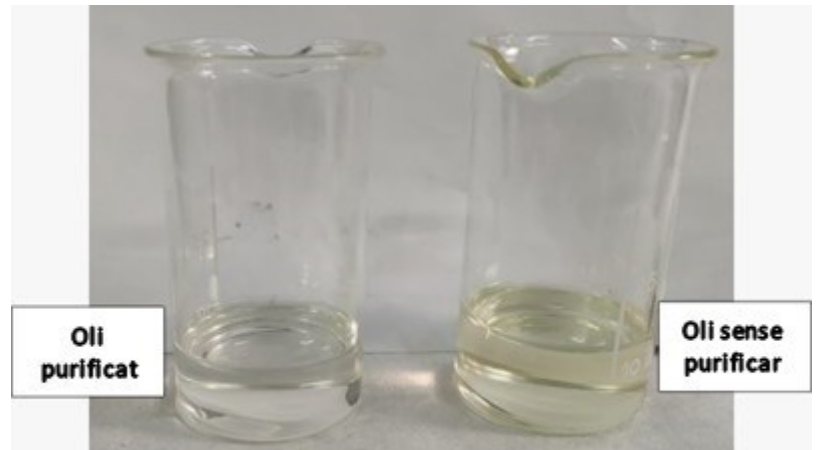
Amb aquestes condicions optimitzades, es va procedir a avaluar l'efecte que produïen els ultrasons sobre l'estabilitat oxidativa de l'oli dins l'emulsió. Després d'homogeneïtzar la mostra mitjançant l'Ultra-Turrax, es va aplicar ultrasons a unes emulsions i a unes altres no per a poder comparar-ne el seu l'efecte. Es va estudiar la possibilitat de la utilització de subproductes de taronja que, al portar antioxidants de forma natural, es podrien obtenir millors resultats enfront a una pectina comercial que s'utilitza actualment com a additiu en la indústria alimentària. Totes les emulsions es varen caracteritzar i es varen avaluar seguint el seu contingut en àcids grassos, en diens i en polifenols i es va mesurar la seva capacitat antioxidant mitjançant 3 metodologies diferents: FRAP, CUPRAC i ABTS. Tot el procediment per a dur-ho a terme està desenvolupat més endavant.



Il·lustració 4. Esquema del disseny experimental.

3.4 Preparació de l'oli de gira-sol

Per tal d'eliminar els antioxidants presents en les mostres comercials, la botella d'1L d'oli de gira-sol es va filtrar al buit en 3 parts, es filtraren 400ml d'oli cada vegada utilitzant 200g d'alúmina (Sigma Aldrich) i s'emmagatzemaren en pots de 40ml omplint aproximadament fins 30ml. Tot el material va ser envoltat de paper d'alumini abans de la filtració per a evitar una major oxidació de l'oli una vegada s'eliminïn els antioxidants comercials (Il·lustració 5). Finalment, les mostres visiblement més transparents (Il·lustració 5) es congelaren a -20°C per a la seva posterior utilització.



Il·lustració 5. A l'esquerra, filtració al buit de l'oli de gira-sol. A la dreta, comparació de l'oli purificat enfront a l'oli sense purificar.

3.5 Preparació de les emulsions

La composició de les emulsions elaborades en aquest treball va ser escollida en base als resultats obtinguts de Llull (2021) qui va dur a terme una sèrie de proves centrades en estudiar l'efecte de diferents quantitats de proteïna i pectina en les emulsions.

Respecte a la composició de les emulsions, es va decidir canviar la proporció de l'oli de gira-sol ja que així s'obtenien emulsions més estables i l'eficàcia d'encapsulació és major en assecar-les després. A part, amb la finalitat d'aconseguir una emulsió menys agressiva per al consum humà, es va decidir preparar els buffers amb àcid cítric i a un pH al voltant de ~3,8 enlloc d'un pH igual a 3,5.

El buffer utilitzat per a les emulsions es va elaborar preparant una dissolució de 2L d'àcid cítric 0,1M. A part, es va preparar una altre dissolució d'1L de Na_2HPO_4 0,2M i finalment, la dissolució final de buffer es va obtenir al barrejar 1,29L de la dissolució d'àcid cítric amb 710mL de Na_2HPO_4 i ajustant el pH a 3,8 utilitzant HCl 4,38M i HCl 0,4M.

La composició de les emulsions preparades es presenta en la Taula 1. Com es pot observar, les emulsions contenen un 40% p/p de matèria seca. En les emulsions N, el subproducte de taronja parcialment va substituir a la maltodextrina per a mantenir el percentatge de la matèria seca igual en ambdues emulsions. En total es varen preparar 250g de cada emulsió. Les emulsions es varen preparar com a mínim per duplicat per a cada tractament estudiat.

Taula 1. Composició de les emulsions de pectina comercial (P) i de subproducte de taronja (N) en %p/p

Emulsió	P	N
Maltodextrina % (p/p)	35,50	33,32
Oli de gira-sol	4,00	4,00
Proteïna de soja	0,30	0,30
Aigua	30,00	30,00
Buffer	30,00	30,00
Fibra de taronja	-	2,38
Pectina comercial	0,20	-
Total	100%	100%

3.5.1 Emulsió de pectina comercial amb proteïna de soja

Per a les emulsions de pectina comercial amb proteïna de soja es varen preparar seguint la Taula 1. Primerament, es va preparar una dissolució de proteïna de soja amb l'aigua i es va deixar en agitació magnètica durant 2h. Alhora, es va preparar la dissolució de pectina dissolent-la amb el buffer i també es va deixar en agitació durant 2h. Passades les 2h, es va tancar la dissolució de proteïna i, a la dissolució de pectina, es va procedir a afegir-li la maltodextrina amb l'ajuda d'agitació magnètica i amb una mica de calor (sense mai superar els 40°C ja que podria degradar-se). Després de 24h en repòs, es va ajustar el pH a 3,8 de la dissolució de la proteïna utilitzant HCl 4,38M i 0,4M.

