

Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Doctorado en Ciencias de los alimentos



**“Efecto antiobesogénico del subproducto de durazno y la
biodisponibilidad de sus compuestos fitoquímicos”**

TESIS

Que como para obtener el grado de Doctor en Ciencias de los Alimentos

Presenta:

M. C. Sarahí Rodríguez González

Director:

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

Centro Universitario

Enero, 2017

Querétaro, Qro.

México.



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Doctorado en Ciencias de los Alimentos



“Efecto antiobesogénico del subproducto de durazno y la biodisponibilidad de sus compuestos fitoquímicos”

TESIS

Que como para obtener el grado de Doctor en Ciencias de los Alimentos

Presenta:

M. C. Sarahí Rodríguez González

Director:

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

SINODALES

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano

Dra. Minerva Ramos Gómez

Dra. Marcela Gaytán Martínez



Dra. Silvia Amaya Llano
Director de la Facultad

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Director de Investigación y posgrado

Centro Universitario
Santiago de Querétaro Qro. México
Enero 2018.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología) por la beca otorgada durante el periodo de 2013-2017.

Agradezco a la Dra. Rosalía Reynoso Camacho por su asesoría durante el doctorado. Le agradezco por su apoyo en todos los sentidos, por todo lo aprendido, por sus consejos y por su confianza en mi.

Agradezco a mi Madre por todo su apoyo siempre, por estar siempre conmigo en mis sueños y metas y por su amor. Durante esta etapa.

Agradezco a mis hermanos por su apoyo incondicional siempre, por estar cuando más lo necesito y por estar conmigo en momentos difíciles.

A mis compañeros de laboratorio por apoyarme durante el doctorado, por la amistad, los consejos, las risas, por su compañía durante esta etapa.

A mis sinodales por las observaciones, consejos, evaluaciones y apoyo durante el doctorado.

Índice

Resumén	1
Abstract	2
1. Introducción	3
2. Antecedentes.....	4
2.1. Prevalencia de obesidad en México.....	4
2.2. Obesidad.....	5
2.3. Metabolismo de lípidos.....	5
2.4. Lipogénesis	7
2.5. Alternativas para prevención y tratamiento de obesidad.....	8
2.6. Fibra dietaria	9
Efecto de la FD en obesidad.....	9
2.7. Fibra dietaria antioxidante	10
Metabolismo y biodisponibilidad de la FD antioxidante	11
2.8. Efecto de los compuestos fenólicos en obesidad.....	12
2.9. Fuentes de la fibra dietaria antioxidante.....	14
Subproducto de durazno (<i>Prunus persica</i> L.).....	14
Efecto del subproducto de durazno en obesidad	16
2.10. Concentración de fibra dietaria	21
3. Justificación	20
4. Hipótesis.....	22
5. Objetivo general	23
5.1. Objetivos específicos	23
6. Material y métodos	23
6.1. Material de estudio	23
6.2. Material biológico	24
6.3. Métodos	24
Estrategia experimental	24
6.3.1. Concentración de fibra dietaria y compuestos fitoquímicos del subproducto de durazno.....	24
6.3.2. Caracterización del subproducto de durazno tratado con agua y etanol25	
6.3.2.1. Determinación de carbohidratos solubles totales.....	26
6.3.2.2. Determinación de azúcares reductores	26

6.3.2.3.	Identificación y cuantificación de carbohidratos por UPLC-ESIMS/Material de estudio	27
6.3.2.4.	Determinación de fibra dietaria	28
6.3.2.5.	Determinación de compuestos fenólicos	28
6.3.2.6.	Determinación de taninos condensados	29
6.3.2.7.	Cuantificación espectrofotométrica de carotenoides.....	30
6.3.2.8.	Capacidad antioxidante por el método de DPPH (TEAC)	30
	Propiedades fisicoquímicas	31
6.3.2.9.	Capacidad de absorción de agua y acetite	31
6.3.2.10.	Densidad aparente.....	32
6.3.2.11.	Índice de retardamiento de glucosa	32
6.3.2.12.	Determinación de viscosidad	33
	Análisis estructurales y morfológicos	33
6.3.6.	Evaluación del subproducto de durazno en obesidad y esteatosis hepática.....	34
6.3.6.1.	Digestibilidad de la dieta	36
6.3.6.2.	Contenido de triglicéridos en heces	36
6.3.6.3.	Análisis bioquímicos	37
6.3.6.4.	Estimación de la resistencia a la insulina.....	37
6.3.6.5.	Análisis histológico del hígado	37
6.3.6.6.	Contenido de triglicéridos hepáticos	38
6.3.6.7.	Contenido de glucógeno hepático.....	38
6.3.6.8.	Actividad de PEPCK hepática.....	39
6.3.6.9.	Extracción de RNA y cuantificación relativa de transcritos de genes	39
	Experimentos In vivo para evaluar las propiedades fisicoquímicas de la digesta y biodisponibilidad de fenoles	40
6.3.6.10.	Propiedades fisicoquímicas de la digesta	41
6.3.6.11.	Biodisponibilidad de compuestos fenólicos.....	42
6.3.7.	Análisis estadístico	43
7.	Resultados y discusión	43
7.1.	Rendimiento del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua y etanol.....	43
7.2.	Carbohidratos solubles totales de sub-producto de durazno tratado con agua y etanol en una relación 1:5 (w/v) durante 5 y 20 minutos	46
7.3.	Azúcares reductores del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua y etanol en una relación 1:5 (w/v) durante 5 y 20 minutos.....	48
7.4.	Perfil de carbohidratos del subproducto de durazno	49

7.5.	Contenido de fibra dietaria total del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua y etanol durante 5 y 20 minutos	50
7.6.	Efecto del tratamiento del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua y etanol sobre la concentración de fitoquímicos y su capacidad antioxidante	53
7.6.1.	Concentración de compuestos fenólicos.....	53
7.6.2.	Perfil de compuestos fenólicos del subproducto de durazno usado para la evaluación de las propiedades fisicoquímicas de la digesta y biodisponibilidad de compuestos fenólicos	55
	Contenido de taninos condensados.....	59
7.6.3.	Concentración de carotenoides.....	60
7.6.4.	Capacidad antioxidante (TEAC)	61
7.6.5.	Integración de los resultados de las diferentes determinaciones del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua y etanol durante 5 y 20 minutos	62
7.7.	Propiedades fisicoquímicas y viscosidad del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua durante 5 y 20 min	64
7.8.	Cambios morfológicos y estructurales del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua durante 5 y 20 min	66
7.9.	Perfil de compuestos fenólicos del subproducto de durazno usado para la evaluación del efecto en obesidad y esteatosis hepática	70
7.10.	Efecto antiobesogénico del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua 5 min en un modelo <i>in vivo</i>	74
7.10.1.	Peso corporal	74
7.10.2.	Efecto del subproducto de durazno y tratado con 100% H ₂ O 5 min en la resistencia a la insulina	77
7.10.3.	Efecto del subproducto de durazno y tratado con 100% H ₂ O 5 min en triglicéridos en suero y heces y digestibilidad de la dieta	81
7.10.4.	Efecto del subproducto de durazno y tratado con 100% H ₂ O 5 min en esteatosis hepática.....	85
7.11.	Propiedades fisicoquímicas de la digesta y biodisponibilidad de compuestos fenólicos de animales alimentados con subproductos de durazno	88
7.11.1.	Consumo de alimento y propiedades fisicoquímicas de la digesta ..	88
7.11.2.	Biodisponibilidad de polifenoles	91
	Conclusiones	99
	Bibliografía	100

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue concentrar la fibra dietaria (DF) y compuestos fenólicos (CF), así como mejorar las propiedades fisicoquímicas y biodisponibilidad de polifenoles del subproducto de durazno (SD) usando diferentes tratamientos con agua/etanol (100:0, 20:80, 50:50, 80:20 y 0:100, v/v) en relación 1:5 y 1:10 (p/v) por 5, 10, 20, 30 y 40 min a 21°C, y determinar su efecto en obesidad y sus complicaciones. Todos los tratamientos concentraron los CF y la FD total e insoluble, encontrándose el mayor contenido de FD en el SD tratado con 100% H₂O por 5 min. Los polifenoles mayoritarios del SD tratado fueron el ácido 4-O-cafeoilquínico, clorogénico, y 1,5-di-O-cafeoilquínico. La capacidad de retención de agua y aceite, y la viscosidad aumentaron en los SD tratados.

Las propiedades fisicoquímicas de la digesta y la biodisponibilidad de CF se evaluaron en ratas sanas alimentadas con una dieta estándar y suplementada con 8% de SD sin tratamiento y tratado con 100% H₂O y con 20% EtOH por 5 min. La viscosidad y la capacidad de retención de agua de la digesta incrementaron en los animales alimentados con una dieta suplementada con el SD tratado con 100% H₂O 5 min. Además, la excreción de metabolitos de los polifenoles extraíbles fue mayor para el grupo de SD tratado, y algunos polifenoles no extraíbles como ácido *p*-cumaroil glucólico, galoil glucosa, kaemferol y dihidroquercetina fueron mayoritarios en la orina de los animales alimentados con el SD sin tratar. El SD sin tratamiento y tratado con 100% H₂O 5 min fueron evaluados en animales alimentados con una dieta alta en grasa y fructosa y suplementados con los SD. El SD sin tratamiento tuvo mayor efecto sobre el control del peso corporal y mejoró la resistencia a la insulina, al incrementar el contenido de glucógeno hepático y disminuyó la actividad de PEPCK. También tuvo mayor efecto en los niveles de triglicéridos en suero que el SD tratado, atenuando la esteatosis hepática, al disminuir la expresión de Srebp1 y Fasn, y al incrementar la expresión de Cpt1 en hígado. Estos beneficios se observaron, a pesar de las mejoras de las propiedades fisicoquímicas y de la biodisponibilidad de los CF del SD tratado con 100% H₂O 5 min. El SD sin tratar puede ser una alternativa para el control de algunas complicaciones de la obesidad.

Palabras clave: Subproducto durazno, fibra dietaria, compuestos fenólicos, biodisponibilidad, obesidad, esteatosis hepática.

ABSTRACT

The aim of this study was to concentrate the DF and phenolic compounds (PC) as well as to improve the physicochemical properties and polyphenols bioavailability of peach by-products (PB) using different treatments with water/ethanol and to determinate their effect on obesity and its complications. The first phase was to concentrate the DF and PC of the PB, and to evaluate their physicochemical properties. The PB was treated with water/ethanol (100:0, 20:80, 50:50, 80:20 and 0:100, v/v) in a ratio of 1:5 and 1:10 (w/v) for 5, 10, 20, 30 and 40 min at 21°C and its PC content and physicochemical properties were determined. All the treatments concentrated the PC, and the total and insoluble DF, finding the highest DF content in the PB treated with 100% H₂O for 5 min. The majoritarian polyphenols of the treated PB were 4-O-Cafeoilquinic, chlorogenic, and 1,5-Di-O-Cafeoilquinic acid. The water and oil retention capacity, and the viscosity increased in the treated by-products. The digesta physicochemical properties and the PC bioavailability were evaluated in healthy rats fed with a standard diet supplemented with 8% of the untreated PB, PB treated with 100% H₂O and with PB treated with 20% EtOH for 5 min. The digesta viscosity and water retention capacity increased in the animals fed with diet supplemented with the treated PB with 100% H₂O 5 min. Moreover, the extractable polyphenols metabolites excretion was higher in the treated PB group, and some no extractable polyphenols such as p-cummaroil glycolic acid, glucose galolil, kaempferol and dihydroquercetin were the majoritarian in the animals fed with the untreated PB.

The untreated and treated PB with 100% H₂O 5 min were evaluated in animals fed with high fat and fructose diet and supplemented with the peach by-products. Despite the improve of the physicochemical properties and PC bioavailability of the PB treated with 100% H₂O 5 min, the untreated PB had major effect in the body weight control, and improved the insulin resistance due to it increased the hepatic glycogen content, and decreased the PEPCK activity. Furthermore, the untreated PB shown lower serum triglycerides levels than the treated PB, diminishing the hepatic steatosis, since, it decreased the Srebp1 and Fasn expression and increased the Cpt1 expression in liver. The untreated PB could be an alternative to the control of some obesity complications.

Keys words: Peach by-product, dietary fiber, phenolic compounds, bioavailability, obesity, hepatic steatosis.

1. INTRODUCCIÓN

La obesidad es una enfermedad crónica multifactorial, que se caracteriza por el exceso de energía que se almacena en los adipocitos lo que predispone a alteraciones metabólicas y fisiológicas en órganos como el hígado y tejido adiposo, generando hiperlipidemia, resistencia a la insulina, hipertensión arterial y enfermedad de hígado grado no alcohólico denominada esteatosis.

El aumento de ingesta de energía induce la lipogénesis, mediante la activación del factor de transcripción de la proteína de unión al elemento de respuesta a los esteroides (SREBP-1c), este incrementa la expresión de enzimas lipogénicas como la acetil CoA carboxilasa (ACC), ácido graso sintasa (FAS) y desaturasa de estearoil CoA (SCD-1). En el hígado de personas obesas la CPT-1 relacionada con β -oxidación de ácidos grasos se encuentra inhibida. Por lo tanto, dichos ácidos grasos reesterificados en triacilglicéridos lo que conlleva al desarrollo de esteatosis.

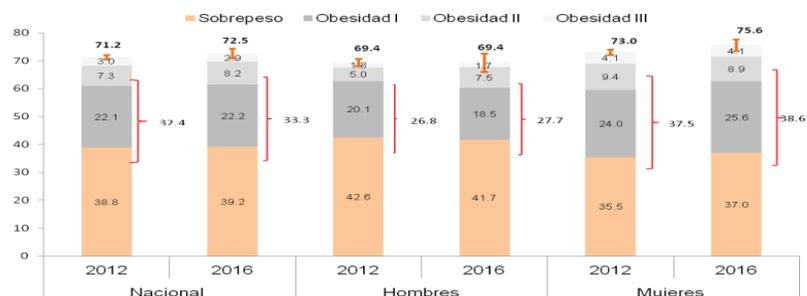
Para el control de la obesidad y sus complicaciones se ha utilizado la fibra dietaria y los compuestos fitoquímicos entre los que se encuentran los compuestos fenólicos y los carotenoides. Los subproductos de la industria de jugos son una fuente importante de fibra dietaria y antioxidantes, y dichas empresas generan aproximadamente entre un 35-70% de residuos agroindustriales (subproductos) los cuales incluyen cáscara, pulpa y semillas. Se ha reportado que el subproducto de durazno tiene un efecto en el control de la obesidad a pesar de su alto contenido de azúcares, sin embargo, estas propiedades podrían ser mejoradas reduciendo dichos compuestos y concentrando la fibra dietaria.

Se han usado diferentes estrategias para concentrar la fibra dietaria de subproductos como tratamientos con etanol seguido de secado por microondas y con etanol/agua hirviendo, y se ha mejorado las propiedades fisicoquímicas de la fibra dietaria, sin embargo, estas condiciones podrían modificar las propiedades de los compuestos bioactivos, por lo tanto, el objetivo del estudio es implementar un tratamiento simple, rápido y viable para concentrar la fibra dietaria y mejorar sus propiedades fisicoquímicas, así como, mantener los compuestos bioactivos e incrementar su biodisponibilidad para mejorar propiedades del subproducto de durazno para el control de la obesidad y sus complicaciones.

2. Antecedentes

2.1. Prevalencia de obesidad en México

México es uno de los principales países con obesidad, ocupando el segundo lugar a nivel mundial (Shamah *et al.*, 2012). La encuesta de salud y nutrición en el 2016 reportó que en nuestro país la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad es de 75.6% para mujeres y 69.4% para hombres (Figura 1).



Fuente: ENSANUT 2012 y ENSANUT MC 2016.

* Clasificación de IMC descrita por la OMS: sobrepeso = 25.0-29.9 kg/m², obesidad grado I = 30.0-34.9 kg/m², obesidad grado II = 35.0-39.9 kg/m², obesidad grado III ≥ 40.0 kg/m²

Figura 1. Prevalencia de obesidad y sobrepeso en adultos de 20 años en adelante en México (2016).

2.2. Obesidad

La obesidad es una enfermedad crónica multifactorial, caracterizada principalmente por un almacenamiento en exceso de tejido adiposo, establecida principalmente por un desequilibrio entre la ingesta de calorías y el gasto energético; este exceso de energía se almacena en los adipocitos que aumentan en tamaño y/o en número, lo que predispone a alteraciones metabólicas y fisiológicas en órganos como el hígado, músculo esquelético y tejido adiposo, generando hiperlipidemia, resistencia a la insulina, hipertensión arterial, aterosclerosis y enfermedad de hígado grado no alcohólico (EHGNA) denominada esteatosis (World Health Organization, 2013; FAO-Schmidhuber, 2004; SSA, 2010; Postic y Girard, 2008).

La obesidad se caracteriza por una serie de alteraciones en el metabolismo de lípidos como los triacilglicéridos y el colesterol, se incrementan los procesos de absorción de grasa, incremento de síntesis y disminución de la oxidación de dichos lípidos.

2.3. Metabolismo de lípidos

Los lípidos se ingieren en forma de triacilglicéridos (TAG), pero deben ser degradados por las lipasas hasta monoacilglicerol y ácidos grasos (AG) para que sean absorbidos por el epitelio intestinal. En el lumen intestinal, los TAG se incorporan a las micelas que se forman con la ayuda de las sales biliares, de esta manera sus enlaces éster se orientan hacia la superficie de las micelas, logrando que estos enlaces sean más susceptibles a la digestión por parte de las lipasas pancreáticas en solución acuosa. Los productos finales de la digestión se transportan en las micelas hasta el epitelio intestinal, donde se absorben a través

de la membrana plasmática. En las células de la mucosa intestinal, los TAG se resintetizan a partir de AG y monoacilglicerol y, posteriormente son empaquetados en unas partículas lipoprotéicas de transporte denominadas quilomicrones (Barberger-Gateau *et al.*, 2012). Los quilomicrones se liberan al sistema linfático y de ahí pasan a la sangre. Estas partículas se unen a las lipasas de lipoproteínas ligadas a las membranas, principalmente del tejido adiposo y del músculo, donde nuevamente los TAG se degradan a AG y monoacilglicerol para ser incorporados a los tejidos. Y una vez dentro de la célula, se reesterifican, produciendo TAG para su almacén, principalmente en tejido adiposo o se oxidan en músculo (Figura 2).

El remanente del quilomicroción entra a hígado y dentro se produce VLDL la cual sale de hígado y nuevamente por acción de la lipoprotein lipasa, los triacilglicéridos son hidrolizados y se liberan ácidos grasos libres que se transportan al músculo o tejido adiposo, transformándose la VLDL en IDL y por acción de la lipasa hepática en sangre, se liberan ácidos grasos y se convierte en LDL que transporta colesterol a tejidos periféricos (Merscher *et al.*, 2014).

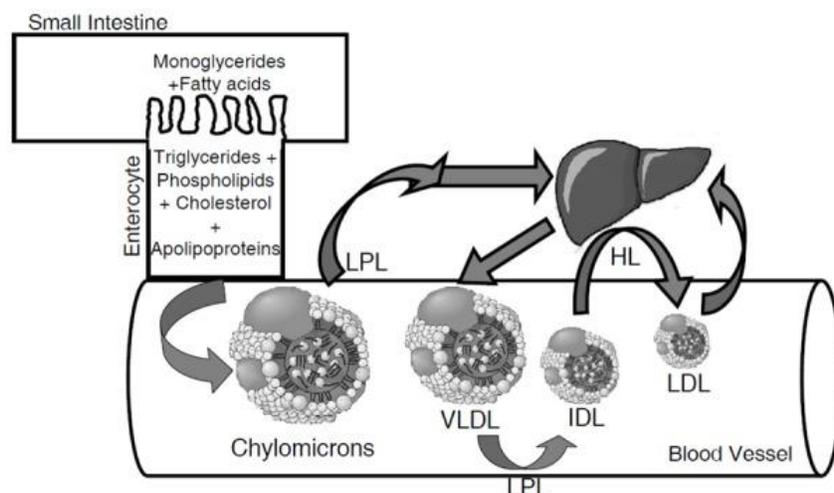


Figura 2. Metabolismo de lipoproteínas (Barberger-Gateau *et al.*, 2012).