A continuació, es va descongelar l'oli de gira-sol a utilitzar i, amb l'ajuda d'un homogeneïtzador per rotació Ultra-Turrax (T25 Digital IKA, Alemanya) es va anar introduint alhora que es mesclava l'oli en forma d'un petit raig dins la dissolució de la proteïna. Una vegada es va introduir tot, es va ajustar a una velocitat de 16000rpm durant 10min. Passat aquest temps, es varen barrejar juntes la dissolució de la proteïna junt a la dissolució de la pectina més la maltodextrina i es va deixar 5min més a l'Ultra-turrax a la mateixa velocitat. Tot el procés es va dur a terme amb l'ajuda d'un bany d'aigua-gel per a controlar la temperatura evitant el sobreescalfament i, d'aquesta manera, evitar la possible degradació de proteïnes i/o l'oxidació de l'oli.

3.5.2 Emulsió de subproducte de taronja amb proteïna de soja

Les emulsions de proteïna de soja es varen preparar seguint exactament el mateix procediment explicat en l'apartat anterior. Per altre banda, la dissolució de fibra de taronja es va preparar de la següent manera: es varen dissoldre la maltodextrina dins del buffer amb ajuda d'agitació magnètica i una mica de temperatura i, una vegada es va dissoldre tota, es va procedir a introduir la fibra de taronja seguint les quantitats indicades en la Taula 1 amb l'ajuda també d'agitació magnètica i temperatura sense superar els 40°C en cap circumstància.

Passades 24h es va ajustar el pH de la dissolució de proteïnes exactament com l'apartat anterior i, mentrestant, es deixà a l'Ultra-Turrax a 16000rpm la dissolució de fibra de taronja i maltodextrina durant 8min. Seguidament, es va seguir preparant la l'emulsió exactament com els passos explicats per a l'emulsió de la pectina comercial.

3.6 Tractament de les emulsions amb ultrasons

Les emulsions preparades amb pectina i amb subproducte de taronja es varen dividir en dos grups. Un grup en el qual no se li va aplicar ultrasons i s'utilitzaren com a control i un altre grup al qual s'hi aplicà ultrasons de potència mitjançant un bany (Elmasonic S40, Elma Ultrasonic, Alemanya). El bany d'ultrasons es va omplir amb 2,5L d'aigua destil·lada i s'hi introduïren les mostres que, prèviament, varen ser transvasades a un pot de vidre de 300mL el qual es podia tancar i es va submergir amb unes pinces. Finalment, es deixaren les emulsions durant 5 min dins del bany d'ultrasons controlant que la temperatura en tot moment fos de $25^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ i a una potència de 50 ± 4 W/L.

3.7 Caracterització de les emulsions

3.7.1 Àcids grassos

La composició d'àcids grassos de l'oli de gira-sol purificat es va obtenir diluint-se en heptà abans de la transesterificació (0,12g d'oli en 2ml d'heptà). En el cas de les emulsions, es varen dissoldre 1,5g afegint 2mL d'heptà, es varen tancar i es varen agitar manualment uns 5s seguit de 10s d'agitació amb Vortex. Després, es varen centrifugar els tubs durant 15min a 4000rpm. Posteriorment, es va utilitzar 1mL de la fase orgànica per a realitzar la transesterificació amb hidròxid de potassi metanòlic per a obtenir els èsters metílics dels àcids grassos (AOCS, 2006). Es va utilitzar un sistema de cromatografia de gasos (Hewlett Packard 5890A, Waldbronn, Alemanya) equipat amb un detector d'ionització de flama i una columna capil·lar (SPTM-2330, Supelco Inc., EE. UU.) per a separar i quantificar els èster metílics d'àcids

grassos (Umaña et al., 2021). La identificació dels pics es va realitzar mitjançant la comparació amb els èsters metílics dels àcids grassos (F.A.M.E. MIX, C14-C22, Supelco).

3.7.2 Diens conjugats

La determinació dels diens conjugats es va realitzar després de l'extracció de l'oli de l'emulsió en solvent orgànic segons la metodologia descrita per Hernandez Sanchez et al. (2015).. Aquest anàlisi ens permet conèixer l'estat oxidatiu utilitzat en la preparació de les emulsions. Per a la determinació dels diens conjugats de l'oli present en les emulsions es va procedir de la següent manera.

Per a l'oli, es va preparar una dilució d'aquest en hexà:isopropà 3:1 v/v (0.12g en 25mL). De la dissolució obtinguda, es va recollir 1mL i s'introduí dins d'un matràs aforat de 5mL i s'enrasà utilitzant el mateix dissolvent anterior. Per a les emulsions, es varen pesar aproximadament 1,5g d'emulsió dins un vas de precipitats de 100mL, es barrejaren amb 50mL de la dissolució d'hexà:isopropà 3:1 v/v, es varen tapar amb paper d'alumini i es deixaren en agitació durant 15min dins la campana de gasos. Passat el temps, es varen transvasar a tubs cilíndrics i es varen centrifugar durant 15min a 4000rpm. Del sobrenedant se'n va extreure 1mL i s'introduí dins d'un tub d'assaig i s'afegiren 4mL d'hexà:isopropà 3:1 v/v i s'agità utilitzant un agitador vòrtex durant 1min.