2.4. Lipogénesis

El aumento de ingesta de nutrientes induce la lipogénesis, mediante la activación del factor de transcripción de la proteína de unión al elemento de respuesta a los esteroides (SREBP-1c), este incrementa la expresión de enzimas lipogénicas como la acetil CoA carboxilasa (ACC), ácido graso sintasa (FAS) y desaturasa de estearoil CoA (SCD-1) (Miquilena y Monzón, 2010; Ye-Huang, 2013; Gao *et al.*, 2009; McArdle *et al.*, 2013). El acetil-CoA, es el precursor de todos los AG. La síntesis de AG inicia con la carboxilación del acetil-CoA hasta malonil CoA que es catalizada por la ACC, esta es la primera enzima limitante de la lipogénesis *de novo*, posteriormente el malonil-CoA se transforma en palmitoil-CoA, por acción de la FAS. El ácido palmítico puede ser elongado o desaturado mediante la acción de las enzimas, elongasa de cadena larga 6 (ELOLV6) y la SCD1. Los ácidos grasos una vez sintetizados son reesterificados en TAG (Figura 3) (Palou *et al.*, 2004).

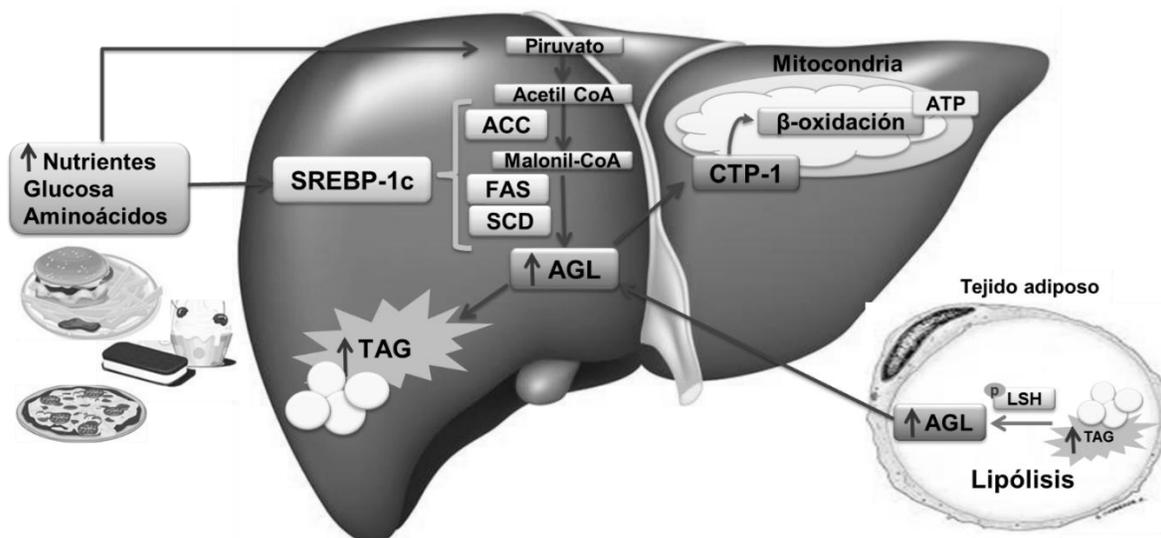


Figura 3. Metabolismo de lípidos en hígado. SREBP1c: Proteína de unión al elemento regulador de esteroides; ACC: Acetil-CoA carboxilasa; FAS: Sintasa de ácidos grasos; AGL: Ácidos grasos libres; SCD: Estearoil-CoA desaturasa; TAG: Triacilglicéridos.

Durante periodos de ayuno o en un estado de obesidad se movilizan los depósitos de TAG en tejido adiposo por acción de la lipasa sensible a la hormona (LSH) generando AG libres que son transportados en la sangre por la albúmina a otros tejidos como el hígado (McArdle *et al.*, 2013). Una vez dentro del hígado, en una persona sana, estos son transportados a la mitocondria por la carnitina palmitoil transferasa (CPT-1) para ser oxidados y producir ATP, sin embargo en una persona obesa la CPT-1 esta inhibida por incremento de AG en hígado, entonces estos son reesterificados en TAG y se almacenan en hígado lo que provoca la esteatosis hepática (Gao *et al.*, 2009). Esta esteatosis hepática está asociada con la resistencia a la insulina en el hígado, debido a que la alta acumulación de TG disminuye la actividad de la glucógeno sintasa (glicogénesis) y promueve la actividad de la fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPCK) (gluconeogénesis) llevando a una crónica hiperlipidemia (Luna, 1968; Varman *et al.*, 2004).

2.5. Alternativas para prevención y tratamiento de obesidad

Los tratamientos para la obesidad pueden ser farmacológicos, y no farmacológicos; como la dieta y la actividad física. Respecto a la dieta, los nutraceuticos son los principales compuestos utilizados para el tratamiento y prevención de la obesidad. El término nutraceutico define a nutraceutical como “un alimento (o un parte de los alimentos) que proporciona beneficios medicinales o de salud, incluyendo la prevención y el tratamiento de una enfermedad”. Entre dichos nutraceuticos se encuentran la fibra dietaria (FD) y los antioxidantes (Das *et al.*, 2012). Existe evidencia que relaciona los fitoquímicos con la protección contra obesidad, por lo tanto, podrían ser una opción de terapia antiobesogénica (Meng-

Wong *et al.*, 2012). De igual manera, se ha reportado efecto de la FD en obesidad (Wanders *et al.*, 2011).

2.6. Fibra dietaria

La FD es considerada un grupo de carbohidratos complejos no hidrolizables por enzimas secretadas por el tracto digestivo, no son absorbidas en el intestino delgado, pero pueden ser digeridas y fermentadas por la microflora en el intestino produciendo ácidos grasos de cadena corta (Quirós *et al.*, 2011; Das *et al.*, 2012). La FD está presente de forma natural en frutas, vegetales y cereales (Hendrick *et al.*, 1991).

En base a su solubilidad en agua, la FD puede ser dividida en:

1. Fibra dietética insoluble (FDI), que está constituida por celulosa, hemicelulosa, lignina, cutina y otros polisacáridos que no contienen almidón, y es fermentada sólo una pequeña cantidad en el colon.
2. Fibra dietética soluble (FDS) está formada por pectinas, β -glucanos, arabinosilanos, galactomananos, gomas, mucílago y otros polisacáridos y sacáridos no digeribles, puede ser fermentada por las bacterias en el intestino grueso (Saura-Calixto, 2011; Wanders *et al.*, 2011; Lattimer y Haub, 2010).

2.6.1. Efecto de la FD en obesidad

El efecto antiobesogénico de la FD se le atribuye principalmente a la FDS debido a que tiene la capacidad de retener agua y formar soluciones altamente viscosas lo que impide la digestión y absorción de lípidos a través de la pared intestinal; reduce la eficiencia de la conversión de grasa en energía, interfiriendo

físicamente con las interacciones lipasa-grasa-sales biliares e inhibiendo la α -lipasa pancreática y de esta forma disminuyendo la lipólisis de TAG y por lo tanto, la absorción de AG (Wanders *et al.*, 2011; Zhong *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2011). Se reporta que la FDS como las pectinas, β -glucanos y goma guar reducen el apetito más que las fibras menos viscosas, por otra parte, la FDS aumenta el volumen fecal y provoca sensación de saciedad (Das *et al.*, 2012; Lyon *et al.*, 2010).

2.7. Fibra dietaria antioxidante

La fibra dietaria puede tener antioxidantes asociados en la matriz de la FD como compuestos fenólicos y carotenoides, por esta razón se denomina FD antioxidante (García-Magaña *et al.*, 2013; Ajila *et al.*, 2007; Larrauri *et al.*, 1996). Los polifenoles no extraíbles (PFNE) son los principales antioxidantes asociados con FD (taninos poliméricos y PF hidrolizables), pero hay una cantidad menor de antioxidantes asociados como carotenoides en frutas y vegetales y melanoidinas o productos de la reacción de Maillard en alimentos procesados. Sin embargo, la concentración más alta de PFNE se encuentra en frutas, los cuales son principalmente proantocianidinas (PANE). Los PFNE tienen grupos con anillos aromáticos hidrofóbicos e hidrofílicos con la habilidad de ligarse a polisacáridos y proteínas en varios sitios en la superficie de la pared celular (Saura-Calixto, 2011; Quirós *et al.*, 2011).

Los PFNE y la FD están unidos por puentes de hidrogeno (entre el grupo hidroxilo de los PFNE y el átomo de oxígeno de los enlaces glucosídicos de los polisacáridos), interacciones hidrofóbicas, y enlaces covalentes como enlaces éster

entre ácidos fenólicos y polisacáridos. La interacción puede depender de la porosidad y propiedades de la superficie de la pared celular, las cuales pueden restringir el tamaño de las moléculas que penetran (Figura 4). El tamaño del poro de la pared celular es de 4 a 10 nm de diámetro, el cual puede restringir la penetración de PF con masa molecular mayor a 10 kDA (equivalente a 34 unidades de catequina) (Saura-Calixto, 2011; Quirós *et al.*, 2011).

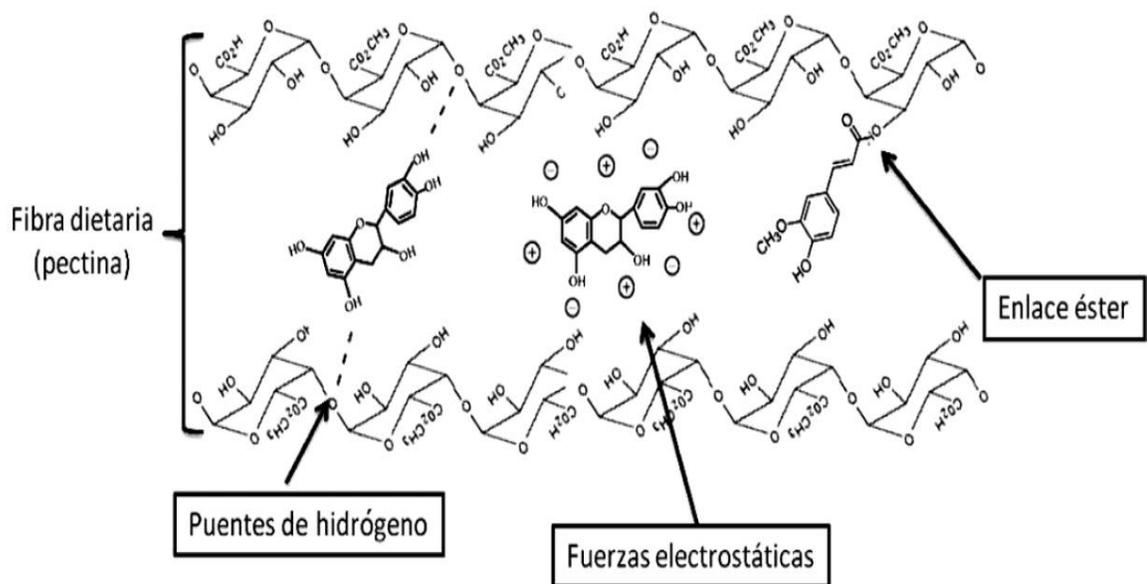


Figura 4. Tipos de interacciones entre antioxidantes y la FD (Quirós *et al.*, 2011).

2.7.1. Metabolismo y biodisponibilidad de la FD antioxidante

Las propiedades biológicas de la FD antioxidante dependen de la biodisponibilidad de sus compuestos bioactivos (Saura-Calixto, 2011; Quirós *et al.*, 2011). Los antioxidantes pueden ser divididos en dos grupos: 1) antioxidantes con biodisponibilidad en el intestino delgado (vitaminas, polifenoles de bajo peso molecular (PFE) y carotenoides) y 2) antioxidantes no bioaccesibles en el intestino

delgado o antioxidantes asociados con FD (PFNE). Este último grupo son principalmente PF poliméricos y PF de bajo PM ligados a FD y/o atrapados en los núcleos de la matriz de la FD con menor cantidad de carotenoides y otros. Recientes estudios, han mostrado que este grupo de antioxidantes constituyen una mayor proporción de antioxidantes presentes en alimentos (Saura-Calixto, 2011; Palafox-Carlos *et al.*, 2011).

Sólo la microflora intestinal es capaz de hidrolizar la matriz de la FD y liberar los antioxidantes asociados en condiciones fisiológicas suaves (pH neutro y 37 °C). La microflora humana también puede hidrolizar, reducir, descarboxilar, desmetilar y deshidroxilar los PF, produciendo varios metabolitos (ácidos dihidroxifenil urolitina, equol, y otros) se ha reportado que estos metabolitos son absorbidos parcialmente en el intestino grueso, ya que se encuentran en plasma después de 8 horas, más tiempo del que son absorbidos los PF (0.5 - 2 h) (Saura-Calixto, 2011). Los PF y carotenoides no fermentados permanecen en el lumen del colon, donde pueden contribuir a un medio ambiente antioxidante al eliminar los radicales libres y contrarrestar los efectos de los compuestos pro-oxidantes de la dieta. Por otra parte, algunos PF y carotenoides pueden ser excretados en las heces (Quirós *et al.*, 2011; Palafox-Carlos *et al.*, 2011).

2.8. Efecto de los compuestos fenólicos en la obesidad

Se ha reportado que los compuestos fenólicos disminuyen la ganancia de peso y por lo tanto tienen beneficios en el control de la obesidad (Williamson *et al.*, 2013). Uno de los mecanismos de los compuestos fenólicos; flavonoles y

glucósidos de flavonoles, florizinas y catequinas del té verde reportados para su efecto en obesidad es la inhibición de la absorción y transporte de glucosa en el intestino (Williamson, 2013). La glucosa es transportada en el intestino principalmente por dos transportadores, dependiendo de la concentración de glucosa en el lumen. A bajas concentraciones de glucosa, esta es transportada en contra del gradiente, por un transportador activo, contrasportándose con iones de Na⁺, el transportador SGLT1 (transportador 1 de glucosa pendiente de sodio), el cual tiene una alta afinidad por la glucosa dependiente de Na⁺ (Brown, 2000). A altas concentraciones de glucosa, esta es transportada por GLUT2 que tiene baja afinidad, este transportador se localiza en la membrana sólo a altas concentraciones de glucosa, mientras que SGLT1 se encuentra en la membrana (Morgan *et al.*, 2007). Los compuestos fenólicos interactúan con los transportadores de glucosa por inhibición competitiva de SGLT1 y/o de GLUT2 (Alvarado, 1967; Kwon *et al.*, 2007; Williamson *et al.*, 2013). Manzano y Williamson (2010) reportan que los compuestos fenólicos de la fresa interactúan con el transportador SGLT1 de las células Caco2, inhibiéndolas. Por otra parte se ha reportado que los flavonoides, esteres de galato, ácido 5-cafeoilquínico y proantocianidinas inhiben la actividad de α -amilasa. Los productos de oxidación de antocianidinas y catequinas como teaflavinas y teasinsensinas inhiben la maltasa; la sacarasa es menos inhibida, pero las antocianidinas parecer ser efectivas (Williamson *et al.*, 2013). Las catequinas del té verde inhiben la lactasa. Además, se ha reportado que los compuestos polifenólicos del té blanco inhiben la actividad de la lipasa (Tenore *et al.*, 2013).

Por otra parte, se ha reportado que algunos compuestos fenólicos como ácido *p*-hidrobenzoico, clorogénico, cafeico, ferúlico y gálico, así como algunos flavonoides como hesperidina, naringina, y epicatequina tienen efecto parcial inhibitorio de la síntesis de lípidos, mediante la regulación de la expresión de SREBP1c y por lo tanto enzimas lipogénicas como ACC y FAS, además de incrementar la expresión de CTP-1, enzima clave para la β -oxidación de ácidos grasos (Lin *et al.*, 2012; Ou *et al.*, 2011).

2.9. Fuentes de fibra dietaria antioxidante

Las frutas y verduras son las principales fuentes de FD. En México existen aproximadamente 250 empresas productoras de jugos, néctares y concentrados de frutas (SAGARPA, 2009). En Querétaro, se encuentra la Sociedad Cooperativa de Trabajadores de Pascual, S. C. L. en la que se elaboran y comercializan bebidas naturales y nutritivas, como jugos, néctares, pulpas de fruta, agua purificada y refrescos. Entre las frutas que se procesan en la empresa Pascual Boing para la producción de jugo se encuentra el durazno. Se estima que se obtiene un 35% de rendimiento en el proceso de producción de jugos, y el 75% restante se considera subproducto o desecho orgánico, el cual es utilizado como abono en tierras de cultivo de la región, no obstante, pueden ser un problema de contaminación ambiental si no son procesados adecuadamente (Elleuch *et al.*, 2011).

2.9.1. Subproducto de durazno (*Prunus pérsica* L.)

El subproducto de durazno es alto en FD antioxidante, esta se encuentra principalmente en la cáscara de durazno (CD), y es rica en polímeros de la pared

celular y en compuestos fenólicos asociados a estos polímeros, sin embargo, la pulpa también contiene FD antioxidante. La pared celular del durazno está compuesta principalmente por polisacáridos pécticos y celulosa (Manganaris *et al.*, 2008).

Los principales polisacáridos del durazno son los arabinanos, los cuales se encuentran usualmente como cadenas laterales pécticas de polisacáridos, ó polímeros libres no unidos a dominios pécticos (Ridley *et al.*, 2001). Los enlaces de unión de los arabinanos consisten en un esqueleto de unidades de (1→5)- α -L-arabonofuranosil, variablemente ramificado en O-2 y/ó O-3 por un residuo de arabinosil ó cadenas cortas (Mohnen, 2008). Debido a que los arabinanos forman parte de la fibra soluble del durazno, estos son solubles en agua y hasta etanol al 70% (Beaven *et al.*, 1965), por lo tanto, estos se pueden extraer en etanol al 80%, ya que con esta concentración de etanol precipitan (Simas-Tosin *et al.*, 2012; Hara *et al.*, 2013). Entre estos polisacáridos se encuentran los α -arabinogalactanos, los cuales consisten de un 41% de arabinosa, 50% de galactosa, ramnosa 2%, xilosa 5% y ácidos urónicos 2%, el análisis de metilación de estos polisacáridos en un estudio en pulpa de durazno indica que hay presencia de terminaciones no reductoras como O-acetil, -CH₃, de unidades de ramnosa, y carboxil (-CO₂H) y carboxil metil ester (-CO₂CH₃) de unidades de ácidos urónicos (Simas-Tosin *et al.*, 2012).

Por otra parte, el subproducto de durazno también contiene azúcares. Se reportó que la sacarosa (28 g/100 g) es el azúcar más abundante en el durazno,

además de que presenta alto contenido de azúcares reductores, principalmente glucosa (10.6 g/100 g) y fructosa (11.5 g/100 g), y pequeñas cantidades de sorbitol (4.4 g/100 g) (Alcobendas *et al.*, 2013; Génard y Souty, 1996).

Además, contiene compuestos fenólicos (711.7-1354.5 mg GAE/100 g) y flavonoides (301.3-785.5 mg CE/100 g) (Escalada *et al.*, 2012). La mayor cantidad de antioxidantes y actividad antioxidante se encuentra en la cáscara durazno y no en la pulpa, como lo reporta Manzoor *et al.* (2012) quienes mencionan que hay inhibición de la peroxidación de los ácidos linoléicos y la actividad captadora de DPPH, las cuales variaron de 70.8 a 80-9% y de 66.8 a 76.5% de la cáscara de durazno y de 51.9 a 60.1% y de 43-4 a 49.1% de la pulpa, respectivamente. Por esta razón, la CD puede ser útil como una fuente viable de antioxidantes naturales para alimentos funcionales y aplicaciones nutracéuticas. Por otra parte, el contenido de fenoles totales de ocho variedades de durazno es mayor en la cáscara (910.9 a 19922.9 mg/kg) que en la pulpa (Chang *et al.*, 2000; Escalada *et al.*, 2012).