Un cop preparades les dissolucions, es dugueren a analitzar a l'espectrofotòmetre UV-Vis i s'obtingueren les absorbàncies a una longitud d'ona de 234nm.

Per al càlcul de l'absorbància específica (SA) es va calcular la concentració de les mostres en grams d'oli per cada 100ml d'emulsió (Wg) i es va aplicar la següent equació 1.

$$SA = \frac{Abs\ 234nm}{Wg} \quad Eq.1$$

3.7.3 Capacitat antioxidant

Per a la determinació del contingut en antioxidants, es varen avaluar les emulsions mesurant la seva absorbància a l'espectrofotòmetre UV-Visible seguint 3 metodologies diferents on s'utilitzen diferents reactius. Per a tots els mètodes, les emulsions es varen diluir seguint el mateix exemple de (Alzorqi et al., 2016). Les emulsions es varen diluir 4g dins 10mL d'aigua i es filtraren al buit. El Kitasato utilitzat per a la filtració es va cobrir completament amb paper d'alumini per evitar una possible degradació dels compost antioxidants amb el llum i s'emmagatzemà el filtrat dins petits pots també coberts de paper d'alumini. Totes les lectures

com la preparació de les plaques es varen realitzar dins d'una habitació sense llum natural, només amb una làmpada d'infrarojos.

En el mètode CUPRAC, es va preparar una dissolució de neocuprina 7,5mM i una dissolució de Cu(II) (CuCl_2) 10mM. Junt amb una dissolució ja preparada de buffer de NH_4Ac 1M, es mesclaren 20mL de les tres dissolucions per a formar el reactiu CUPRAC (1:1:1, v/v/v). Llavors, en una microplaca, en la primera fila s'introduïren les emulsions a avaluar per a facilitar el seu pipeteig i a totes les altres files es va introduir 190 μL del reactiu CUPRAC i es va introduir la placa dins l'equip durant 10min per a les 5 primeres mesures a 450nm (A_0). Passats els 10min, s'introdueixen 10 μL de les emulsions de la primera fila a cada fila, es torna a introduir la placa i es fan 30 lectures més en 30min a 450nm (A_1). El càlcul de la capacitat antioxidant es va realitzar a partir de la diferència entre les absorbàncies A_1 i A_0 que es varen relacionar amb una recta de calibratge. Per a la corba de calibratge es va utilitzar una dissolució mare de TROLOX 400ppm i es prepararen dilucions de 50ppm, 100ppm, 200ppm i 300ppm. El resultat s'ha expressat en mg Eq de Trolox/g d'emulsió.

En el mètode ABTS, el reactiu ABTS es va haver de diluir 8mL en aigua fins a 100mL utilitzant una dissolució EtOH:Aigua 25:75 v/v. A part, es va preparar 25ml dissolució de $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 2,45mM. La preparació de la placa es realitza de la mateixa manera que en el mètode CUPRAC substituint el reactiu CUPRAC per el reactiu ABTS. Les condicions experimentals per a determinar la capacitat antioxidant varen ser les mateixes utilitzats en el mètode de CUPRAC però les mesures d'absorbància es realitzaren a 734nm tant les 5 primeres com les 30 lectures següents. Per als càlculs, es va restar A_1 a A_0 .

En el mètode FRAP, la dissolució de TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina) 0,01M i el buffer d'acetat ja estaven preparats, només es va haver de preparar una dissolució de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,02M. Es mesclaren 2,5mL de la dissolució de TPTZ i de FeCl_3 amb 25mL de buffer per a formar el reactiu FRAP. El procediment i els càlculs son els mateixos que en ABTS i en CUPRAC substituint el reactiu i realitzant les mesures a 593nm.

3.7.4 Polifenols

El contingut en polifenols es va determinar segons el mètode de Folin Ciocalteu adaptat a microplaques (Umaña et al., 2020). A la darrera fila es varen introduir 190 μL d'aigua per a fer el blanc. La primera fila va ser utilitzada per col·locar-hi la mostra. A les files intermèdies es va introduir en cada pouet seguint el mateix ordre: 95 μL d'aigua destil·lada, 5 μL del reactiu de

Folin que estava prèviament preparat i 10µL de l'emulsió a estudiar. S'introduí a l'aparell UV-Vis a 745nm i, passats 5min s'afegiren 80µL de Na₂CO₃ a totes les files intermèdies i es torna a introduir la placa dins del UV-Vis per a les darreres lectures.(6 lectures en 30min a 745nm). A l'igual que als antioxidants, les emulsions també varen ser diluïdes aproximadament 4g dins 10mL d'aigua i es va filtrar al buit amb el Kitasato recobert de paper d'alumini. L'elaboració de les plaques com la seva mesura es varen fer dins d'una habitació a les fosques il·luminada per una làmpada de llum vermella.

Per a la recta de calibratge, es va preparar una dissolució mare d'àcid gàl·lic 250ppm. S'escolliren quatre punts per a realitzar la recta de calibratge de 25ppm, 100ppm, 150ppm i 200ppm i es va recollir la seva absorbància a la mateixa longitud d'ona utilitzada per als anàlisis. Els resultats s'han expressat com mil·ligrams equivalents d'àcid gàl·lic per cada gram d'emulsió.

3.8 Tractament estadístic

El tractament estadístic realitzat en aquest treball s'ha dut a terme a partir de la mitjana de tots els valors obtinguts i de les seves corresponents desviacions estàndards de cada variable de cada emulsió. La possible existència de diferències significatives es va avaluar aplicant un test ANOVA i les mitges es varen comparar mitjançant un test de Tukey utilitzant el software gratuït RStudio (v4.0.0.).

4. Resultats y discussió

En aquest apartat es presenten els resultats obtinguts en aquest treball. Primerament, es presenta l'estudi de l'estat de l'oli a partir dels àcids grassos i dels diens i, a continuació, el contingut d'antioxidants presents en l'emulsió.

4.1 Àcids grassos

4.1.1 Anàlisis qualitatiu

Per a identificar els àcids grassos de l'oli de gira-sol, es va analitzar un patró comercial format per una barreja d'àcids grassos mitjançant cromatografia de gasos i s'obtingueren els següents temps de retenció (min) (Taula 2).

Taula 2. Temps de retenció dels àcids del patró comercial (F.A.M.E.).

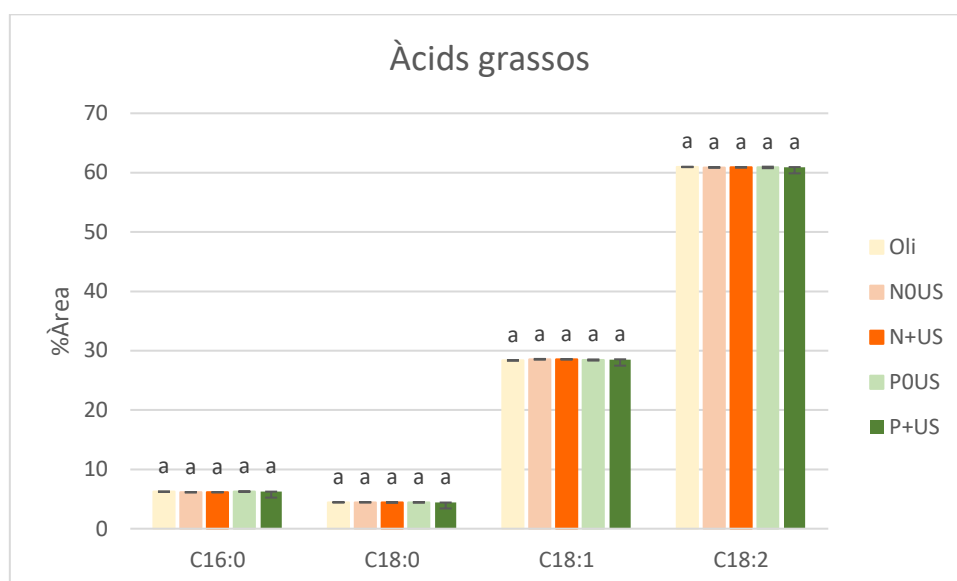
Àcid gras	Nombre de carbonis i insaturacions	Temps de retenció (min)
Decanoic	C10:0	3,84
Làuric	C12:0	7,62
Mirístic	C14:0	10,5
Palmític	C16:0	13,44
Palmitoleic	C16:1	13,89
Esteàric	C:18:0	18,43
Oleic	C18:1	19,02
Linoleic	C18:2	20,80
Linolènic	C18:3	23,79
Araquidònic	C20:0	27,86

A partir dels temps de retenció només s'han identificat quatre pics corresponents als àcids grassos C16:0, C18:0, C18:1 i C18:2 dins l'oli de gira-sol.

Aquests resultats concorden amb els percentatges que pot presentar un oli de gira-sol refinat segons el (BOE, 2007)

4.1.2 Anàlisi quantitatiu

Només va ser necessari fer dos cromatogrames per a cada emulsió gràcies a la gran reproductibilitat del mètode i quatre cromatogrames per a l'oli. La quantitat total de cada àcid gras es va calcular relativament a partir de les àrees de cada pic en comparació a la suma de totes les àrees (%A).



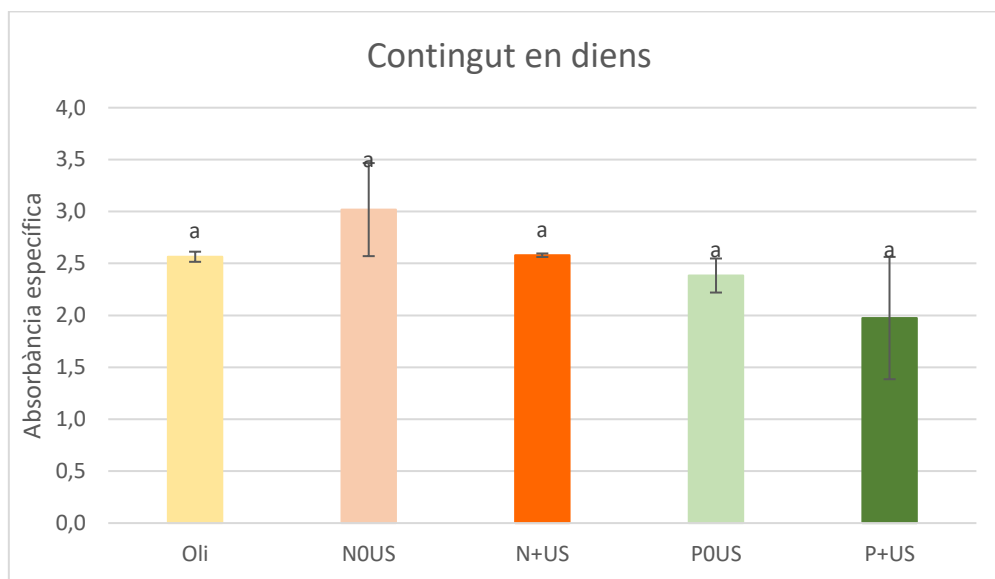
Il·lustració 6. Representació del àcids grassos de cada emulsió (%A). Diferents lletres indiquen diferències significatives ($p < 0.05$).