2.9.2. Efecto del subproducto de durazno en obesidad

Se ha reportado que extractos de frutas de la familia de durazno (*Prunus mume*) obtenidos con 70% de etanol y administrados a ratones a una concentración de 1 y 5%, redujeron el aumento de peso, la acumulación de grasa, la masa grasa corporal, la masa del tejido visceral y epididimal, el peso y acumulación de grasa en el hígado, el tamaño de adipocitos y el contenido de TAG, sin diferencia en el consumo de alimento. Los resultados sugieren que el extracto de estas frutas rico en compuestos fenólicos podría utilizarse como un alimento funcional para la

prevención de la obesidad, la acumulación de grasa e hígado graso, ya que este estimula el consumo de glucosa por la célula mediante la vía PPAR- γ (Ju-Shin *et al.*, 2013). También se ha reportado que el jugo de durazno tiene efecto protector contra hiperglucemia, resistencia a la insulina, además de disminuir la expresión de marcadores pro-alérgicos y pro-antiinflamatorios en plasma, y ellos sugieren que los polifenoles del durazno tienen un rol agonista en PPAR γ el cual disminuyen la inflamación y el estrés oxidativo, y regula positivamente la sensibilidad y homeostasis de glucosa (Noratto *et al.*, 2015).

Un estudio previo de laboratorio realizado *In vivo* en un modelo de obesidad donde se les administró a ratas Wistar una dieta alta en grasa y fructosa suplementada con FD de cuatro subproductos (4%, mango, durazno, guayaba y manzana), se observó menor ganancia de peso en los animales que fueron suplementados con los subproductos con respecto al control obeso, por su parte, el subproducto de durazno tiene efecto en disminución del peso corporal de un 5% comparado con el control obeso, además de regular los niveles de glucosa hasta en un 26% y de triglicéridos en hígado en un 20% (Cuadro 1), se sugiere que esto podría estar relacionado con su alto contenido de FDS (Cuadro 2) como de compuestos fenólicos y flavonoides (ácido gálico, *p*-hidroxibenzoico, quercetin 3-*O*-ruteonisido, kaemperol) (Cuadro 3) (Amaya-Cruz *et al.*, 2015).

Cuadro 1. Peso corporal, niveles de glucosa en suero y triglicéridos en hígado de animales alimentados con una dieta suplementada con subproductos de una industria procesadora de jugos.

Parámetro	Dieta estándar	Dieta alta en grasa y fructosa	Dieta alta en grasa y fructosa + Subproducto de durazno
Peso corporal (g)	510.0 ± 9.8b	603.3 ± 14.7a	574.4 ± 17.9ab
Glucosa (mg/dL)	124.1 ± 5.2 c	187.4 ± 7.1a	137.5 ± 6.9bc
Triglicéridos hepáticos (mg/g proteína)	3.8 ± 0.4b	9.2 ± 1.5a	7.3 ± 0.8ab

Letras diferentes indican que hay diferencias significativas Tuckey $\alpha=0.05$ (Adaptada de Amaya-Cruz *et al.*, 2015).

Cuadro 2. Contenido de fibra dietaria de los subproductos de una industria procesadora de jugos.

Componente	Subproducto de durazno
Fibra dietaria total	37.6 ± 0.1
Fibra dietaria soluble	13.4 ± 0.0
Fibra dietaria insoluble	24.3 ± 0.1

(Adaptada de Amaya-Cruz *et al.*, 2015).

Cuadro 3. Perfil de compuestos fenólicos y carotenoides de los subproductos de una industria procesadora de jugos.

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Subproducto de durazno
Carotenoides (mg β -caroteno/g)	ND	22.42 \pm 0.6
Polifenoles extraíbles		
Compuestos polifenolicos (GAE mg/g)	ND	83.6 \pm 1.5
Flavonoides (CE mg/g)	ND	3.9 \pm 0.1
Polifenoles no extraíbles		
Taninos hidrolizables (MGE mg/g)	ND	1.64 \pm 0.1
Taninos condensados (PA mg/g)	ND	16.3 \pm 0.1
Perfil de polifenoles (ng/g)		
Ácidos hidrocínámicos		
Ácido clorogénico	2.1	2.1 \pm 0.1
Ácido gálico	4.4	83.3 \pm 5.0
<i>p</i> -Ácido cumárico	16.1	0.8 \pm 0.1
Ácido caféico	12.3	0.5 \pm 0.1
Ácido sinápico	19.1	LDL
Ácido elágico	29.7	3.1 \pm 0.2
<i>p</i> -Ácido hidroxibenzoico	9.8	51.9 \pm 3.9
Ácido protocatecuico	14.3	0.5 \pm 0.0
Ácido ferúlico	18.7	0.9 \pm 0.1
Flavonoides: Flavonoles		
Epicatequin galato	25.6	0.6 \pm 0.0
Epicatequina	2.4	1.4 \pm 0.0
Quercetin 3-O-rutinosido	20.4	4.4 \pm 0.7
Quercetina	27.8	LDL

Kamferol	13.1	3.2 ± 0.4
Catequina	3.0	1.6 ± 0.1
Galocatequin galato	24.8	0.2 ± 0.0
Flavonones		
Eriocitrina	19.4	0.2 ± 0.0
Naringina	31.5	LDL
Hidroxibenzaldehidos		
Vanillina	33.5	0.4 ± 0.1

(Adaptada de Amaya-Cruz *et al.*, 2015).

Sin embargo, debido al alto contenido de carbohidratos solubles (Figura 5) es necesario concentrar el contenido de FD mediante la reducción el contenido de estos carbohidratos en los subproductos para potenciar su efecto antiobesogénico, además, no se ha elucidado el mecanismo de acción por el cual se presenta este efecto antiobesogénico.

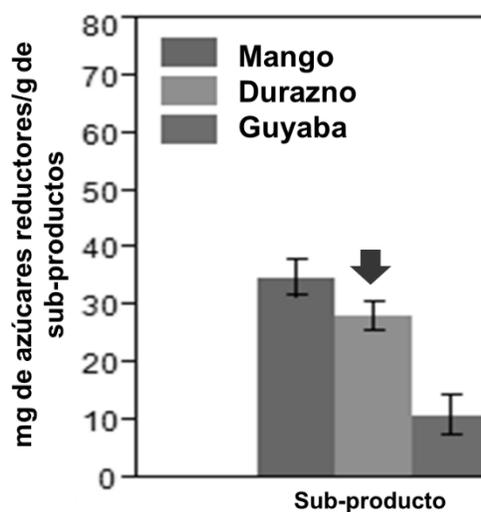


Figura 5. Contenido de azúcares reductores de los subproductos de una industria procesadora de jugos.

En base con lo reportado se considera que los subproductos provenientes de la industria procesadora de jugos se pueden transformar en productos de elevado valor agregado mediante tratamientos químicos, físicos o microbiológicos, y podrían ser explotados para fines nutracéuticos.

2.10. Concentración de fibra dietaria

Se han usado diferentes técnicas o estrategias para concentrar fibra dietaria de los subproductos de frutas. Nieto *et al.* (2015) concentró FD de bagazo de durazno usando un pre-tratamiento con etanol y secado con microondas y mejoró la capacidad de hidratación y retención de aceite (CRA). También se ha concentrado FD de cáscara y pulpa de durazno con agua/etanol (96:4, v/v) hirviendo por 15 min y se aumentó la CRA y la densidad aparente (De Esclada *et al.*, 2012). Sin embargo, las altas temperaturas podrían afectar la estructura de la FD y sus propiedades fisicoquímicas, así como el contenido de polifenoles y su biodisponibilidad (Nicoli *et al.*, 1999).

3. Justificación

Existe una gran producción de subproductos provenientes de la industria procesadora de jugos (35-75%), los cuales pueden ser fuente de contaminación ambiental. Sin embargo, estos subproductos son una importante fuente de FD antioxidante con diferentes perfiles de FDI/FDS y fitoquímicos que podrían tener diferente efecto benéfico en la salud. No obstante, uno de los principales problemas de algunos subproductos es que pueden presentar concentraciones elevadas de carbohidratos solubles como azúcares reductores, los cuales podrían contrarrestar

sus posibles beneficios, como el caso del subproducto de durazno. Por lo tanto, es necesario implementar un proceso para concentrar la FD mediante la reducción de los carbohidratos solubles y además mantener o incrementar los fitoquímicos que tienen efecto benéfico en la salud como el control o prevención de la obesidad y sus complicaciones, la cual es una de las principales enfermedades en nuestro país. Asimismo, es importante mejorar la biodisponibilidad de los polifenoles. Por lo tanto, la aplicación de un tratamiento con agua/etanol para eliminar compuestos hidrofílicos puede ser una alternativa para disminuir estos carbohidratos solubles; sin embargo, debe considerarse que dichos tratamientos no utilicen condiciones drásticas que favorezcan la disminución de compuestos antioxidantes.

Se ha demostrado que el subproducto de durazno proveniente de la industria procesadora de jugos tiene efecto nutracéutico debido a que ayuda al control del peso corporal, glucosa en suero y triglicéridos en hígado; sin embargo, este efecto se podría potenciar al concentrar la FD y de esta manera transformarlos en productos de elevado valor agregado mediante tratamientos químicos y físicos.

4. Hipótesis

El tratamiento con agua y etanol del subproducto de durazno modifica la estructura de la fibra dietaria, mejorando sus propiedades fisicoquímicas y sus propiedades funcionales en el intestino, así como la biodisponibilidad de sus compuestos fitoquímicos. Esto mejora sus efectos antiobesogénicos mediante la disminución de absorción de nutrientes y regulando enzimas relacionadas con el metabolismo de lípidos y carbohidratos.

5. Objetivo general

Evaluar el efecto antiobesogénico del subproducto de durazno tratado con diferentes proporciones de agua y etanol y determinar la biodisponibilidad de sus compuestos fitoquímicos.

5.1. Objetivos específicos

1. Concentrar la fibra dietaria del subproducto de durazno mediante tratamientos con agua y etanol en diferentes proporciones y tiempo.
2. Cuantificar y evaluar el perfil de carbohidratos simples y de compuestos fitoquímicos de los subproductos tratados.
3. Determinar las propiedades fisicoquímicas de los subproductos tratados.
4. Evaluar el efecto de los subproductos en el control de obesidad y sus complicaciones como resistencia a la insulina y esteatosis hepática en un modelo animal, y determinar su mecanismo de acción.
5. Evaluar las propiedades fisicoquímicas de la digesta y la biodisponibilidad de los subproductos de durazno tratados.

6. Material y métodos

6.1. Material de estudio

La materia prima fue subproducto de durazno que se adquirió de la empresa mexicana procesadora de jugos Sociedad Cooperativa Trabajadores de Pascual, S.C.L., Planta San Juan del Río, Querétaro, México. El subproducto se

secó a una temperatura de 60 °C durante 24 h. La materia seca se trituró en un molino y se tamizó con una malla de tamaño de partícula \leq 400 micras.

6.2. Material biológico

Se utilizaron ratas macho Wistar provenientes del bioterio de la UNAM campus Juriquilla, Querétaro.

6.3. Métodos

6.3.1. Estrategia experimental

El subproducto de durazno se sometió a un tratamiento con agua y etanol en diferentes concentraciones para concentrar FD y compuestos fitoquímicos, además, después de los tratamientos, a los subproductos secos se les determinaron sus propiedades fisicoquímicas y biodisponibilidad de polifenoles. Posterior a esto, se evaluó el efecto sobre la obesidad y sus complicaciones del subproducto de durazno en un modelo de obesidad, se elucidó el mecanismo de acción de este subproducto; inhibición de la absorción de nutrientes, y expresión de genes relacionadas con lipogénesis y β -oxidación.

6.3.2. Concentración de fibra dietaria y compuestos fitoquímicos del subproducto de durazno

Para concentrar el contenido de fibra dietaria y compuestos fitoquímicos mediante la reducción del contenido de carbohidratos solubles totales y azúcares reductores, se realizó un tratamiento con agua/etanol (100:0, 80:20, 50:50, 20:80 y

0:100%) con dos relaciones de peso húmedo subproducto:volumen de agua/etanol (p/v) 1:5 y 1:10, a diferentes tiempos: 5, 10, 20, 30 y 40 minutos (Cuadro 4). Este proceso consistió en adicionar el solvente (agua/etanol) al subproducto con agitación constante a temperatura ambiente (21 °C), después se filtró, se secó en estufa a 60 °C por 24 h, posteriormente se pesó para obtener el rendimiento.

Cuadro 4. Proceso para concentrar fibra dietaria y compuestos fitoquímicos en el subproducto de durazno.

Proporción peso húmedo del subproducto (g):volumen (mL)	1:5 (p/v)					1:10 (p/v)				
	5	10	20	30	40	5	10	20	30	40
Solvente	100% H ₂ O					100% H ₂ O				
	H ₂ O:EtOH (80:20 v/v) (20% EtOH)					H ₂ O:EtOH (80:20 v/v) (20% EtOH)				
	H ₂ O:EtOH (50:50 v/v) (50% EtOH)					H ₂ O:EtOH (50:50 v/v) (50% EtOH)				
	H ₂ O:EtOH (20:80 v/v) (80% EtOH)					H ₂ O:EtOH (20:80 v/v) (80% EtOH)				
	100% EtOH					100% EtOH				

6.3.3. Caracterización química del subproducto de durazno tratado con agua y etanol

Una vez tratado el subproducto de durazno con agua/etanol y secado, se le realizó una caracterización química donde se determinó el contenido de carbohidratos solubles totales y azúcares reductores, fibra dietaria, compuestos fenólicos, carotenoides, taninos condensados y capacidad antioxidante.

6.3.3.1. Determinación de carbohidratos solubles totales

Los carbohidratos solubles (CS) se extrajeron con agua:etanol (20:80 v/v) (Gómez *et al.*, 2002). El contenido de CS se determinó por el método del fenol-sulfúrico (Masuko *et al.*, 2005). Los carbohidratos son sensibles a ácidos fuertes y producen monosacáridos en forma de hidroximetilfurfural o furfural los cuales fueron leídos a absorbancia de 490 nm, ya que la catálisis ácida produce derivados del furano productos de la condensación de compuestos fenólicos. Se mezclaron 50 μ L de la muestra con 30 μ L de fenol al 5% y 180 μ L de ácido sulfúrico concentrado, se agitó, se dejó reposar 30 min y se leyó a 490 nm. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de glucosa/g base seca.

6.3.3.2. Determinación de azúcares reductores

Los azúcares reductores (AR) se determinaron como lo describe Wood *et al.* (2012). El método del DNS (ácido dinitrosalicílico) consiste en una reacción de la muestra con el DNS y se mide la absorbancia visible de los productos (ácido 3-amino-5-nitrosalicílico) más un azúcar reductor, lo cual da como producto ácido 3-amino-nitrosalicílico y un azúcar oxidado.

Se mezclaron 9 μ L de la muestra y 171 μ L del reactivo DNS (1:20, muestra:reactivo DNS), se calentaron a 100 °C durante 5 min, se colocaron a baño con hielo 2 min, posteriormente se colocaron 150 μ L a una microplaca y se leyó a 580 longitud de onda. Los resultados se expresaron como mg equivalente de glucosa/g.

6.3.3.3. Identificación y cuantificación de carbohidratos por UPLC-ESIMS/MS

Para la extracción de carbohidratos, se homogenizaron 5 g de muestra seca con 20 mL de agua durante 5 min, se centrifugó a 15,000 x g por 20 min a 4 °C y se recuperó el sobrenadante. El perfil de carbohidratos se llevó a cabo por cromatografía líquida de ultra-eficacia (UPLC), acoplado a espectrómetro de masas con ionización por electrospray (ESI-MS/MS) usando el sistema Xevo-TQS (Waters Co, Milford, USA).

Se inyectaron 5 µL de muestra en una columna C8 Acquity BEH (1 x 100 mm, 1.7 µm) a 30 °C. El Sistema binario de solventes (flujo de 200 µL min⁻¹) consistió en solvente A (agua acidificada con ácido fórmico 75 mM) y solvente B (acetonitrilo). La condición inicial de gradiente fue de 5% B, y se mantuvo por 0.8 min e incrementó a 10% B de 0.8 a 1.2 min. Esta condición se mantuvo hasta 1.9 min, aumentó a 15% B de 1.9 a 2.4 y se mantuvo hasta 3.7 min, aumentando a 21% B de 3.7 a 4.0 min manteniéndose hasta 5.2 min, incrementó a 27% B de 5.2 a 5.7, aumentando nuevamente a 50% B de 5.7 a 8.0 min, y a 100% B de 8.0 a 9.0. Finalmente, las condiciones se regresaron a 5% B de 9.0 a 11.5 min y se mantuvo constante por 0.5 min. La temperatura de la del organizador de muestras fue a 20 °C (Modificado de Gruz *et al.*, 2008).

Las condiciones del espectrofotómetro fueron a una temperatura de 150 °C, y se usó nitrógeno como gas de solvatación (800 L h⁻¹) a 500 °C. Los voltajes cono y del capilar fueron de 50 V y 1.5 kV, respectivamente. Para la identificación de compuestos se usó un monitoreo programado de múltiples reacciones (MRM) en modo negativo (ES⁻).

Se usaron sacarosa, glucosa, fructosa and kestosa como estándares. Los resultados se expresaron como mg/g peso seco.

6.3.3.4. Determinación de fibra dietaria

La fibra dietaria se determinó por el método de la AOAC (1999). Se usaron dos porciones duplicadas de muestra seca. Se pesó 0.5 g de muestra y se realizó la primera incubación con α -amilasa termoestable (A-3306, Sigma Chemical Co.), a 100 °C y pH 6, durante 15 min; posteriormente se hidrolizó enzimáticamente con proteasa (P-5380, Sigma Chemical Co.) a 60 °C y pH 7.5 durante 30 min. En seguida, la muestra se incubó con amiloglucosidasa (A-9268, Sigma Chemical Co.) a 60 °C y pH 4.5 durante 30 min. Se filtró para separar la fibra soluble de la fibra insoluble. A la porción líquida donde se encuentra la fibra soluble se agregó cuatro volúmenes de etanol 99%, con el objetivo de precipitar la fibra soluble, posteriormente se dejaron las muestras reposando toda la noche. Las muestras se filtraron y se realizaron lavados en el residuo con etanol 78%, etanol 95% y acetona. Se dejaron secar a 100 °C y se registró el peso. Y se determinó el porcentaje de fibra soluble e insoluble y la suma de ambas como fibra dietaria total.

6.3.3.5. Determinación de compuestos fenólicos

Se utilizó el método de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton *et al.* (1999). Dicha técnica cuantifica la concentración total de grupos hidroxilos fenólicos presentes en la muestra que se está analizando. Este método se basa en una reacción de óxido-reducción obteniendo una coloración azul. Se tomó una alícuota del extracto (50:50, v/v; pH 2) y acetona y agua (70:30, v/v) del subproducto de

durazno, se adicionó el reactivo de Folin-Ciocalteu 1 N, se agregó Na_2CO_3 al 20%, se agitó y se dejó reposar 30 min en la oscuridad. Transcurrido este tiempo se midió la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 760 nm y los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico por g de materia seca (Singleton *et al.*, 1999).

6.3.3.6. Determinación de taninos condensados

La cuantificación de proantocianidinas no extraíbles se realizó mediante la hidrólisis ácida con n-butanol del residuo de la extracción descrito en la técnica anterior (5.3.8). Esta técnica se fundamenta en la liberación a partir de calor y un alcohol de las antocianidinas estables al calor a partir de los taninos condensados del subproducto, estas antocianidinas son pigmentos que generan un compuesto coloreado que se puede medir a una longitud de onda de 555 y 450 nm.

Las proantocianidinas presentes en el residuo se hidrolizaron a 100 °C por una hora con n-butanol/HCL (95:5, v/v) que contiene 0.7 g de FeCl_3/L . Posteriormente, se dejó enfriar el tubo y la solución se transfirió a un matraz aforado ajustando el volumen a 50 mL, con el reactivo n-butanol/HCl antes preparado. La absorbancia se leyó a una longitud de onda de 555 y 450 nm. La concentración de proantocianidinas (mg/g) se calculó con la suma de absorbancias extrapoladas en una curva de concentración de proantocianidinas (0-100 mg proantocianidinas/l). Los resultados se expresan en mg equivalente de proantocianidinas (Zurita *et al.*, 2012).

6.3.3.7. Cuantificación espectrofotométrica de carotenoides

Para el procedimiento de extracción se usó la metodología propuesta por Olives *et al.* (2006) con algunas modificaciones. La extracción se llevó a cabo bajo condiciones de oscuridad. Se pesaron 0.5 g de muestra seca 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 obtuvo la fase orgánica (superior) y se guardó protegida de la luz. El procedimiento se repitió una vez más. Las fases orgánicas se mezclaron y se leyó la absorbancia a 446 nm. La concentración de β carotenoides se calculó empleando la ley Lambert-Beer:

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

Dónde:

Abs= Absorbancia a 446 nm

PM= Peso molecular (536.8726 g/mol)

ϵ = Coeficiente de extinción molar para β caroteno (24686 M⁻¹*cm⁻¹)

Distancia= 1 cm

6.3.3.8. Capacidad antioxidante por el método de DPPH (TEAC)

Se llevó a cabo una extracción con metanol/agua (50:50, pH: 2) acidificada con HCl concentrado seguida de una extracción con acetona/agua (70:30). Se mezclaron ambos extractos para realizar la capacidad antioxidante.

Se cuantificó la capacidad de los extractos para estabilizar el radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). El DPPH se caracterizó como un radical libre en virtud de la deslocalización de un par de electrones. Cuando una solución de DPPH se mezcla con una sustancia que puede donar un átomo de hidrógeno, da lugar a la forma reducida, perdiendo de esta manera su color violeta característico.

Se adicionaron los extractos de los subproductos (0-0.05 mL) y se añadió 1 mL de una solución 0.1 mM de DPPH en metanol, se mezcló y se incubó durante 30 min a temperatura ambiente y protegido de la luz, posteriormente se leyó la absorbancia de la mezcla a 517 nm. Los resultados se reportaron como el porcentaje de inhibición (Molyneux, 2004).

6.3.4. Propiedades fisicoquímicas

Después del tratamiento con agua y etanol del sub-productos de durazno, también se evaluaron propiedades fisicoquímicas como la capacidad de retención de agua y aceite (CRA, CRAc), densidad aparente (DA) e índice de retardamiento de glucosa.

6.3.4.1. Capacidad de absorción de agua y aceite

La capacidad de absorción de agua y aceite se realizó por el método de Robertson (2000). De forma breve, a 1 g de muestra se le adicionó 10 mL de agua/aceite en un tubo falcón a peso constante, se dejó reposar 16 h, se centrifugó a 3500 rpm 20 min, se decantó y se pesó el tubo.

Capacidad de absorción de agua/aceite= (peso de tubo+sedimento)- (peso constante del tubo + 1 g de muestra).

6.3.4.2. Densidad aparente

La determinación de la densidad aparente se hizo por el método descrito por Chau y Huang (2003). El subproducto seco se adicionó a una probeta graduada hasta la marca de 10 mL, después se pesó la muestra, la densidad aparente fue estimada como peso/volumen (g/mL).

6.3.4.3. Índice de retardamiento de glucosa

Este ensayo se hizo de acuerdo al método de Ou *et al.* (2001) con algunas modificaciones. Un sistema de diálisis compuesto por 0.125 g de sub-producto de durazno y 12.5 mL de solución de glucosa (100 mmol) fue dializada en una bolsa de diálisis (peso molecular 14,000 Da, Sigma-Aldrich, USA) contra 100 mL de agua destilada a 37 °C en un baño de agua con temperatura controlada. Se tomaron alícuotas de dializado a los 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 y 240 min, y se midió la concentración de glucosa a cada determinados min usando kit de glucosa (Sigma-Aldrich, USA). Se usó una solución sin sub-producto de durazno como control.

La difusión máxima de glucosa (V_{max}) se calculó de la siguiente manera. Los datos experimentales se evaluaron en una función parabólica: $Y = ax^2+bx+c$. Donde Y = contenido de glucosa (μmol); x = tiempo (min); a , b , y c = coeficientes. La ecuación usada para calcular el índice de difusión (Y') a cualquier tiempo es $Y' = 2ax+b$. Donde $x = 0$, $Y' = V_{max} = b$.

6.3.4.4. Determinación de viscosidad

La viscosidad de los subproductos después del tratamiento y en polvo, la muestra se mezcló con agua. Se midió en un reómetro rotacional AR-G2 TA Instruments por el método de platos paralelos con los siguientes parámetros: diámetro 40 mm, gap 500 μm , 10 puntos por década, temperatura de 37 °C. Se realizaron dos corridas de flujo, la primera con una velocidad de cizallamiento inicial de 0.011/s y final de 100 1/s, y la segunda con una velocidad de cizallamiento inicial de 100 1/s y final de 0.01 1/s.

6.3.5. Análisis estructurales y morfológicos

Para el análisis estructural y morfológico del subproducto de durazno seco se utilizó un microscopio electrónico de transmisión (TEM, JEOL JEM-2010, USA) a 200 kV. Las muestras se prepararon por dispersión en un mesh Cu-grids-400 con capa de carbón formvar.

La morfología se observó en un microscopio electrónico de barrido (SEM, JEOL JSM 6060 LV, USA). Las muestras del subproducto de durazno en polvo fueron preparadas como lo reporta Rincón-Londoño *et al.*, (2016). Las muestras secas se pusieron en un porta muestras de cobre con cinta adhesiva de doble cara y recubiertas con una capa delgada las cuales fueron recubiertas con oro. El voltaje de aceleración fue de 20 kV y magnificaciones a 500 x.

6.3.6. Evaluación del subproducto de durazno en obesidad y esteatosis hepática

Para evaluar el efecto del subproducto de durazno en obesidad y esteatosis hepática se trabajó con 32 ratas macho Wistar (260 ± 20 g). El protocolo para el experimento con animales fue aprobado por el comité de Bioética de la Universidad Autónoma de Querétaro (Querétaro, MEX) (Anexo1). Después de una semana de aclimatación, los animales se dividieron en 4 grupos, 8 animales por grupo. Los animales se mantuvieron a 25 °C con un ciclo de luz-oscuridad de 12:12-h con acceso de alimento y comida *ad libitum* por 18 semanas.

El grupo control sano se alimentó con una dieta comercial estándar Rodent Lab chow de Purina 5001; proteína 24%, lípidos 5% [grasa saturada 1%] y carbohidratos 54% [fructosa 0.3%]), mientras que el grupo del control obeso se alimentó con una dieta alta en grasa y fructosa (DGF) (que contenía dieta estándar, adicionada con 20% de manteca y 18 % de fructosa; 15.5 % de proteínas, 23.9 % de lípidos [grasa saturada 20%] y 47.4% de carbohidratos [18% fructosa]). Los grupos tratados se alimentaron con la DGF y suplementada con 4.7% de FD de subproducto de durazno sin tratamiento y 4%de FD de durazno tratado con 100% H₂O por 5 min basado en la ingesta diaria recomendada de FD (FAO, 2007) para una dieta de 2000 kcal (Figuras 6 y 7).

El peso corporal se monitoreó cada semana durante el experimento. Después de 18 semanas y antes del sacrificio, los animales se colocaron en jaulas metabólicas para la colección de heces.

Posteriormente, las ratas se anestesiaron con éter etílico y se les cortó la vena yugular, se colectó la sangre por punción cardiaca, se obtuvo el suero por centrifugación a 3000 rpm por 10 min y se almacenaron a -70 °C hasta el momento de su análisis. El hígado se congeló con N₂ líquido y se almacenó a -70 °C. Para los análisis histológicos, una fracción de hígado se almacenó en 10% de formalina (pH 7.4).

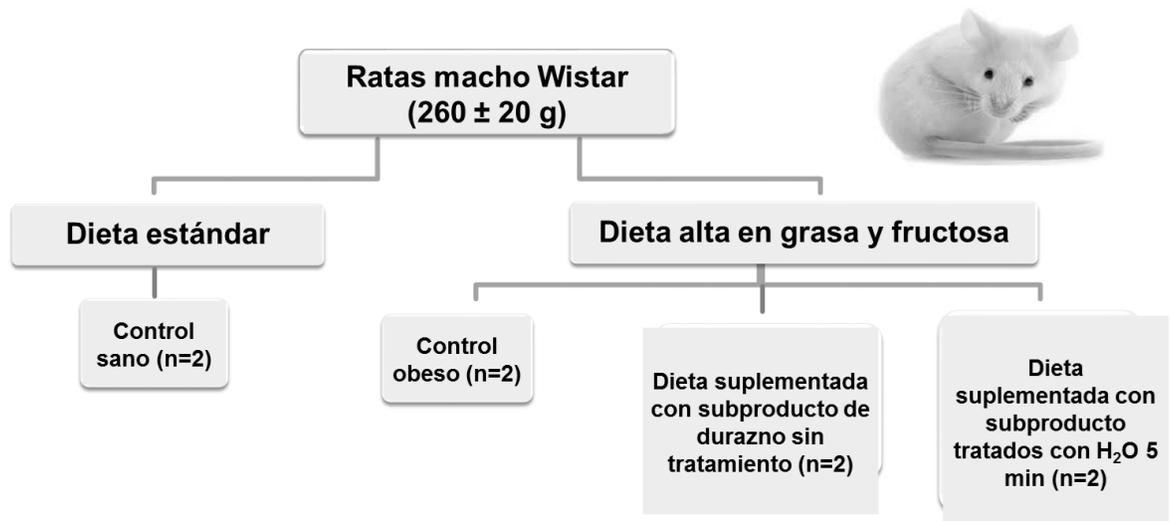


Figura 6. Grupos de experimentación para la evaluación del subproducto de durazno en obesidad y esteatosis hepática

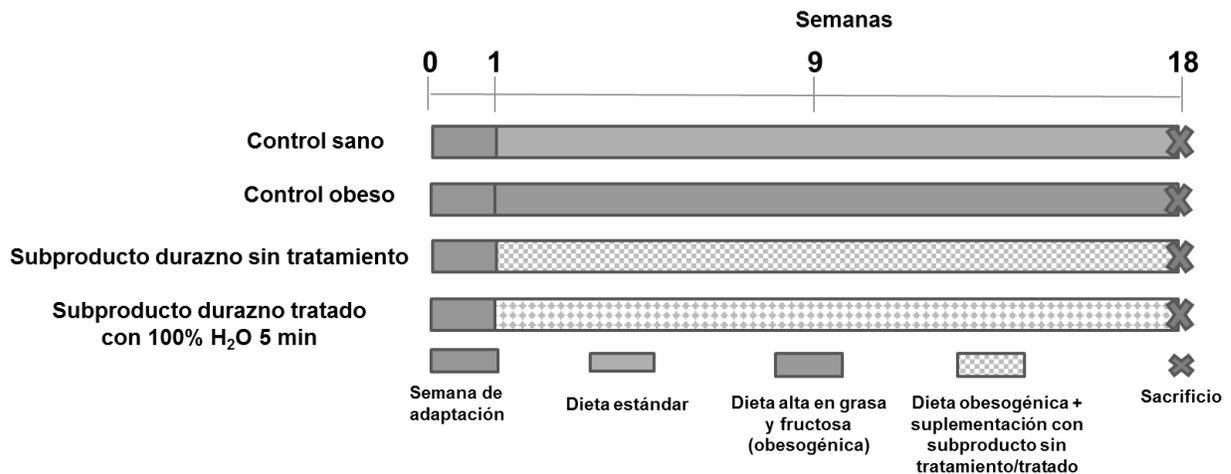


Figura 7. Estudio *In vivo* para la evaluación del subproducto de durazno en obesidad y esteatosis hepática.

6.3.6.1. Digestibilidad de la dieta

El consumo de energía de las dietas se determinó usando un calorímetro (IKA c2000, IKA Wilmington, USA) (Cal/g en base seca). La pérdida de energía (energía de las muestras de heces) (Cal/g en base seca) se midió para obtener la energía digerida, el cual se definió como la relación entre el consumo de energía de la dieta y la energía perdida.

6.3.6.2. Contenido de triglicéridos en heces

Los TAG de heces se extrajeron de acuerdo al método reportado por Yetukuri *et al.* (2007) con algunas modificaciones. Primeramente, 100 mg de heces secas se mezclaron con 100 μ L de 0.15 M de cloruro de sodio y 400 μ L de cloroformo:metanol (2:1 v/v). Después, las muestras se incubaron a -20 °C por 2 h y centrifugaron a 11,200 xg por 5 min a 4 °C. Los sobrenadantes se recolectaron y el solvente se evaporó. Los TAG se cuantificaron usando el kit enzimático TAG GPO-POD

(Spinreact, S.A./S.A.U. Santa Coloma, España). Los resultados se expresaron como mg/g de heces en base seca.

6.3.6.3. Análisis bioquímicos

Los niveles de glucosa y TAG se determinaron usando kits colorimétricos (Spinreact, S.A./S.A.U. Santa Coloma, SP). Los niveles de insulina se cuantificaron usando un kit de ELISA (Millipore, MA, USA).

6.3.6.4. Estimación de la resistencia a la insulina

La resistencia a la insulina se estimó usando el índice HOMA:

Índice HOMA \acute{I} =[insulina en suero (mU/L)× glucosa en suero (mmol/L)]/22.5

Mientras que, el índice de TAG y glucosa (TyG) se estimó de acuerdo a Simental-Mendía *et al.* (2008) usando la siguiente ecuación:

Índice TyG=Ln[triglicéridos en ayuno (mg/dL) x glucosa en ayuno (mg/dL)]/2

6.3.6.5. Análisis histológico del hígado

Los tejidos de hígado se mezclaron con 10% de formalina solución amortiguadora-neutra, posteriormente, se embebieron en parafina y se seccionaron con micrótomos a 5 μ m. Las muestras se tiñeron con Harris hematoxilina y eosina (H&E) y se tomaron fotos a 100X, se analizaron 5 imágenes por animal (Luna, 1968).

6.3.6.6. Contenido de triglicéridos hepáticos

El contenido de TAG hepáticos se determinó de acuerdo al método de Norris *et al.* (2003). 50 g de muestras de hígado se incubaron con 350 μ L de hidróxido de sodio al 30% en etanol a 55 °C durante toda la noche. Después, se adicionó 1 mL de agua:etanol 1:1 (v/v) y la mezcla se centrifugó a 10,000 x g por 5 min. Los sobrenadantes se colectaron y se lavaron con 1 mL de agua:etanol 1:1 (v/v). Una alícuota (200 μ L) de este extracto se mezcló con 1 mL de agua:etanol 1:1 (v/v) y 215 μ L de cloruro de magnesio 1 M. La mezcla se incubó por 10 min en hielo y se centrifugó a 10,000 x g por 5 min. El sobrenadante se colectó para la cuantificación de TAG en hígado usando el kit enzimático para TAG GPO-POD (Spinreact, S.A./S.A.U. Santa Coloma, España).

La proteína del hígado se extrajo a partir de 500 mg de muestra mezclada con 1 mL de solución amortiguadora de lisis (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, 0.1 mM PMSF). La mezcla se centrifugó a 10,000 x g a 4 °C y se recuperó el sobrenadante. La proteína se midió como lo reporta Bradford (1976). Los resultados se expresaron como mg/mg proteína.

6.3.6.7. Contenido de glucógeno hepático

El contenido de glucógeno hepático se determinó como lo reporta Jung *et al.* (2012). Los tejidos de hígado se homogenizaron con 5 volúmenes de una solución de KOH al 30% (p/v) y disueltos a 100 °C por 30 min. El contenido de glucógeno se determinó por tratamiento con antrona (2 g de antrona/1 L de H₂SO₄ al 95% (v/v) y

se midió la absorbancia a 620 nm. Los resultados se expresaron como mg/g de hígado.

6.3.6.8. Actividad de PEPCK hepática

Muestras de 50 mg de hígado se homogenizaron en 450 μ L de una solución que contenía sacarosa 0.25 M y tris-HCl (pH 7.4). Las muestras se centrifugaron a 14,500 x g por 10 min y los sobrenadantes se recuperaron. Después, los sobrenadantes (10 μ L) se mezclaron con 500 μ L de una solución que contenía Tris-HCl 50 mM (pH 7.4), $MgCl_2$ 1 mM, NADH, 0.1 mM, malato deshidrogenasa 2 U, fosfoenolpiruvato 0.5 mM y deoxiguanosina 5'- difosfato 0.2 mM. Las absorbancias se monitorearon a 340 nm por 5 min a 37 °C. Después, se agregó $NaHCO_3$ 20 mM a cada muestra y la reacción se monitoreó cada minuto durante 30 min (Ramírez *et al.*, 2014). Los resultados se expresaron como nmol/min/mg de proteína.

6.3.6.9. Extracción de RNA y cuantificación relativa de transcritos de genes

El RNA se extrajo de tejido de hígado usando un kit comercial (PureLink® RNA Mini kit, Thermo Fisher Scientific, Delaware, USA) de acuerdo a las instrucciones del manual. El RNA se cuantificó a 260 nm y su pureza se midió mediante la relación de longitudes de onda de 260/280 usando un espectrofotómetro NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, Delaware, USA). La integridad del RNA se confirmó por una electroforesis en un gel de agarosa 1%.

El RNA total fue transcrito de forma reversa en la primera cadena de cDNA. Las muestras se analizaron en un sistema de PCR en tiempo real StepOne (Applied Biosystems, CA, USA) (Pérez-Ramírez *et al.*, en prensa). Se utilizaron los siguientes

primers para la amplificación de cDNA: Srebp1-Fw: GTTAACGTGGGTCTCCTCC6,
Srebp1-Rv: GCCTGTGTCTCCTGTCTCAC, Fasn-Fw:
CACCAGAGATGCTCCGATCC, Fasn-Rv: GGCCTCCACTGACTCTTGAC, Cpt1-
Fw: CCATCCACGCCATACTGCT, Cpt1-Rv: AGCCAGACCTTGAAGTACCG;
Acadm-Fw: TACTGCGTGACAGAACCC, Acadm-Rv: TTTTCCGATGTGTATTCCC.
La abundancia relativa de mRNA se calculó por normalización de los datos con Ppia
y Tbp (los mejores candidatos a genes internos sugeridos por el NormFinder) de
acuerdo al método $2^{-\Delta\Delta CT}$ (Livak & Schmittgen, 2001).

6.3.7. Experimentos *in vivo* para evaluar las propiedades fisicoquímicas de la digesta y biodisponibilidad de fenoles

Se trabajó con 20 ratas macho Wistar (240 ± 20 g) que se adquirieron de la UNAM (Querétaro, Méx). Los animales se mantuvieron a 25°C con un ciclo de luz-oscuridad de 12:12-h con acceso de alimento y comida *ad libitum* con una dieta estándar (Rodent Lab chow de Purina 5001; 24% proteínas, 5% lípidos [1% de grasa saturada] y 54% de carbohidratos [0.3% fructosa]) y agua. Los experimentos en animales se llevaron a cabo de acuerdo a los lineamientos de cuidado y uso de animales de la Universidad.

Para evaluar la biodisponibilidad de compuestos fenólicos y propiedades fisicoquímicas de la digesta se trabajó con 20 animales (240 ± 20 g) los cuales se dividieron en cuatro grupos (de 5 ratas cada uno). El protocolo para el experimento con animales fue aprobado por el comité de Bioética de la Universidad Autónoma de Querétaro (Querétaro, MEX) (Anexo 1). El grupo control se alimentó con la dieta estándar, mientras que los grupos tratados se alimentaron con dieta estándar pero

suplementados con 8% de subproducto de durazno sin tratamiento, 8% de subproducto tratado con 100% H₂O por 5 min y otro con 8% de subproducto tratado con 20% EtOH por 5 min (Figura 8).

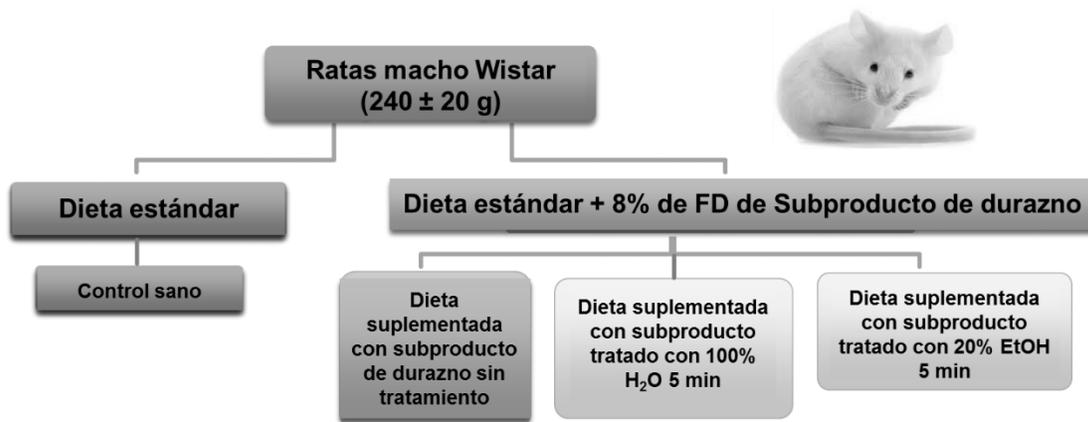


Figura 8. Evaluación *in vivo* del subproducto de durazno en las propiedades fisicoquímicas de la digesta y biodisponibilidad de compuestos fenólicos.