Com a nomenclatura s'ha definit com a N les emulsions elaborades a partir de subproducte de taronja i P les elaborades amb pectina comercial. La nomenclatura +US fa referència a les emulsions a les quals se'ls hi ha aplicat el bany d'ultrasons durant 5 min i, per tant, la nomenclatura 0US fa referència a les emulsions que no han passat per aquest procés. Respecte al contingut en àcids grassos de les emulsions, s'observa en la Il·lustració 6 no hi va haver diferències significatives per cap factor; ni per l'aplicació d'ultrasons ni el contingut en pectines/subproducte de taronja. Presentant en tots els casos una composició en àcids grassos similar a l'oli de gira-sol pur. Per tant, això indica que les condicions d'operació utilitzades per a la obtenció d'emulsions no va afectar als àcids grassos.

Els resultats en el contingut d'àcids grassos abans del tractament per ultrasons és semblant als resultats presentats en l'estudi de (Chemat et al., 2004) on la proporció de C16:0 i C:18:2 varien una mica però estan dins els marges establerts pel (BOE, 2007). En el seu treball, després d'aplicar ultrasons varen obtenir que es produïa una degradació dels àcids grassos. És degut a que, tot i que no s'especifica la densitat de potència que han utilitzat, varen aplicar els ultrasons mitjançant sonda durant 30s, un procés en el qual les temperatures poden arribar a 5000°C en llocs puntuals i hagin causat, en conseqüència, la degradació de l'oli de gira-sol refinat. En el cas d'aquest treball, no s'han degradat els àcids grassos degut a que l'aplicació d'ultrasons ha estat mitjançant un bany i, per tant, la potència incidida dins l'emulsió és menor que mitjançant una sonda i, a més, tampoc s'arriben a temperatures tan elevades dins de l'emulsió.

4.2 Diens conjugats

A partir del pes de les emulsions es va calcular el pes de l'oli dins l'emulsió (4%, p/p) per a després calcular, mitjançant l'Eq 1, l'absorbància específica. Els valors obtinguts es troben representats a la Il·lustració 7.



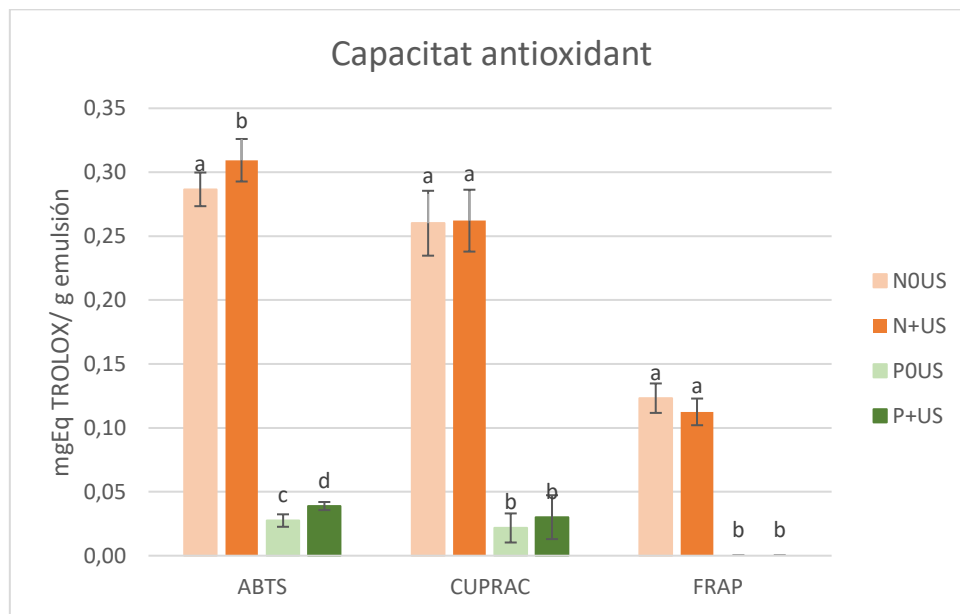
Il·lustració 7. Contingut de diens conjugats de les emulsions. Diferents lletres indiquen diferències significatives ($p < 0.05$).

Al aplicar el tractament estadístic, els resultats indiquen que no hi ha una diferència significativa ($p < 0,05$) ni al aplicar els ultrasons ni tampoc entre les emulsions de N i P.

Els valors obtinguts en els diens serveixen per confirmar que la degradació produïda en els àcids grassos no ha estat significativa i que, per tant, tant els ultrasons com la fórmula de les emulsions no afecten al contingut en àcids grassos. En el treball de (Umaña, Wawrzyniak, et al., 2021) l'absorbància específica mesurada en la mostra d'oli ($2,45 \pm 0,01$) va ser molt semblant a l'obtingut en aquest treball. Per l'altra banda, les emulsions presentaven concentracions de diens molt més elevades degut a la degradació de l'oli al passar per un procés d'asseccament per polvorització on s'utilitzen temperatures elevades.

4.3 Capacitat antioxidant

Els antioxidants són molècules capaces de prevenir l'oxidació de l'oli. La capacitat antioxidant són totes aquelles molècules presents que n'eviten l'oxidació. Els seus valors, com es poden veure representats en la Il·lustració 8, presenten una gran diferència entre els valors N i els valors P. Cal destacar que les concentracions d'antioxidants mitjançant el mètode de FRAP per a les emulsions P no va ser possible quantificar-les.



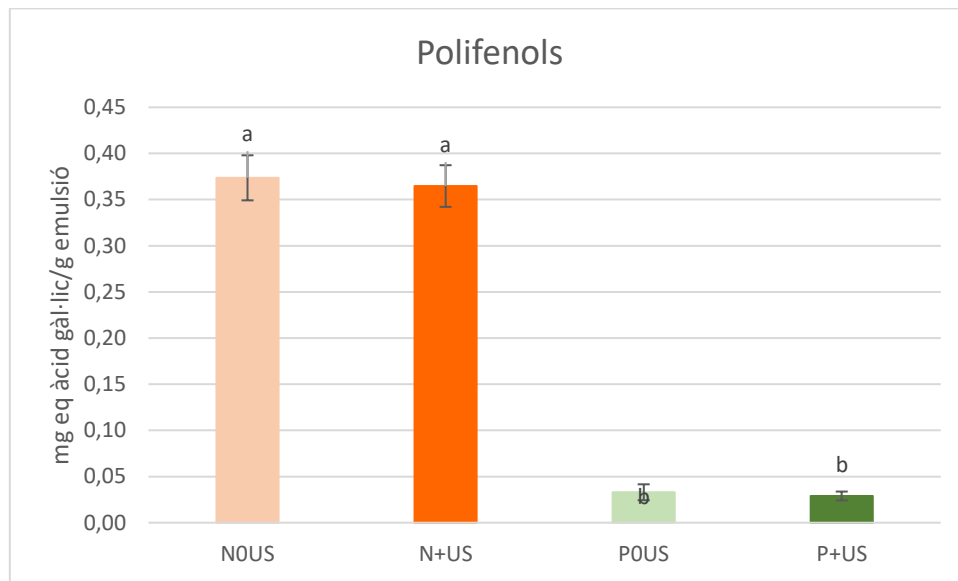
Il·lustració 8. D'esquerra a dreta, els resultats dels mètodes ABTS, CUPRAC i FRAP. Diferents lletres indiquen diferències significatives ($p < 0.05$).

Al aplicar el tractament estadístic, s'ha observat que en tots els mètodes, haver elaborat l'emulsió amb subproducte de taronja o amb pectina ha presentat diferències significatives en quant a la capacitat oxidant. En els mètodes FRAP i CUPRAC, les emulsions a les quals se'ls hi ha aplicat ultrasons no ha presentat diferències significatives enfront a les que no se'ls hi ha aplicat. Per l'altra banda, en el mètode ABTS, l'aplicació d'ultrasons sí ha presentat diferències significatives en comparació a les emulsions que no se'ls hi ha aplicat, sent major la capacitat oxidant després de la seva aplicació. Aquest comportament pot ser a causa que, tant el mètode CUPRAC com el mètode FRAP consisteixen en la reducció d'un metall (Cu(II) a Cu(I) i Fe(III) a Fe (II) respectivament) i per això els resultats són semblants. No obstant, el mètode d'ABTS els antioxidants reaccionen amb un radical orgànic (Sadeer et al., 2020). Aquest augment pot ser degut a que els ultrasons promoguin l'extracció de composts antioxidants del subproducte de taronja a la fase dispersa de l'emulsió i, per altra banda, pot ser degut a que els ultrasons promoguin la formació de productes de Maillard els quals presenten capacitat antioxidant (Y. Jiang et al., 2022). En els estudis de Jiang et al. (2021) també es va observar un augment de la capacitat antioxidant després de l'aplicació d'ultrasons en emulsions O/W al determinar-se per DPPH, mètode el qual té els mateixos fonaments que el mètode ABTS.

4.4 Polifenols

Els polifenols també s'han determinat degut a que també presenten capacitat antioxidant i ajuden a preservar l'oli. El contingut en polifenols es va calcular a partir de de la darrera lectura

de l'equip. Junt amb la recta de calibratge, els resultats estan expressats en mil·ligrams equivalents d'àcid gàl·lic per cada gram d'emulsió.



Il·lustració 9. Contingut en polifenols de les emulsions. Diferents lletres indiquen diferències significatives ($p < 0,05$).