Se monitoreo el consumo de alimento diariamente. Se colectó la orina de los animales después de dos días y se sacrificaron los animales, se anestesiaron con éter etílico y se les cortó la vena yugular. Se colectó el tracto digestivo y se pesó. El peso total del digesta se calculó como el peso total del tejido con contenido menos el peso del tejido vacío.

6.3.7.1. Propiedades fisicoquímicas de la digesta

Una muestra (2 g) de la digesta del estómago y otra del intestino delgado se centrifugaron a 10,000 x g por 20 min a 4 °C. Después se midió la viscosidad del sobrenadante en un reómetro modular compacto cono/plato (Anton Parr, USA) a 38 °C con una velocidad de corte de 2.25 a 450 s⁻¹. La capacidad de retención de

agua se midió en el residuo y los resultados se reportaron como g/g (Zurita *et al.*, 2012).

6.3.7.2. Biodisponibilidad de compuestos fenólicos

Los polifenoles de orina se extrajeron usando cartuchos Supel Select HLB (20 mg mL⁻¹) (Roura *et al.*, 2006) y se analizaron por UPLC acoplado a un espectrómetro de masas con un cuádruplo de movilidad iónica de tiempo de vuelo (qTOF MS) con una interface de electrospray (Vion, Waters Co, Milford, USA). Muestras (5 µL) se inyectaron en un UPLC-BEH C18 (2.1 x 100 mm, 1.7 µm) a 35 °C. Las condiciones del gradiente inicial fueron de 95% B (agua con 0.1% de ácido fórmico) y 5% B (acetonitrilo conteniendo 0.1% de ácido fórmico), y se mantuvo por 2 min, y aumentó a 95% B de 2 a 22 min y se mantuvo hasta por 3 min (0.4 mL/min).

La adquisición de los datos se llevó a cabo usando un High Definition MS^E en un modo de ionización negativo con una masa de rango de 50-1800 Da. Las condiciones del espectro de masas fueron las siguientes: fuente de temperatura, 120 °C; el gas de solvatación (N₂), 800 L/h a 450 °C; el gas del cono (N₂), 50 L/h; el voltaje del cono de 40 V; el voltaje del capilar, 3.5 kV; baja energía de colisión, 5 eV; alta energía de colisión, 15-45 eV. Se usó Leucina-encefalina (50 pg/mL) como masa de bloqueo a 10 µL/min. Picos idénticos se establecieron para analizar sus masas exactas (confirmación de la composición elemental con <5 ppm de error de masa), fragmento padre y distribución isotópica de los iones moleculares.

6.3.8. Análisis estadístico

Los datos se expresaron como la media \pm error estándar (ES). Se analizaron por un análisis de varianza (ANOVA) a un nivel de confianza de 95%. Las diferencias entre dos muestras se determinaron por comparación de medias usando el test Student's t y las diferencias entre más de dos muestras se determinó usando la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$). Los datos se analizaron con el paquete estadístico JMP versión 8 (SAS, España).

7. Resultados y discusión

7.1. Rendimiento del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua y etanol

Para concentrar el contenido de FD y reducir el contenido de carbohidratos solubles se emplearon diferentes tratamientos con agua y etanol, ya que se ha reportado que la sacarosa, la cual es el carbohidrato más abundante en el durazno, tiene una alta solubilidad en soluciones de agua-etanol (Silin, 1967).

Al utilizar diferentes proporciones de agua y etanol, así como diferentes tiempos, la cantidad de producto que se recupera (en gramos) después del tratamiento, es decir, el rendimiento del subproducto es dependiente del solvente (Figura 9, 10 y 11). El menor rendimiento se obtuvo en el subproducto de durazno tratado con 100% H₂O y éste aumentó en función del porcentaje de etanol (EtOH), tanto en los tratados en relación 1:5 como 1:10 (w/v: peso húmedo subproducto:volumen), siendo el rendimiento más alto en el subproducto tratado con 100% EtOH. Lo anterior sugiere que con el tratamiento con 100% H₂O se puede estar eliminando más cantidad de compuestos que con 100% EtOH, entre estos compuestos podrían

estar los carbohidratos solubles, azúcares reductores, FDS, y algunos compuestos fitoquímicos, esto se debe a su solubilidad en agua (Escalada *et al.*, 2012; Simas-Tosin *et al.*, 2012).

En cuanto al rendimiento respecto al tiempo de tratamiento, se observó una mayor concentración a los 5 min, y un rendimiento menor en el subproducto con los tratamientos a los 20, 30 y 40 min en ambas relaciones y este efecto fue mayor para los tratamientos con 100% etanol (1:5 y 1:10. p/v) (Figuras 9, 10 y 11). Estos resultados indican que a partir de los 20 min existe una mayor eliminación de compuestos de dicho subproducto. En base con los resultados se eligieron los tratamientos de 20 min para cada relación de subproducto (peso húmedo): solvente (1:5 y 1:10, w/v) y se comparó el rendimiento. Se observó que existe mayor eliminación de compuestos con la relación 1:10, principalmente cuando se utilizó 100% H₂O; sin embargo, esto no es recomendable, ya que sólo se conserva un 30% del subproducto. De acuerdo a estos resultados se decidió continuar trabajando con la relación más conveniente para la eliminación de compuestos (1:5, p/v), debido al uso de menor cantidad la mezcla etanol-agua.

Además, se decidió continuar trabajando con los tratamientos a 5 y 20 min, ya que a los 5 min se observó una eliminación importante de compuestos y a partir de los 20 min se presentaron los cambios mayores en el rendimiento.

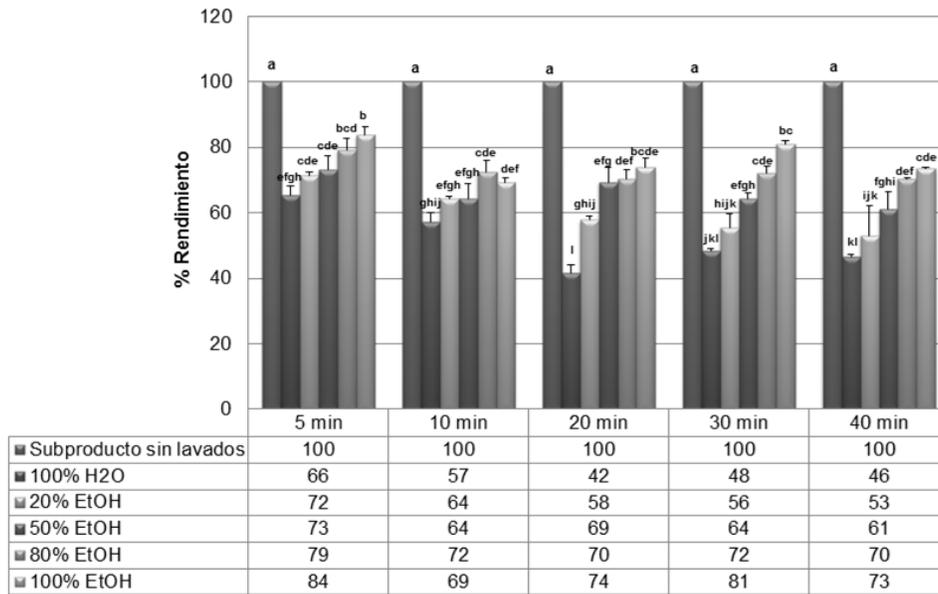


Figura 9. Rendimiento del subproducto de durazno tratado con agua y etanol en una relación 1:5 (p/v). Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$) con la prueba de Tuckey-Kramer.

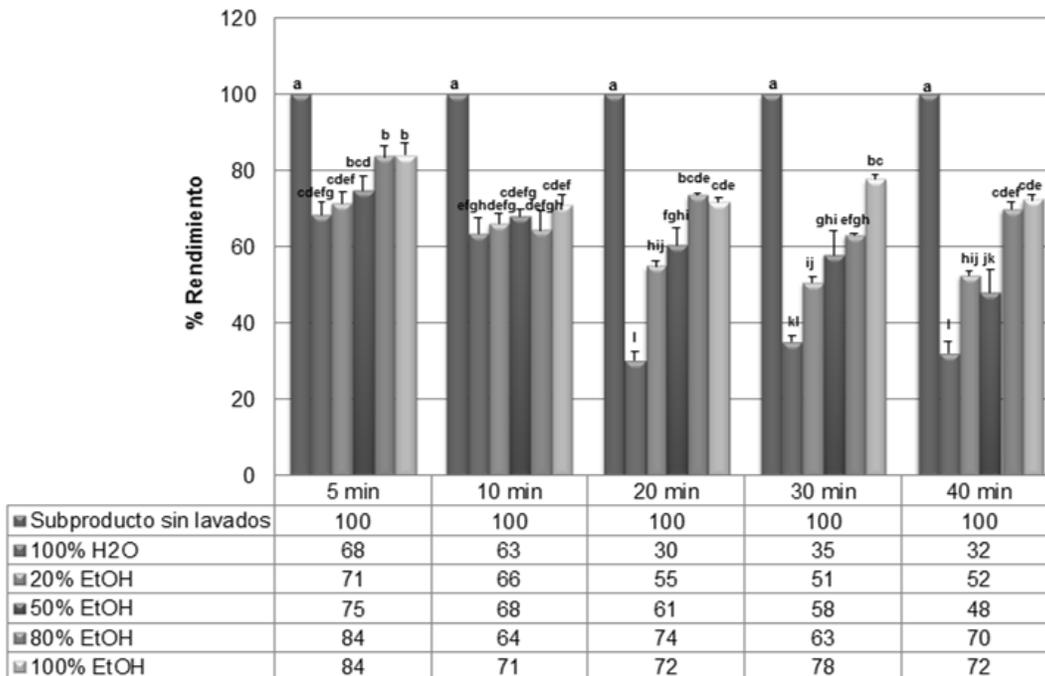


Figura 10. Rendimiento del subproducto de durazno tratado con agua y etanol en una relación 1:10 (p/v). Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$) con la prueba de Tuckey-Kramer.

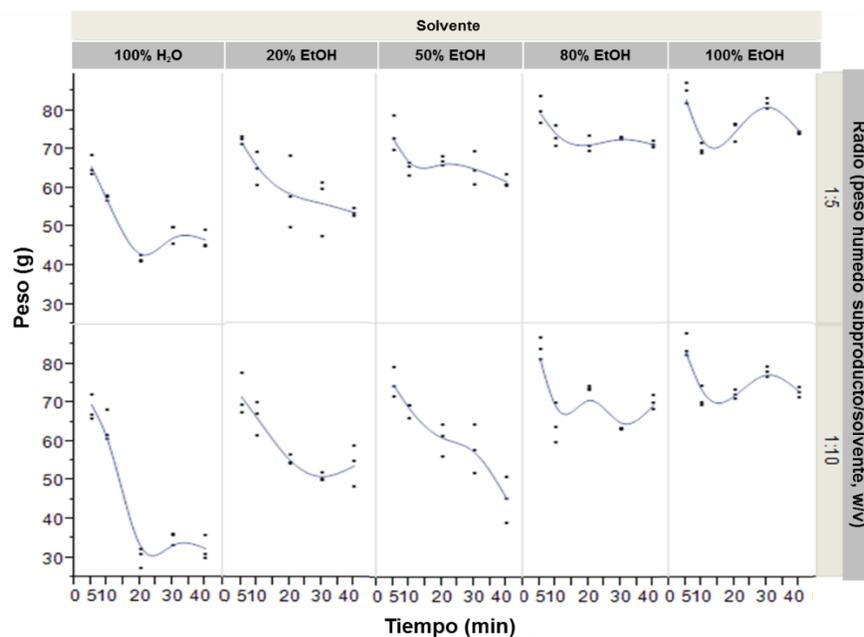


Figura 11. Peso del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con H₂O y EtOH en relación 1:5 y 1:10 (p/v).

7.2. Carbohidratos solubles totales de sub-producto de durazno tratado con agua y etanol en una relación 1:5 (w/v) durante 5 y 20 minutos

Se cuantificó el contenido de carbohidratos solubles totales en las muestras. Se encontró que el subproducto de durazno sin tratamiento presentó 557 mg equivalentes de glucosa/g (Figura 12), y este contenido disminuyó con el tratamiento con 100% H₂O, sub-producto tratado con 100% EtOH presentó la mayor concentración de estos compuestos (529 mg equivalentes de glucosa/g). Para las muestras tratadas durante 20 min hubo una pérdida significativa de carbohidratos solubles hasta en un 100%.

La mayor eliminación con el tratamiento con 100% H₂O se debe a la solubilidad de los carbohidratos, la cual disminuye con el etanol; debido a su polaridad, se ha

reportado que la sacarosa es insoluble en etanol absoluto (Silin, 1967; Escalada *et al.*, 2012; Simas-Tosin *et al.*, 2012; Hara *et al.*, 2013). Se presentó una menor concentración de carbohidratos en los subproductos tratados durante 20 min en comparación a los subproductos tratados durante 5 min, esto debido a que transcurrió más tiempo para que los carbohidratos pudieran disolverse y entonces eliminarse en el disolvente (Figura 12). Sin embargo, el contenido de carbohidratos solubles obtenido de los subproductos tratados a los 5 min es ligeramente mayor al reportado por Escalada *et al.*, (2012), quienes encontraron 350 mg/g en la pulpa y 310 mg/g en la piel de residuo insoluble en etanol (fibra dietaria) y es menor en el sub-producto tratado a los 20 min. Por lo tanto, el tratamiento con 100% H₂O es el más eficiente para disminuir el contenido de carbohidratos solubles.

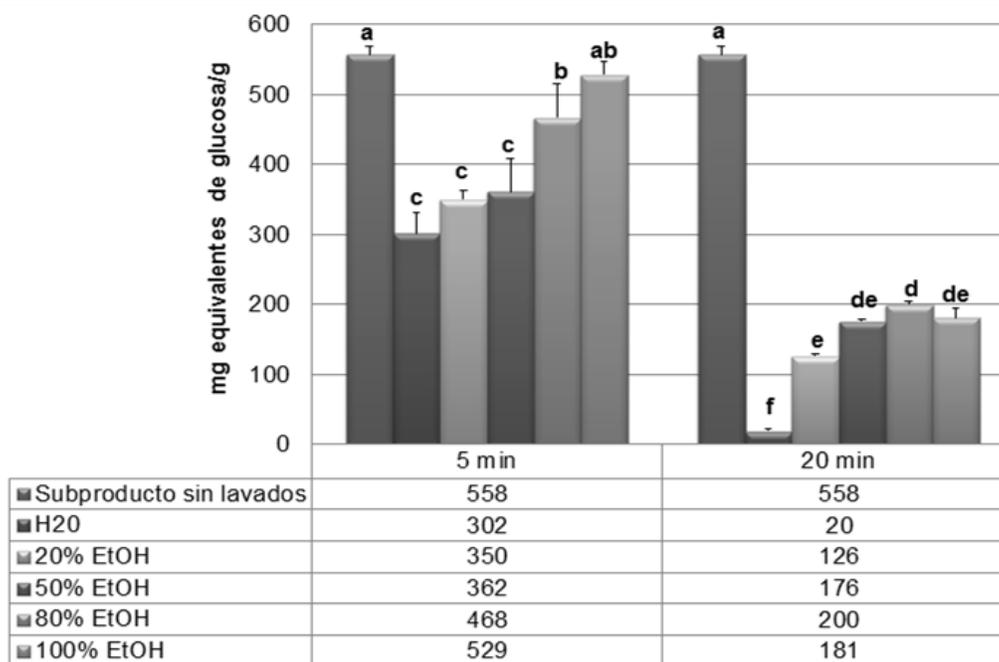


Figura 12. Concentración de carbohidratos solubles totales de subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua y etanol en una relación 1:5 (p/v) durante 5 y 20 min. Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$) con la prueba de Tuckey-Kramer.

7.3. Azúcares reductores del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua y etanol en una relación 1:5 (w/v) durante 5 y 20 minutos

Los azúcares reductores forman parte de los carbohidratos solubles totales y, en el caso de durazno, éste contiene principalmente glucosa y fructosa, y pequeñas cantidades de sorbitol (Alcobendas *et al.*, 2013).

Estos azúcares se cuantificaron en el subproducto sin tratamiento, la concentración fue de 22.4 mg equivalentes de glucosa/g y corresponde al 2.24% (Figura 13). Este resultado es similar a lo reportado por Noratto *et al.* (2014) para el jugo de durazno (2.3% de azúcares reductores); por lo tanto, la cantidad encontrada en el subproducto es alta y se requiere disminuir. La concentración en el subproducto sin tratamiento fue mayor a la encontrada en el subproducto tratado con agua y etanol. Por otra parte, se observó una mayor disminución de estos compuestos en el subproducto tratado con 100% H₂O, que con etanol, y se encontraron altas cantidades en el subproducto tratado con altos porcentajes de etanol (Figura 13).

Además, también se presentó menor concentración de estos compuestos en los subproductos tratados con agua/etanol durante 20 min en comparación a los tratados durante 5 min. Estos resultados sugieren que el tratamiento con 100% H₂O durante 20 min reduce de manera importante la cantidad de azúcares reductores (más del 70% de estos compuestos), obteniendo una concentración de 2.8 mg equivalentes de glucosa/g (0.28%), seguido de los que fueron tratados con 20% EtOH durante 20 min con una concentración de 8.8 mg equivalentes de glucosa/g

(0.88%), para 70, 80 y 100% EtOH no se presentaron diferencia estadísticas significativas respecto al tiempo de tratamiento (Figura 13).

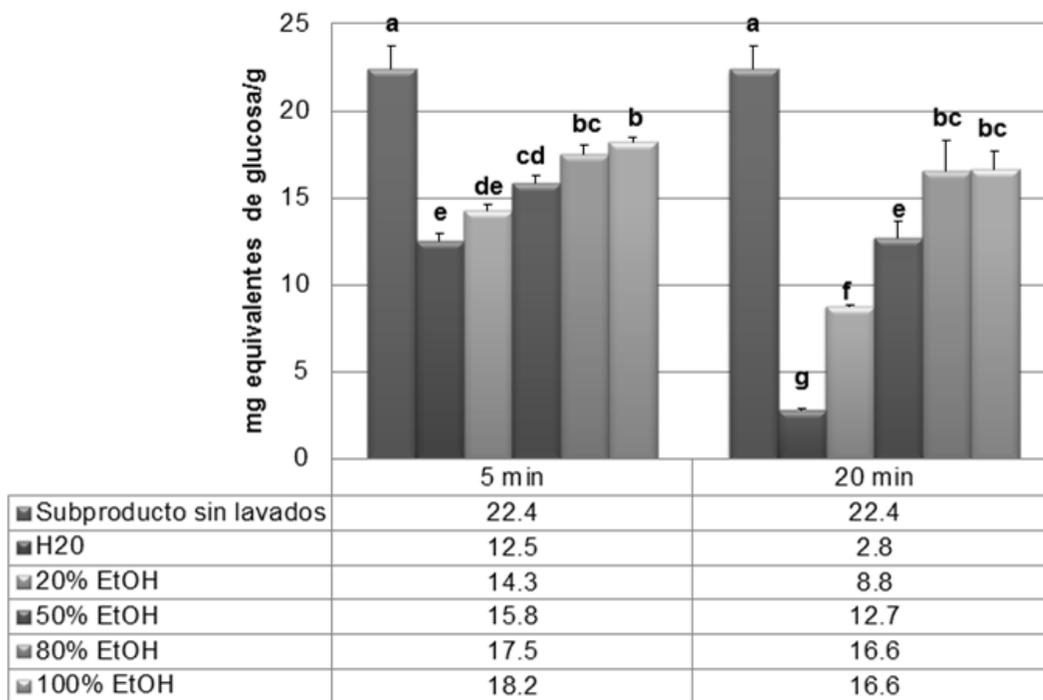


Figura 13. Concentración de azúcares reductores del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua y etanol en una relación 1:5 (w/v) durante 5 y 20 min. Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$) con la prueba de Tuckey-Kramer.