Com es pot comprovar també amb la Il·lustració 9, la utilització de subproducte de taronja o de pectina comercial a l'hora de preparar les emulsions presenta diferències significatives ($p < 0,05$). Per altra banda, l'aplicació d'ultrasons no ha presentat diferències significatives ($p < 0,05$) al comparar les emulsions +US amb les emulsions 0US. Segons els estudis de Altemimi et al. (2015) i de Chmelová et al. (2020) en ambdós casos l'aplicació d'ultrasons durant temps prolongats provocava l'augment en el contingut de polifenols en les seves extraccions. En aquest treball el temps ha estat de 5 min i, al igual que als dos treballs, en aquest temps encara no es notaven canvis en la concentració de polifenols.

5. Conclusions

Per a finalitzar, en aquest treball s'ha avaluat l'impacte que provoca l'efecte de cavitació del bany d'ultrasons de potència sobre l'estabilitat oxidativa de l'oli dins l'aigua, preparades amb un subproducte de taronja o amb una pectina comercial i amb proteïna de soja. Al caracteritzar les emulsions es va concloure:

L'aplicació d'ultrasons en bany no altera els valors dels continguts en àcids grassos. Al aplicar el test de Tukey no es varen veure diferències significatives ($p < 0,05$) ni entre les emulsions a les quals se'ls hi ha aplicat ultrasò enfront a les que no se'ls hi ha aplicat ni entre les emulsions preparades amb subproducte de taronja enfront les emulsions preparades amb pectina comercial.

El contingut en diens no es veu alterat pel bany d'ultrasons. Tampoc es varen veure diferències significatives ($p < 0,05$) al aplicar el test de Tukey. Aquest resultat reafirma que no es produeix una degradació dels àcids grassos al concordar amb els resultats obtinguts sobre el contingut en àcids grassos.

En quant al contingut d'antioxidants i de polifenols (que també actua com antioxidant), tot i que els resultats de l'ABTS indiquen que tots els factors, tant els ultrasons com la fórmula de les emulsions, presenten diferències significatives ($p > 0,05$), els resultats tant de polifenols com de CUPRAC i FRAP indiquen que els ultrasons no afecten al caràcter antioxidant de l'emulsió ($p < 0,05$) al comparar les emulsions que no se'ls hi ha aplicat el bany d'ultrasons enfront a les sí. No obstant això, al comparar les emulsions formulades amb subproducte de taronja enfront a la pectina comercial es troben diferències significatives ($p > 0,05$). Aquest resultat es deu a que les taronges, a la seva pell, presenten antioxidants naturals i, aquests, han estat alliberats dins de l'emulsió millorant el caràcter antioxidant de l'emulsió.

6. Bibliografia

- Abigail Orús. (2021). *Volumen de naranjas producidas al año en la Unión Europea desde 2011 hasta 2020*.
- Alavi, F., Chen, L., & Emam-Djomeh, Z. (2021). Effect of ultrasound-assisted alkaline treatment on functional property modifications of faba bean protein. *Food Chemistry*, 354. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129494>
- Altemimi, A., Choudhary, R., Watson, D. G., & Lightfoot, D. A. (2015). Effects of ultrasonic treatments on the polyphenol and antioxidant content of spinach extracts. *Ultrasonics Sonochemistry*, 24, 247–255. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.10.023>
- Alzorqi, I., Ketabchi, M. R., Sudheer, S., & Manickam, S. (2016). Optimization of ultrasound induced emulsification on the formulation of palm-olein based nanoemulsions for the incorporation of antioxidant β -D-glucan polysaccharides. *Ultrasonics Sonochemistry*, 31, 71–84. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.12.004>
- BOE. (2007). *Real Decreto 478/2007, de 13 de abril, por el que se modifica el Real Decreto 308/1983, de 25 de enero, por el que se aprueba la reglamentación técnico-sanitaria de aceites vegetales comestibles, en cuanto a las características físico-químicas del aceite refinado de girasol*.

- Chemat, F., Grondin, I., Costes, P., Moutoussamy, L., Sing, A. S. C., & Smadja, J. (2004). High power ultrasound effects on lipid oxidation of refined sunflower oil. *Ultrasonics Sonochemistry*, 11(5), 281–285. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2003.07.004>
- Chmelová, D., Škulcová, D., Legerská, B., Horník, M., & Ondrejovič, M. (2020). Ultrasonic-assisted extraction of polyphenols and antioxidants from *Picea abies* bark. In *Journal of Biotechnology* (Vols. 314–315, pp. 25–33). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.04.003>
- Dalmau, E., Rosselló, C., Eim, V., Ratti, C., & Simal, S. (2020). Ultrasound-assisted aqueous extraction of biocompounds from orange byproduct: Experimental kinetics and modeling. *Antioxidants*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/antiox9040352>
- de Agricultura, M., Medio, A. Y., Gobierno, A., & España, D. E. (2014). “*Más alimento, menos desperdicio*” MEMORIA 2014.
- Dickinson, E. (2019). Strategies to control and inhibit the flocculation of protein-stabilized oil-in-water emulsions. In *Food Hydrocolloids* (Vol. 96, pp. 209–223). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.05.021>
- Domínguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F. J., Zhang, W., & Lorenzo, J. M. (2019). A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. In *Antioxidants* (Vol. 8, Issue 10). MDPI. <https://doi.org/10.3390/antiox8100429>
- Emulsiones De Aceite, E. de, & Llull Maria, L. (2021). *TRABAJO DE FIN DE MÁSTER Centro de Estudios de Postgrado*.
- Guo, X., Zhao, W., Pang, X., Liao, X., Hu, X., & Wu, J. (2014). Emulsion stabilizing properties of pectins extracted by high hydrostatic pressure, high-speed shearing homogenization and traditional thermal methods: A comparative study. *Food Hydrocolloids*, 35, 217–225. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.05.010>
- Hernandez Sanchez, M. D. R., Cuvelier, M. E., & Turchiuli, C. (2015). Design of liquid emulsions to structure spray dried particles. *Journal of Food Engineering*, 167, 99–105. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.07.036>
- Jiang, X., Zhou, S., Jiang, Y., Brenna, J. T., & Abbaspourrad, A. (2021). Effect of ultrasonic treatment on the physicochemical properties and oxidative stability of phospholipids in emulsion system. *Journal of Food Process Engineering*, 44(1). <https://doi.org/10.1111/jfpe.13606>
- Jiang, Y., Zang, K., Sun, J., Zeng, X. an, Li, H., Brennan, C., Huang, M., & Xu, L. (2022). Preparation of modified Jiuzao glutelin isolate with carboxymethyl chitosan by ultrasound-stirring assisted Maillard reaction and its protective effect of loading resveratrol/querceetin in nano-emulsion. *Ultrasonics Sonochemistry*, 88. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106094>