7.4. Perfil de carbohidratos del subproducto de durazno

Se identificó fructosa, glucosa, sacarosa y kestosa en el subproducto de durazno (Figura 14). Todos los tratamientos eliminaron las sacarosa en el subproducto de durazno tratado, esto debido a su alta solubilidad en agua y etanol (Saura-Calixto, 2013). La concentración de glucosa y fructosa se redujo significativamente con todos los tratamientos, principalmente con 100% H₂O y 20% EtOH por 5 min (4.5 y 10.6 veces, respectivamente). La kestosa, considerada FDS,

se concentró con todos los tratamientos, principalmente con 100% EtOH (1.9 veces).

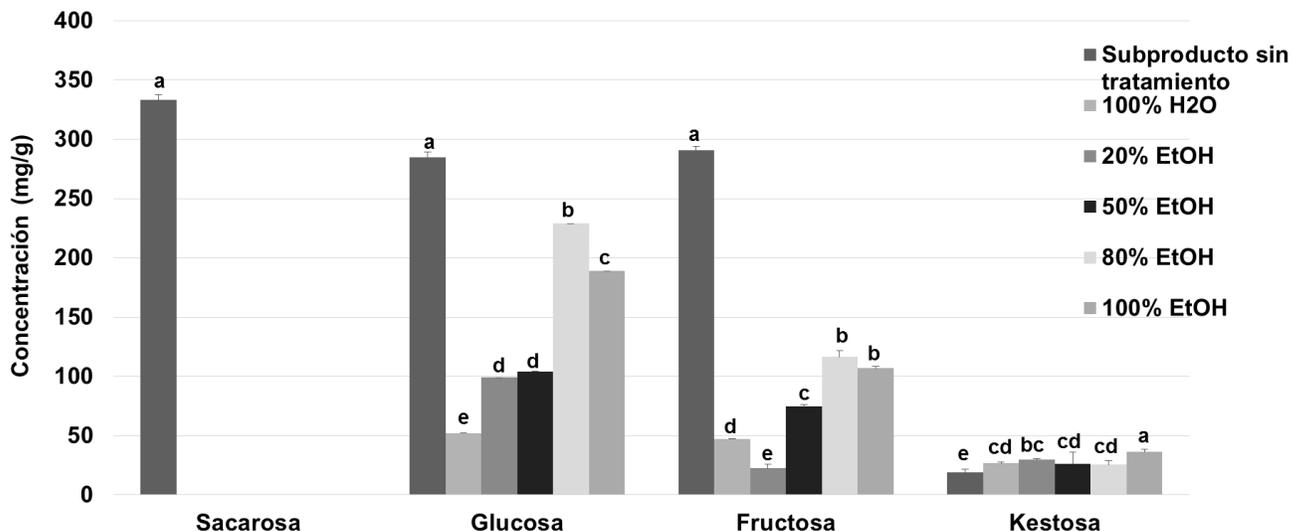


Figura 14. Perfil de carbohidratos del subproducto de durazno.

7.5. Contenido de fibra dietaria total del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua y etanol durante 5 y 20 minutos

Una de las principales características del subproducto es su contenido de FD, en este trabajo se pretendió concentrar el contenido de FD del subproducto de durazno (Figura 14). El contenido de FD total del subproducto sin tratamiento fue de 69%, este fue mayor en los subproductos tratados con 100% H₂O y disminuyó ligeramente en los tratados con 100% EtOH durante 20 min. Esto se puede deber a su solubilidad, ya que se reporta que las pectinas, gomas y polisacáridos considerados FDS son insolubles en 80-100% EtOH (Ju-Shin *et al.*, 2013). De esta manera se demuestra que la cantidad de FD se concentra con el tratamiento hasta en un 30%. Por otro lado, no se observaron cambios significativos por efecto del tiempo (Figura 15).

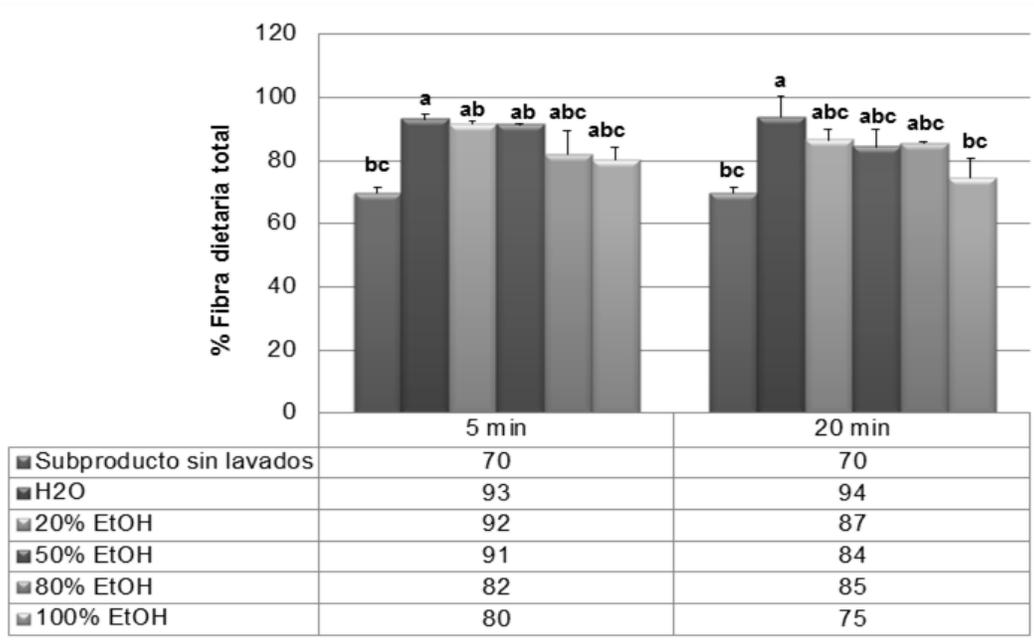


Figura 15. Contenido de fibra dietaria total del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua y etanol en una relación 1:5 (p/v) durante 5 y 20 min. Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$) con la prueba de Tuckey-Kramer.

La concentración de FDI, al igual que la FDT, se concentró significativamente con el tratamiento con agua hasta en un 23% durante los dos tiempos evaluados 5 y 20 min; para el resto de las diluciones de agua y etanol el incremento fue desde un 4% hasta un 13% (20, 50, 80 y 100%). Los resultados fueron similares para ambos tiempos (Figura 16).

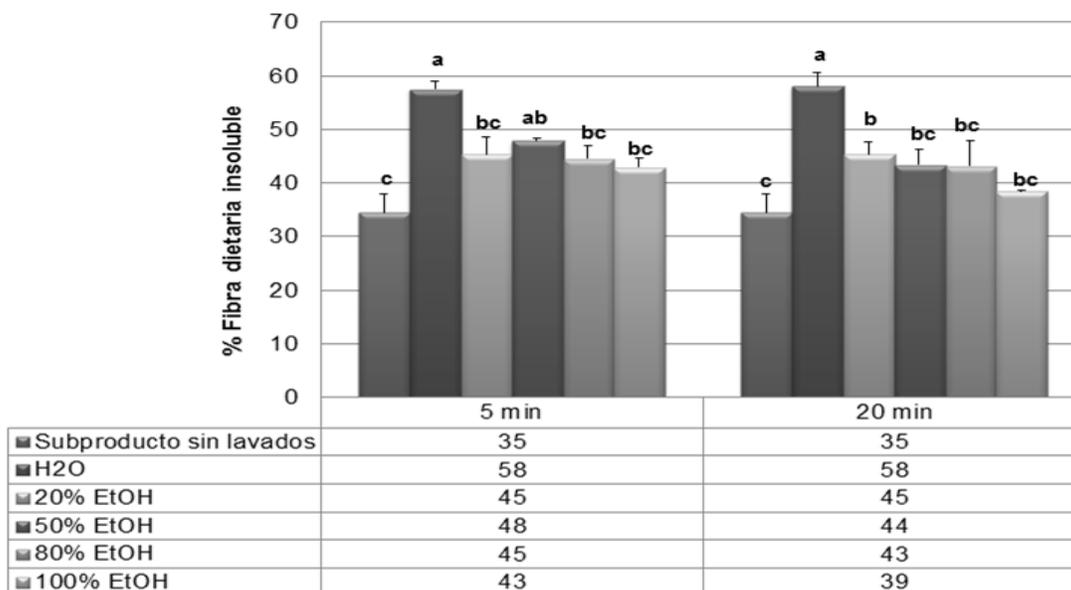


Figura 16. Contenido de fibra dietaria insoluble del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua y etanol en una relación 1:5 (p/v) durante 5 y 20 min. Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$) con la prueba de Tuckey-Kramer.

Aunque la cantidad de FDS no se concentró significativamente con el tratamiento con agua y etanol, si se observa una concentración de hasta del 10% de su contenido con los tratamientos con 20 y 50% EtOH a los 5 y 20 min y 80% EtOH a los 20 min. Esto puede deberse a que esta fibra se solubiliza en agua y de esta forma se puede eliminar en la solución de los tratamientos; por lo tanto, la cantidad de ésta en los subproductos tratados no se concentró significativamente (Figura 17).

El contenido de FDT de estos subproductos fue mayor a lo reportado por Amaya-Cruz *et al.* 2015 (37.6% de DFT, 24.3% de DFI y 13.4 de DFS). Estas diferencias pueden deberse al estado de madurez del durazno, pues la empresa menciona que este lote tenía menor grado de madurez. Se ha reportado que una fruta más madura tiene menor contenido de FDT debido a la hidrólisis de la pared

celular por varias enzimas como pectinasas, hemicelulasas y celulasas (El-Zoghbi, 1994).

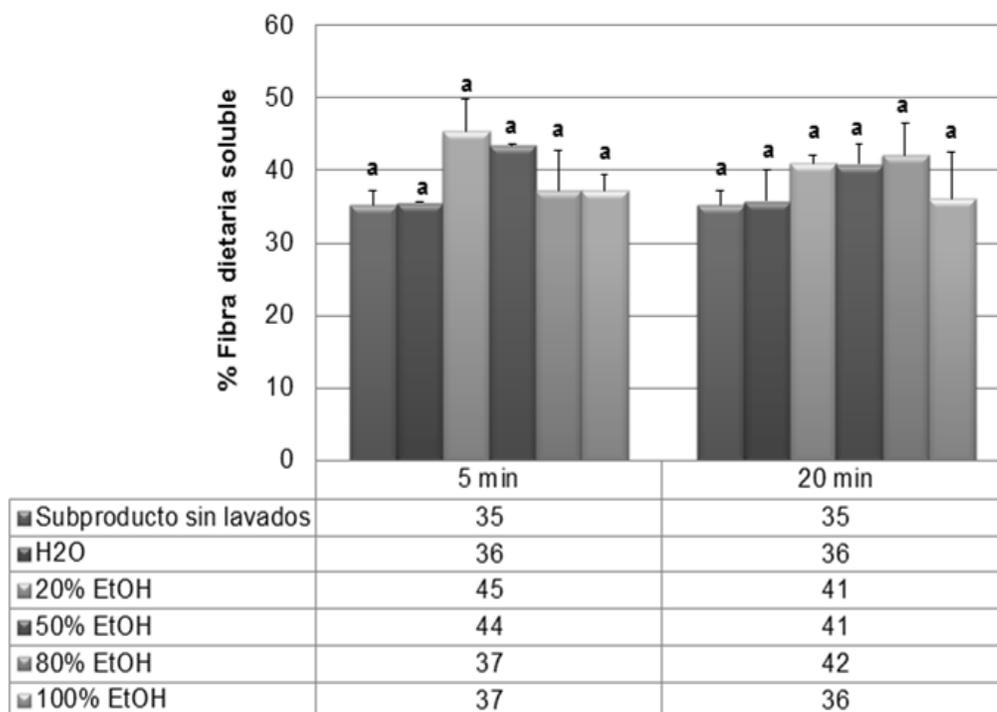


Figura 17. Contenido de fibra dietaria soluble del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua y etanol en una relación 1:5 (p/v) durante 5 y 20 min. Letras iguales indican que no existe diferencia significativa ($p < 0.05$) Tuckey-Kramer.

De acuerdo a los resultados anteriores, el tratamiento con 100% H₂O redujo los carbohidratos solubles totales y azúcares reductores y, además, concentró el contenido de FDT y FDI.

7.6. Efecto del tratamiento del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua y etanol sobre la concentración de fitoquímicos y su capacidad antioxidante

7.6.1. Concentración de compuestos fenólicos

Una de las principales desventajas del tratamiento con agua y etanol para concentrar FD y reducir azúcares no deseables es que también se eliminan

compuestos con beneficios a la salud, como los compuestos fenólicos. Como puede observarse en la Figura 18, en los subproductos tratados durante 5 min se presentó una disminución hasta en un 15% de la concentración de compuestos fenólicos, en todas las mezclas que contenían etanol-agua respecto al control (sin tratamiento); pero estos valores no fueron estadísticamente significativos. Sin embargo, a los 20 min se presentó una reducción significativa de dichos compuestos hasta de un 65%. Además, esta reducción fue mayor en las mezclas que contenían mayor cantidad de etanol. Esto se debe a que los compuestos fenólicos son solubles en solventes orgánicos (Chew *et al.*, 2011); de tal forma que, entre mayor concentración de este solvente, mayor solubilización de los compuestos.

Se ha reportado que extractos de durazno con 70% EtOH ricos en compuestos fenólicos podría utilizarse como un alimento funcional para la prevención de la obesidad, la acumulación de grasa e hígado graso (Ju-Shin *et al.*, 2013); por lo tanto, no es conveniente los tratamientos con alto porcentaje de etanol debido a que se extraen estos compuestos y se puede reducir el efecto de estos en la obesidad. Consecuentemente, los mejores tratamientos para disminuir la eliminación de compuestos fenólicos son los tratados con 100% H₂O durante 5 min.

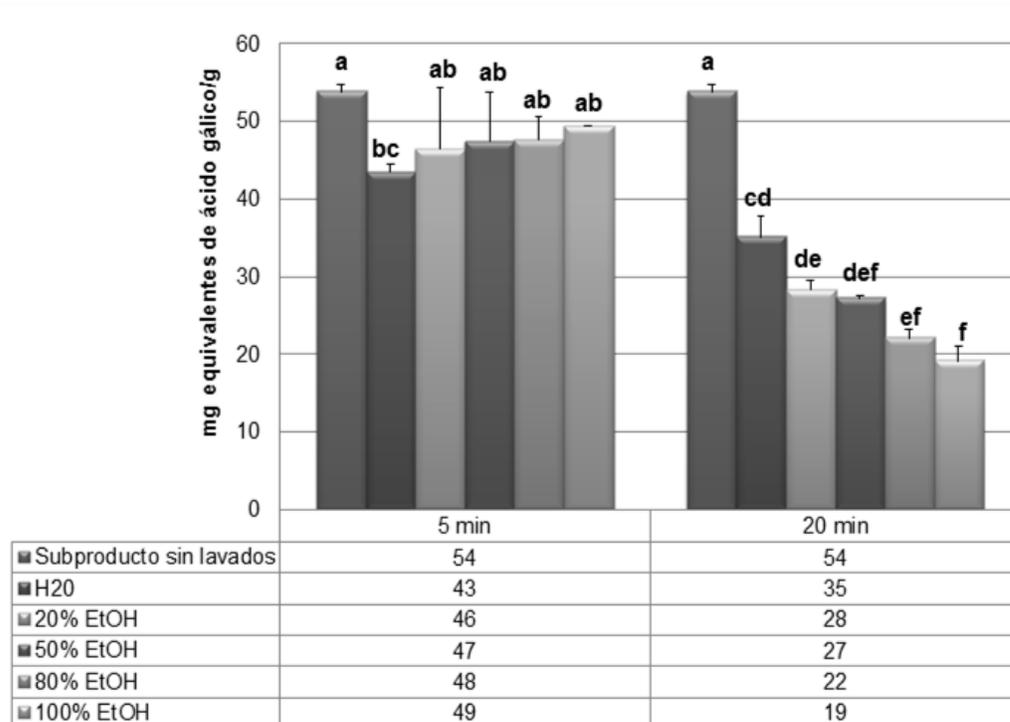


Figura 18. Contenido de compuestos fenólicos del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua y etanol en una relación 1:5 (p/v) durante 5 y 20 min. Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$) con la prueba de Tuckey-Kramer.

7.6.2. Perfil de compuestos fenólicos del subproducto de durazno usado para la evaluación de las propiedades fisicoquímicas de la digesta y biodisponibilidad de compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos mayoritarios encontrados en todas las muestras fueron los ácidos 4-cafeoilquínico, clorogénico y 1,5-di-O-cafeoilquínico (Cuadro 5). La mayoría de los ácidos fenólicos se concentraron con todos los tratamientos, principalmente con 20% EtOH seguido de los tratamientos con 50% EtOH y 100% H₂O por 5 min. Sin embargo, todos los tratamientos disminuyeron el contenido de algunos ácidos fenólicos como ácido *trans*-cinámico, sináptico y 4,5-di-O-cafeoilquínico. Además, los ácidos gálico y elágico no se identificaron con el tratamiento con 50, 80 y 100% EtOH, sugiriendo una alta solubilidad en etanol.

Rutina fue el flavonoide mayoritario en todas las muestras, seguida de neohesperidina y catequina. Sin embargo, no se observó una clara tendencia respecto a la porción de solventes. Por ejemplo, el mayor contenido de rutina y neohesperidina se encontró en el subproducto tratado con 20% EtOH, mientras catequina se concentró con el tratamiento con 80% EtOH.