- Khatkar, A. B., Kaur, A., Khatkar, S. K., & Mehta, N. (2018). Optimization of processing time, amplitude and concentration for ultrasound-assisted modification of whey protein using response surface methodology. *Journal of Food Science and Technology*, 55(6), 2298–2309. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3147-5>
- Li, P., Li, X., Nisar, T., Yang, X., Sun, J., Yang, X., & Guo, Y. (2021). Structural characteristics of binary biopolymers-based emulsion-filled gels: A case of mixed sodium caseinate/methyl cellulose emulsion gels. *Food Structure*, 30. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2021.100233>
- Loi, C. C., Eyres, G. T., & Birch, E. J. (2019). Effect of milk protein composition on physicochemical properties, creaming stability and volatile profile of a protein-stabilised oil-in-water emulsion. *Food Research International*, 120, 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.02.026>
- McClements, D. J. (2016). *Food emulsions : principles, practices, and techniques*.
- McClements, D. J., & Gumus, C. E. (2016). Natural emulsifiers — Biosurfactants, phospholipids, biopolymers, and colloidal particles: Molecular and physicochemical basis of functional performance. In *Advances in Colloid and Interface Science* (Vol. 234, pp. 3–26). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2016.03.002>
- McClements, D. J., & Jafari, S. M. (2018). Improving emulsion formation, stability and performance using mixed emulsifiers: A review. In *Advances in Colloid and Interface Science* (Vol. 251, pp. 55–79). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2017.12.001>
- Miguel Calvo. (2016). *Bioquímica de los alimentos*.
- Neckebroeck, B., Verkempinck, S. H. E., van Audenhove, J., Bernaerts, T., de Wilde d'Estmael, H., Hendrickx, M. E., & van Loey, A. M. (2021). Structural and emulsion stabilizing properties of pectin rich extracts obtained from different botanical sources. *Food Research International*, 141. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.110087>
- Pinnamaneni, S., Das, N. G., Das, S. K., & Das, S. K. (2003). *Comparison of oil-in-water emulsions manufactured by microfluidization and homogenization*. <https://www.researchgate.net/publication/10573911>
- Sadeer, N. B., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020). The versatility of antioxidant assays in food science and safety—chemistry, applications, strengths, and limitations. In *Antioxidants* (Vol. 9, Issue 8, pp. 1–39). MDPI. <https://doi.org/10.3390/antiox9080709>
- Subproductos De La Naranja Y Su Aplicación En La, V. de, & Serrano García, S. (2021). *UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA*.
- Umaña, M., Eim, V., Garau, C., Rosselló, C., & Simal, S. (2020). Ultrasound-assisted extraction of ergosterol and antioxidant components from mushroom by-products and the

- attainment of a β -glucan rich residue. *Food Chemistry*, 332. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127390>
- Umaña, M., Turchiuli, C., Rosselló, C., & Simal, S. (2021). Addition of a mushroom by-product in oil-in-water emulsions for the microencapsulation of sunflower oil by spray drying. *Food Chemistry*, 343. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128429>
- Umaña, M., Wawrzyniak, P., Rosselló, C., Llavata, B., & Simal, S. (2021). Evaluation of the addition of artichoke by-products to O/W emulsions for oil microencapsulation by spray drying. *LWT*, 151. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112146>
- Velikov, K., & Pelan, E. (2008). *Colloidal delivery systems for micronutrients and nutraceuticals. Soft Matter*. .
- Wang, T., Wang, N., Li, N., Ji, X., Zhang, H., Yu, D., & Wang, L. (2022). Effect of high-intensity ultrasound on the physicochemical properties, microstructure, and stability of soy protein isolate-pectin emulsion. *Ultrasonics Sonochemistry*, 82. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105871>
- Zhong, M., Sun, Y., Sun, Y., Fang, L., Qi, B., Xie, F., & Li, Y. (2021). Dynamic gastric stability and in vitro lipid digestion of soybean protein isolate and three storage protein-stabilized emulsions: Effects of ultrasonic treatment. *Food Research International*, 149. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110666>
- Zou, H., Zhao, N., Sun, S., Dong, X., & Yu, C. (2020). High-intensity ultrasonication treatment improved physicochemical and functional properties of mussel sarcoplasmic proteins and enhanced the stability of oil-in-water emulsion. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 589. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2020.124463>