Cuadro 5. Perfil de compuestos fenólicos del subproducto de durazno usado para la evaluación de las propiedades fisicoquímicas y biodisponibilidad de compuestos fenólicos

Compuestos	TR (min)	MRM transiciones	Subproducto sin tratamiento	100% H ₂ O	20% EtOH	50% EtOH	80% EtOH	100% EtOH
Ácidos cinámicos								
1,5-Di-O-cafeoilquinico	1.07	515→173	3276.8 ± 442.3 ^b	4026.5±272.2 ^{ab}	4460.8±20.4 ^a	3842.7±69.9 ^{ab}	3154.7±77.6 ^b	3587.1±152.8 ^a b
4-O-cafeoilquinico	3.91	353→191, 179	1592.4±187.1 ^{ab}	1221.5±109.9 ^b	2015.4±235.8 ^a	1622.6±53.9 ^{ab}	1192.7±27.2 ^b	1645.4±0.4 ^{ab}
5-O-cafeoilquinico a	3.75	353→191,85	7000.5±953.5 ^c	9657.4±236.2 ^b	13111.9±203.9 ^a	9440.4±404.1 ^b	9277.3±67.3 ^b	9509.3±542.0 ^b
Caféico	4.85	179→135	39.4±1.5 ^d	232.6±4.0 ^b	352.6±19.4 ^a	228.9±27.6 ^b	187.0±0.6 ^{bc}	154.6±5.6 ^c
<i>p</i> -Cumárico	6.30	163→119, 93	53.9±0.6 ^c	90.1±12.9 ^b	145.9±0.2 ^a	100.4±5.6 ^b	101.5±1.3 ^b	98.8±10.2 ^b
3,4-Di-O-cafeoilquinico	7.32	515→353,179	29.2±0.9 ^d	56.5±3.8 ^c	86.3±4.0 ^{ab}	69.6±9.9 ^{bc}	89.4±2.8 ^a	66.2±2.2 ^c
4,5-Di-O-dicafeoilquinico	7.70	515→353,179, 173	7.5±0.0 ^a	Trazas	Trazas	Trazas	Trazas	Trazas
<i>Trans</i> -cinámico	9.15	147→103, 77	21.4±1.6 ^a	Trazas	Trazas	Trazas	Trazas	Trazas
Ácidos benzoicos								
Gálico	1.21	169→125, 79	134.9±2.5 ^b	193.4±17.1 ^a	65.8±13.4 ^c	Trazas	Trazas	Trazas
Iso-vanílico	2.94	167→123	1.5±0.8 ^{de}	10.7±1.2 ^a	7.3±1.1 ^b	Trazas	6.6±0.4 ^{bc}	3.4±0.3 ^{cd}
Elálgic	6.19	301→284, 229,145	8.3±0.0 ^c	21.8±1.8 ^{ab}	30.5±6.0 ^a	19.0±0.5 ^b	Trazas	Trazas
Sinápico	6.63	223→209,164, 149	0.2±0.0 ^a	Trazas	Trazas	Trazas	Trazas	Trazas
Salicílico	7.65	137→93	9.2±1.3 ^e	46.8±4.2 ^c	97.9±0.6 ^a	66.6±3.6 ^b	23.6±0.4 ^d	57.2±4.2 ^{bc}
Flavanoles								
Galocatequina	1.03	305→164,125	35.1±2.1 ^e	47.5±4.2 ^d	63.5±0.2 ^c	111.0±1.7 ^a	57.1±1.5 ^c	87.7±0.2 ^b

Catequina	1.72	289→203,109	68.5±2.4 ^e	258.1±1.3 ^b	177.4±2.6 ^d	185.9±8.2 ^d	303.4±7.7 ^a	217.2±10.8 ^c
Epicatequina	2.21	289→162,125	19.4±0.2 ^c	23.8±1.4 ^{bc}	29.7±0.8 ^b	39.3±3.0 ^a	25.3±0.2 ^{bc}	25.3±1.1 ^{bc}
Epicatechin galato	2.55	457→289,169	0.1±0.0 ^e	2.4±0.0 ^c	7.9±0.1 ^a	3.2±0.2 ^b	1.8±0.1 ^d	0.2±0.0 ^e
Flavonoles								
Mirecetina	3.32	317→179,151	Traces	0.8±0.5 ^b	0.8±0.0 ^{ab}	0.0±0.0 ^b	1.3±0.0 ^a	0.8±0.0 ^{ab}
Quercetina	4.06	301→179,151	10.2±0.3 ^d	45.0±6.0 ^b	62.1±2.7 ^a	26.7±0.1 ^c	25.1±1.4 ^c	26.6±0.5 ^c
Rutina	3.15	609→300	1009.4±100.0 ^d	1639.0±47.5 ^c	2468.2±19.5 ^a	2020.3±61.2 ^b	1710.8±30.1 ^c	1588.4±63.3 ^c
Flavanones								
Hesperidina	7.78	609→301,164,151	6.4±1.1 ^e	35.0±4.5 ^b	35.1±5.6 ^b	13.6±0.3 ^{cd}	26.8±3.5 ^{bc}	56.6±1.9 ^a
Neohesperidina	8.23	609→301,164,151	454.5±52.8 ^d	582.4±19.3 ^{cd}	1001.9±14.5 ^a	741.9±56.2 ^b	720.9±10.8 ^{bc}	792.5±33.6 ^b

Valores (n=3) están expresados como la media ± desviación estándar. Letras diferentes en la misma línea indican diferencia significativa estadísticamente ($\alpha = 0.05$) entre subproducto de durazno sin tratamiento y tratado por la prueba de Tukey. TR: Tiempo de retención MRM: multiple reaction monitoring.

7.6.3. Contenido de taninos condensados

Entre los compuestos fenólicos se encuentran los taninos condensados (que son parte de los PFNE), se reporta que los taninos representan del 2 al 7% en peso fresco en las frutas (Haslam, 2007). La presencia de proantocianidinas (taninos condensados) varía dependiendo de la parte del fruto, siendo más abundante en la cáscara (Vázquez-Flores *et al.*, 2012). Estos compuestos son relevantes ya que están directamente relacionados con la capacidad antioxidante y, por lo tanto, con la actividad biológica como antioxidante. Además, se ha reportado que los taninos condensados forman complejos con la α -amilasa, de esta manera la inhiben y complican la degradación y absorción de carbohidratos (Vázquez-Flores *et al.*, 2012).

Por esta razón, estos compuestos también se cuantificaron en este estudio y se encontró que su contenido se concentró con los tratamientos con agua y etanol (Figura 19). Se observó la mayor concentración significativa en el subproducto tratado con 20% EtOH durante 20 min, duplicándose su concentración, seguido de los tratados con 100% H₂O a los 5 y 20 min, tratados con 20 y 50% EtOH a los 5 min, y con menor incremento con los tratamientos con 80 y 100% EtOH a los 5 y 20 min hasta 16%. Este efecto puede deberse a que estos tratamientos incrementan la concentración de FD, ya que se ha reportado que los taninos condensados están ligados a la matriz de la FD (Saura-Calixto *et al.*, 1991), de tal manera que al incrementarse la FD aumenta la concentración de estos compuestos. Estos son de gran interés, ya que al fermentarse en el intestino la FD estos compuestos son

liberados y pueden presentar propiedades funcionales en el organismo (Saura-Calixto, 2011), es por ello que se busca incrementar su contenido (Figura 19).

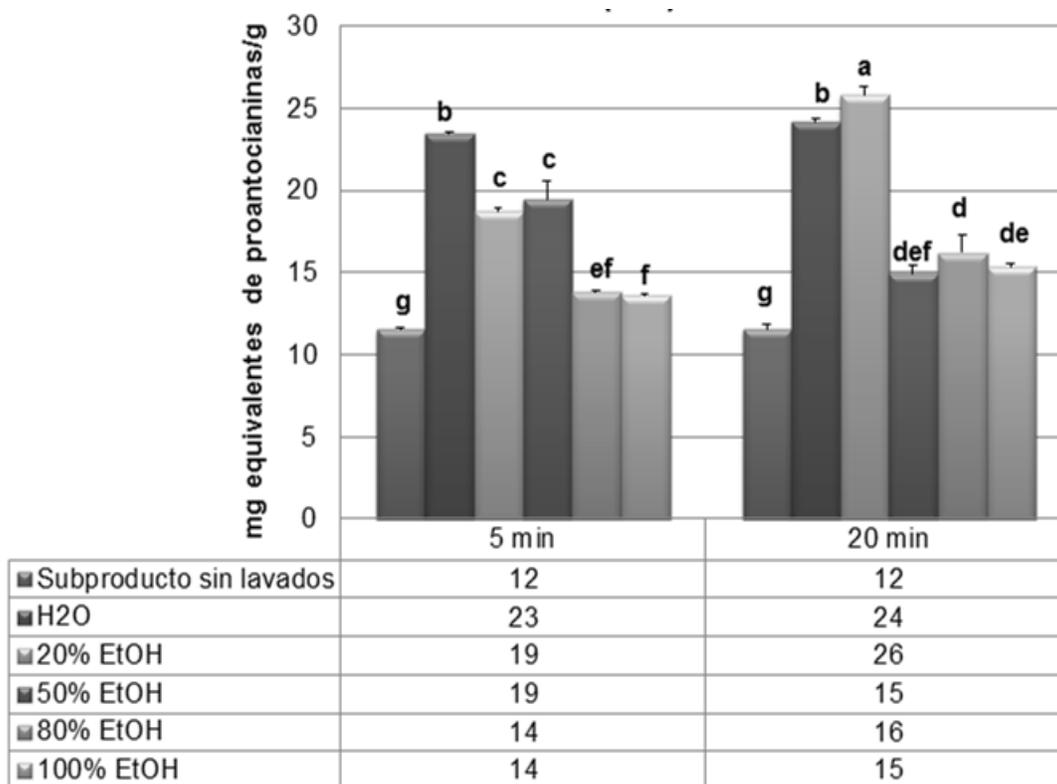


Figura 19. Contenido de taninos condensados del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua y etanol en una relación 1:5 (p/v) durante 5 y 20 min. Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$) con la prueba de Tuckey-Kramer.

7.6.4. Concentración de carotenoides

El tratamiento con agua y etanol, independientemente del tiempo de tratamiento, concentró el contenido de carotenoides en el subproducto de durazno en comparación con el subproducto sin tratamiento (Figura 20). Que va desde 9.3 % con el tratamiento con 100% EtOH por 20 min hasta 216% después del tratamiento con 100% H₂O por 5 min. La mayor pérdida de carotenoides se dio con el tratamiento con 100% EtOH esto se debe a que los carotenoides son lipofílicos y,

por lo tanto, son insolubles en agua, por lo que con el tratamiento con agua se presenta mayor concentración de estos, además en agua se extrae compuestos como los azúcares solubles que van a ocasionar una mayor concentración de otros componentes del subproducto. Con respecto al tiempo, se observó un poco mayor concentración significativa de estos compuestos en los subproductos sometidos a algunos tratamientos durante 5 min que en los de 20 min, debido a que es mayor el tiempo de extracción (Figura 20).

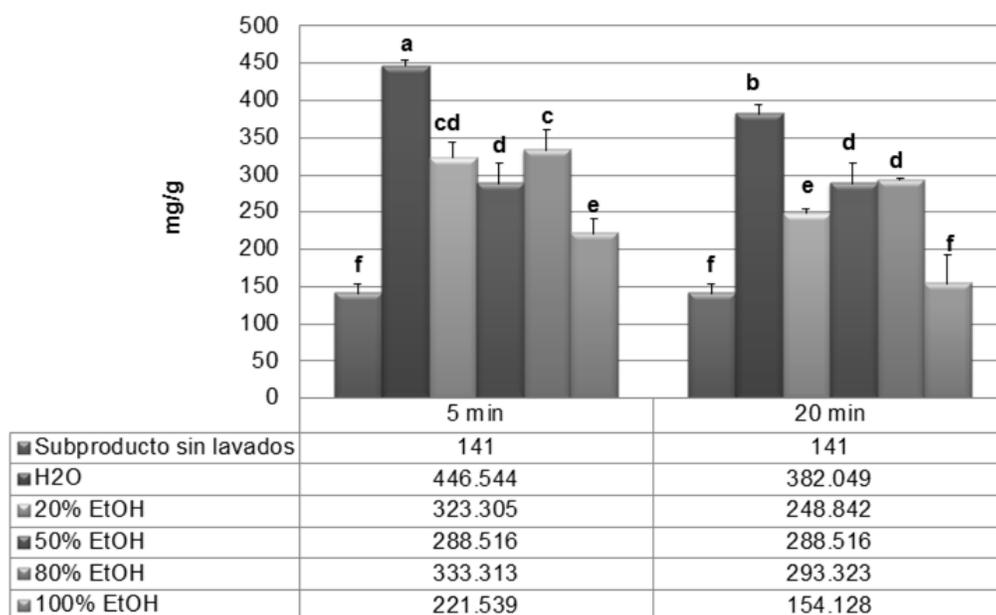


Figura 20. Contenido de carotenoides del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua y etanol en una relación 1:5 (p/v) durante 5 y 20 min. Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$) con la prueba de Tuckey-Kramer.

7.6.5. Capacidad antioxidante (TEAC)

La capacidad antioxidante se determinó por el método de DPPH y los resultados se expresan como TEAC. En la Figura 21 se muestra que, aunque no presentó diferencia estadística significativa, la capacidad antioxidante del subproducto tiende

a disminuir principalmente con el tratamiento con agua-etanol; esto se debe a que el valor de TEAC podría estar relacionado con el contenido de compuestos polifenólicos, los cuales como se observa en la Figura 17, disminuyeron con dicho tratamiento.

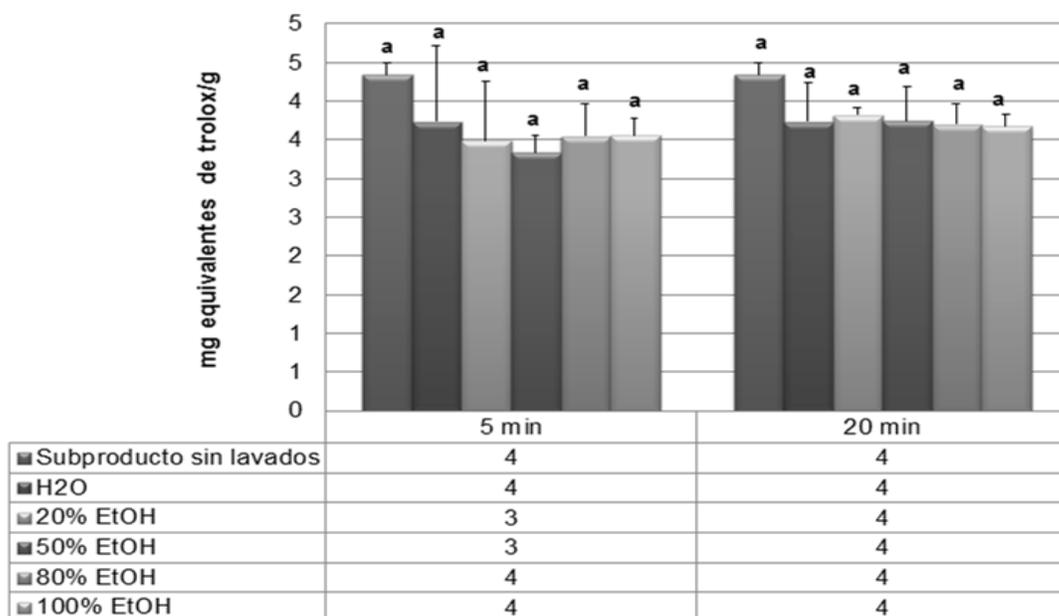


Figura 21. Capacidad antioxidante (TEAC) del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua y etanol en una relación 1:5 (p/v) durante 5 y 20 min. Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$) con la prueba de Tuckey-Kramer.

7.6.6. Integración de los resultados de las diferentes determinaciones del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua y etanol durante 5 y 20 minutos

En la Figura 22 se muestra la comparación de los subproductos con los diferentes tratamientos y las determinaciones analizadas: contenido de azúcares reductores, carbohidratos solubles totales, fibra dietaria (soluble e insoluble), compuestos fenólicos, taninos condensados, carotenoides y capacidad antioxidante. Como se observa en el diagrama del subproducto sin tratamiento, éste tiene alto contenido de carbohidratos y azúcares reductores. Esta concentración disminuye en los

subproductos tratados con ambos solventes; sin embargo, se observó mayor eliminación en los subproductos tratados con 100% H₂O que con etanol, y en los tratados durante 20 min. El subproducto tratado con agua y etanol durante 5 min tiene ligeramente mayor contenido de FD y compuestos fenólicos, pero esta diferencia no fue significativa. Por lo tanto, si se desea un subproducto reducido en carbohidratos solubles y azúcares reductores además con alto contenido de FD y fitoquímicos (compuestos fenólicos, carotenoides, taninos condensados) y alta capacidad antioxidante, es conveniente realizar los tratamientos con 100% H₂O por 5 min. Pero si lo que se desea es un subproducto con menor contenido de carbohidratos solubles totales y azúcares reductores, pero con menor contenido de fitoquímicos y de capacidad antioxidante el ideal sería el tratamiento con 100% H₂O durante 20 min. Siendo el primer subproducto el de mayor importancia biológica.

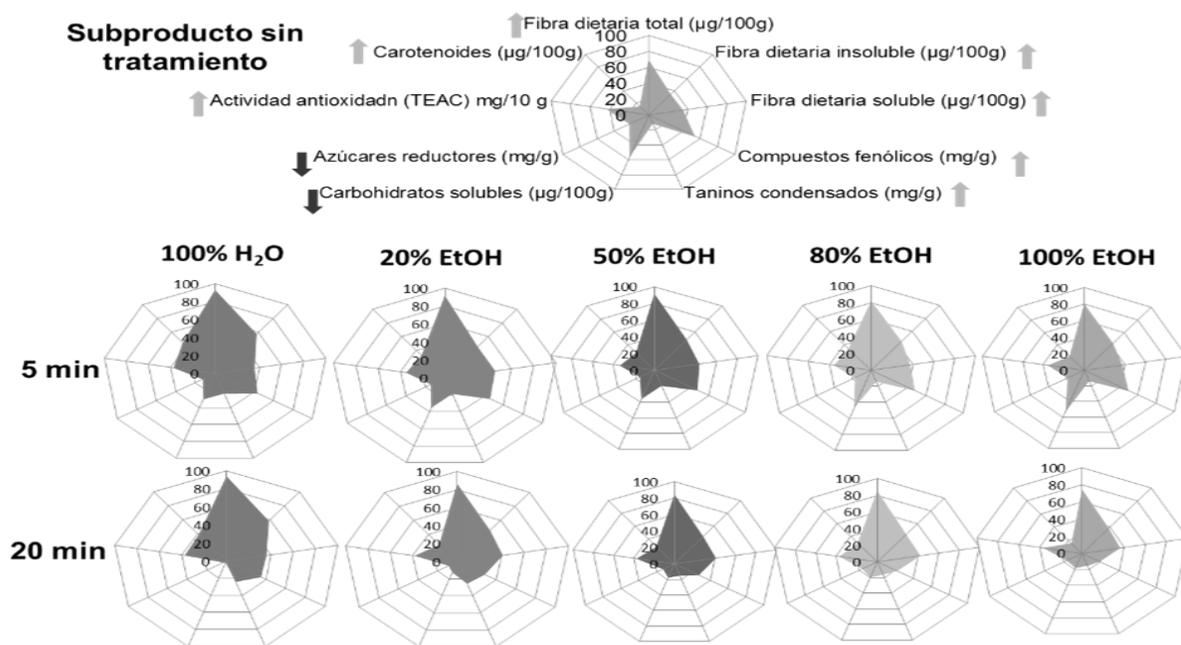


Figura 22. Integración de resultados de los subproductos de durazno sin tratamiento y tratados durante 5 y 20 min.

7.7. Propiedades fisicoquímicas y viscosidad del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua durante 5 y 20 min

En los subproductos obtenidos con todos los tratamientos se disminuyó la densidad aparente comparada con el subproducto sin tratamiento, y se observó que esta tiende a disminuir al incrementar la porción de agua en el tratamiento (Cuadro 6). Este efecto podría estar relacionado con la reducción de CS, promoviendo el incremento de espacios intermoleculares (poros), ya que estos compuestos se encuentran usualmente atrapados en la matriz de la FD (López *et al.*, 1996).

CRA aumentó al incrementar la porción de etanol en el tratamiento, la cual no se asoció con un el alto contenido de compuestos hidrofílicos como CS, AR y FDS, ya que se sugiere una alta disponibilidad de grupos hidroxilos de la FD en el subproducto tratado con mayor cantidad de etanol (Chi-Fai y Ya-Ling, 2003). Mientras que, la CRAc se mejoró al incrementar la porción de agua en el tratamiento (Cuadro 6) debido a su bajo contenido de compuestos polares como CS y AR y su alto contenido de FDI y, por lo tanto, incrementó su hidrofobicidad (Elleuch *et al.*, 2011). Respecto a la máxima difusión de glucosa, ésta disminuyó solamente con el tratamiento con 100% H₂O por 5 min (1.48 veces) (Cuadro 6), lo cual podría estar relacionado con su alto contenido de FDI, ya que esta tiene mayor afinidad por la glucosa que la FDS (López *et al.*, 1996).

Cuadro 6. Densidad aparente, capacidad de retención de agua y aceite, y máxima difusión de glucosa del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua y etanol por 5 min

Muestras	Densidad aparente (g/mL)	CRA (g/g)	CRAC (g/g)	Máxima difusión de glucosa (mg/min)
Subproducto sin tratamiento	0.76 ± 0.00 ^a	4.62 ± 0.21 ^d	1.15 ± 0.03 ^d	0.99 ± 0.00 ^a
100% H₂O	0.62 ± 0.00 ^c	7.23 ± 0.14 ^c	1.63 ± 0.01 ^a	0.67 ± 0.18 ^b
20% EtOH	0.62 ± 0.01 ^c	7.8 ± 0.32 ^c	1.54 ± 0.01 ^b	0.72 ± 0.04 ^{ab}
50% EtOH	0.63 ± 0.00 ^c	8.14 ± 1.10 ^{bc}	1.52 ± 0.01 ^b	0.87 ± 0.20 ^{ab}
80% EtOH	0.70 ± 0.01 ^b	9.88 ± 0.24 ^a	1.32 ± 0.03 ^c	0.94 ± 0.33 ^{ab}
100% EtOH	0.68 ± 0.00 ^b	9.13 ± 1.30 ^{ab}	1.37 ± 0.02 ^c	1.04 ± 0.09 ^{ab}

CRA= Capacidad de retención de agua; CRAC= Capacidad de retención de aceite. Los valores fueron expresados como la media ± desviación estándar (n=3). Letras diferentes en las columnas indican diferencia significativa estadísticamente entre el subproducto sin tratamiento y el subproducto tratado, analizados por la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

El subproducto tratado con 100% agua a los 5 min fue el que presentó mayor viscosidad. En general, los tratados con etanol, 50%, o más presentaron mayor viscosidad comparado con el de 20% etanol (Figura 23). A pesar de que esta reportado que la viscosidad está relacionada con la capacidad de retención de agua, los resultados de viscosidad en este estudio no se relacionan con la CRA, ya que a pesar de que el subproducto sin tratamiento presentó menos CRA, así como menor viscosidad que los subproductos tratados, el subproducto tratado con 100% H₂O 5 min que tuvo mayor viscosidad no presentó mayor CRA. Esto de manera industrial tiene una gran importancia, ya que por su alta viscosidad podría usarse como aditivo en alimentos. De igual manera, tiene una gran importancia en la salud, ya que la

viscosidad de un alimento puede jugar un papel importante en la inhibición de la absorción de glucosa y lípidos en el organismo (Hu *et al.*, 2015).

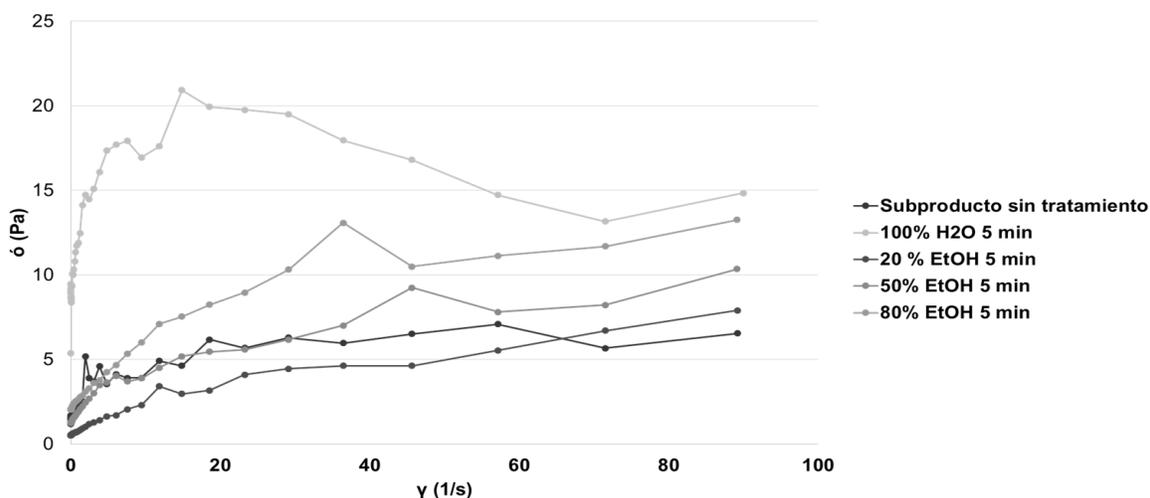


Figura 23. Viscosidad de subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua y etanol por 5 min.

7.8. Cambios morfológicos y estructurales del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua durante 5 y 20 min

Las características morfológicas de la pulpa y cáscara del subproducto sin tratamiento y del subproducto tratado se analizaron mediante SEM. La pulpa del subproducto tratado con 100% H₂O por 5 min mostró un aumento de la porosidad de la matriz (Figure 24 A-b), así como la cáscara (Figure 24 B-b), lo cual es acorde con la disminución de CS y AR (Cuadro 6) y el aumento de las propiedades fisicoquímicas de la FD (Cuadro 9). Está reportado que las partículas porosas retienen mayor cantidad de agua que de aceite y presentan bajos valores de densidad aparente (Guillon y Champ, 2000); lo que está acorde a los resultados obtenidos, ya que el subproducto tratado con mayor porosidad, presentó mayor capacidad de retención de agua y aceite que el subproducto sin tratamiento.

La pulpa del subproducto tratado con 20% EtOH por 5 min (Figura 24 A-c) muestra menor cantidad de partículas comparado con el subproducto sin tratamiento, lo cual concuerda con su bajo contenido de CS (Cuadro 9), mientras que la cáscara con este tratamiento muestra filamentos de FDI expuestos (Figura 24 B-c). En la pulpa y la cáscara del subproducto tratado con 50, 80 y 100% EtOH por 5 min se observaron compuestos adheridos a la matriz y menor porosidad (Figuras 24 A y B- d, e y f). Estos tratamientos mostraron mayor contenido de CS y AR (Cuadro 9).

De acuerdo a la caracterización fitoquímica, fisicoquímica y morfológica, los subproductos tratados con 100% H₂O y 20% EtOH por 5 min se seleccionaron para su evaluación *in vivo* sobre propiedades fisicoquímicas de la digesta y la biodisponibilidad de los metabolitos de polifenoles.

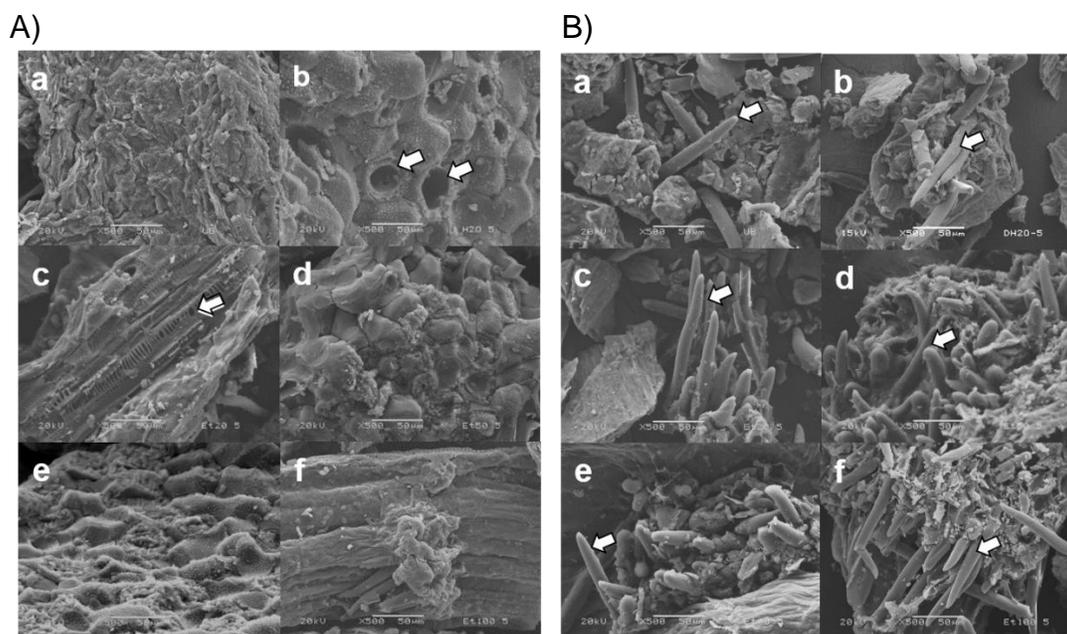


Figura 24. A) Microscopía electrónica de barrido del subproducto de durazno con tratamiento y tratado de pulpa y B) cáscara. Subproducto sin tratamiento a), subproducto tratado con 100% H₂O 5 min b), 20% EtOH 5 min c), 50% EtOH 5 min d), 80% EtOH 5 min e) y 100% EtOH 5 min f). Magnificación at 500x. Las flechas

indican porosidad de la matriz en la pulpa (A), mientras que las flechas en la cáscara (B) indican parte de la FDI.

Los tratamientos con 100% H₂O por 5 y 20 min del subproducto de durazno fueron seleccionados para analizar la estructura de la FD por TEM debido a la menor concentración de CS y AR. Las figuras 25 a, c y e muestran las imágenes de TEM de subproducto sin tratamiento y tratado a los 5 y 20 min respectivamente. El subproducto sin tratamiento y tratado con 100% H₂O por 5 min mostraron anillos intensos de difracción, mientras que el de 20 min presenta anillos menos intensos (Figura 25 e).

Imágenes de HR-TEM de subproducto sin tratamiento y tratado se muestran en las Figuras 25 b, d y f. El subproducto sin tratamiento presentó mayor intensidad de nanopartículas (Figura 25 b), mientras que el subproducto tratado con 100% H₂O por 5 min mostró una menor densidad de nanopartículas (Figura 25 d). Interesantemente, no se observaron nanopartículas en el subproducto tratado durante 20 min (Figura 25 f). Estos resultados al igual que los del análisis de carbohidratos, sugieren que estas nanopartículas inmersas en el subproducto sin tratar son carbohidratos solubles, los cuales disminuyen con el tratamiento con agua.

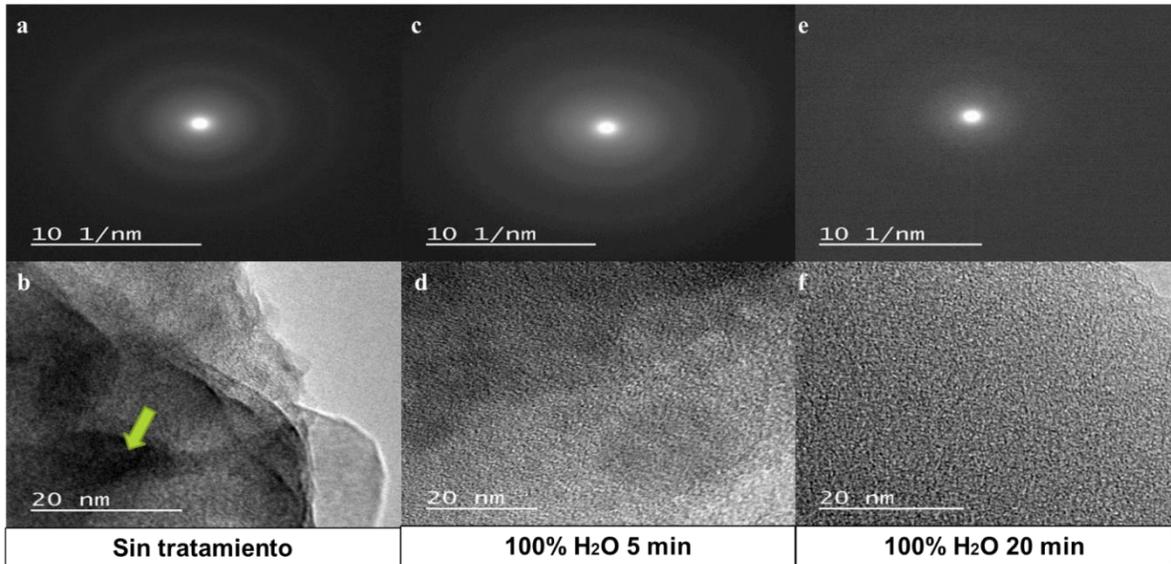


Figura 25. Imágenes de TEM de subproducto de durazno sin tratamiento (a y b) y tratado con 100% H₂O en una relación 1:5 (w/v) durante 5 (c y d) y 20 min (e y f). La flecha indica mayor concentración de nanopartículas.

7.9. Perfil de compuestos fenólicos del subproducto de durazno usado para la evaluación del efecto en obesidad y esteatosis hepática

Los polifenoles extraíbles (PE) se dividen en estructuras simples como los ácidos fenólicos (libres y esterificados), en flavonoides, proantocianidinas (oligómeros de catequina y epicatequina) y taninos hidrolizables. Así como los polifenoles no extraíbles (PNE) que incluyen también taninos hidrolizables, que a su vez pueden dividirse en galotatinos si la unidad monomérica es el ácido gálico y en elagitaninos si la unidad es el ácido elágico, polifenoles hidrolizables (ácidos benzoicos y ácidos cinámicos que se unen a estructuras más complejas mediante enlaces glucosídicos) y proantocianidinas de alto peso molecular o también llamadas taninos condensados (Arranz, 2010).

Por lo tanto, el perfil de HPLC-DAD-MS se realizó para ambos, polifenoles extraíbles y no extraíbles del subproducto de durazno usado para evaluar el efecto en obesidad y esteatosis hepática (Cuadro 8). Como se esperaba, el subproducto sin tratamiento mostró en promedio un mayor contenido de compuestos fenólicos comparado con el subproducto tratado alto en FD.

Se identificaron veintisiete PE en ambos subproductos, y los ácidos 4- y 3-cafeoilquínico, *p*-cumaroilquínico y 4-ferruolquínico fueron los mayoritarios (Cuadro 7). El tratamiento con 100% H₂O 5 min, utilizado para concentrar FD provoca la reducción de varios PE en el subproducto tratado, como quercetina 3-O-rutinosido, ácido 4-cafeoilquínico, kaemferol 3-O-rutinosido, ácido 3-cafeoilquínico y quercetina 3-O-ramnosil-galactosido. Estos compuestos se redujeron en más de 70% en el

subproducto tratado comparado con el subproducto sin tratar, esto podría deberse a que estos compuestos se solubilizan en el agua.

En cuanto a los PNE, se identificaron 18 compuestos en ambos subproductos y los mayoritarios fueron el kamferol, el galoil glucosa y dihidroquercetina (Cuadro 9). Estos resultados coinciden con lo reportado por Amaya-Cruz. *et al.* (2015) que indican que el kamferol es uno de los PNE mayoritarios. Interesantemente, se identificaron mayor contenido de varios PNE en el subproducto tratado comparado con el subproducto sin tratar, como el ácido elágico, glucósido, ácido gálico 4-o-glucoside, ácido gálico etil éster y el ácido 5-O-galoilquínico. Los resultados sugieren que estos compuestos están ligados a la DFI, la cual fue concentrada en el subproducto tratado y posteriormente fueron liberados por la microbiota.

El subproducto sin tratamiento mostró un mayor contenido los siguientes PNE; ácido *p*-cumaroil glucólico, 7,3',4'-trihidroxi flavona, 5,6-dihidroxi-7,8,3',4'-tetrametoxiflavona, galoil glucosa, kaemferol y dihidroquercetina, sugiriendo que estos compuestos están ligados a la FDS y, por lo tanto, se lixiviaron con el tratamiento para concentrar FD.

Cuadro 7. Perfil de polifenoles extraíbles por HPLC-DAD-MSD de subproducto durazno usado para la evaluación del efecto en obesidad y esteatosis hepática

Familia	Tiempo de Retención (min)	Compuesto	m/z	λ (nm)	Concentración ($\mu\text{g g}^{-1}$)		
					Subproducto sin tratamiento	100% H ₂ O 5 min	
<i>Ácidos Hidroxibenzoicos</i>	15.0	Ácido valonéico dilactona	469.1	280	47.9 ± 0.3b	68.5 ± 8.1a	
	19.3	Ácido 4-hidroxibenzoico 4-O-glucosido	299.2	280	9.5 ± 1.5b	12.7 ± 0.2a	
	26.5	Ácido gálico 3,4-dimetil	197.1	280	3.3 ± 0.8a	2.9 ± 1a	
	29.6	Ácido gálico etil éster	197.1	280	48.3 ± 12.8a	50.1 ± 10.6a	
<i>Ácidos Hidroxicinámicos</i>	1.7	Ácido 4,5-dicafeoilquínico	515.1	320	452.9 ± 0.0a	65.1 ± 28.1b	
	4.7	Ácido 4-cafeoilquínico	353.1	320	23733.1 ± 0.0a	4812.0 ± 8.1b	
	6.3	Ácido <i>p</i> -cumaroilquínico	337.1	320	1048.3 ± 4.7a	461.5 ± 184.7b	
	6.7	Ácido 3-cafeoilquínico	353.1	320	53349.1 ± 0.0a	16266.6 ± 50.2b	
	7.5	Ácido 5-feruloilquínico	367.1	320	116.7 ± 0.0a	52.1 ± 6.6b	
	7.6	Ácido 4-feruloilquínico	367.1	320	950.7 ± 0.0a	631.1 ± 21.5b	
	8.4	Ácido 3-feruloilquínico	367.1	320	145.7 ± 0.0a	120.7 ± 50.6a	
	<i>Lignanós</i>	15.3	Secoisolariciresinol-sesquillignano	557.2	280	5.7 ± 1.8a	5.6 ± 3.7a
		17.0	Secoisolariciresinol	363.3	280	90.3 ± 4.61a	42.8 ± 3.1b
	<i>Flavanoles</i>	2.0	Epicatequin 3-O-galato	441.1	214	314.5 ± 151.7a	141.7 ± 9.2b
5.3		Procianidina dimero B2	577.2	214	35.8 ± 4.8b	201.2 ± 94.8a	
14.6		Epicatequin 3-O-glucosido	451.1	214	321.7 ± 14.1a	35.0 ± 5.0b	
<i>Flavonoles</i>	14.8	Galocatequin 3-O-galato	457.2	214	151.0 ± 63.2a	15.1 ± 2.3b	
	2.6	Kaemferol 3-O-(6"-malonil-glucosido)	533.2	365	LDL	5.9 ± 0.0a	
	5.3	Miricetina 3-hexosido	479.2	365	22.7 ± 0.4b	55.8 ± 0.0a	
	11.7	Quercetina 3-O-glucurónido	477.2	365	87.3 ± 0.0a	79.7 ± 15.8a	
	12.1	Quercetina 3-O-rutinósido	609.2	365	325.2 ± 0.0a	29.8 ± 0.0b	
	12.3	Quercetina 3-O-ramnosil-galactósido	609.2	365	365.6 ± 0.0a	28.0 ± 1.0b	
	13.1	Kaemferol 3-O-glucurónido	461.2	365	LDL	2.9 ± 4.2a	
	13.8	Kaemferol 3-O-rutinósido	593.2	365	112.9 ± 8.6a	12.2 ± 1.2b	
	14.3	Isoramnetina 3-O-glucósido 7-O-ramnósido	623.2	365	229.8 ± 4.4a	24.6 ± 3.9b	
	18.4	Kaemferol 3,7-O-diglucósido	609.1	365	27.2 ± 0.0a	9.0 ± 0.2b	
19.6	Quercetina	301.1	365	50.0 ± 0.8a	29.7 ± 0.5b		

Valores están expresados como la media \pm desviación estándar (n=3). Letras diferentes indican diferencia significativa estadísticamente ($P<0.05$) por la prueba de T-student.

Cuadro 8. Perfil de polifenoles no extraíbles por HPLC-DAD-MSD de subproducto durazno usado para la evaluación del efecto en obesidad y esteatosis hepática

Familia	Tiempo de retención (min)	Compuesto	m/z	λ (nm)	Concentración ($\mu\text{g g}^{-1}$)	
					Subproducto sin tratamiento	100% H ₂ O 5 min
<i>Ácidos Hidroxibenzoicos</i>	8.2	Ácido gálico 4-O-glucosido	331.1	280	2.8 \pm 1.4b	7.0 \pm 0.0a
	12.1	Ácido gálico etil éster	197.1	280	1.4 \pm 0.0a	2.9 \pm 2.2a
	27.3	Ácido 5-O-Galoilquinico	343.4	280	2.3 \pm 1.7a	3.8 \pm 0.0a
	29.4	Galoil glucosa	331.1	280	140.6 \pm 0.0a	62.5 \pm 3.3b
	27.0	Ácido <i>p</i> -Cumaroil glicolico	221.1	320	52.4 \pm 0.0a	LDL
<i>Ácidos Hidroxicinámicos</i>	1.2	Ácido caféico etil éster	233.1	320	97.8 \pm 34.6a	94.0 \pm 19.3a
	9.6	Ácido elágico glucósido	463.1	320	19.8 \pm 2.8b	124.7 \pm 29.2a
	10.7	Ácido caféico 3-O-glucurónido	355.3	320	79.3 \pm 31.2a	37.3 \pm 0.0b
	15.2	Ácido caféico 4-O-glucósido	341.3	320	76.4 \pm 16.7a	71.0 \pm 25.0a
	27.0	Ácido <i>p</i> -Cumaroil glicólico	221.1	320	52.4 \pm 0.0a	LDL
<i>Flavonoles</i>	14.5	Isoramnetina 3-O-rutinósido	461.3	365	28.0 \pm 27.6a	29.9 \pm 8.5a
	29.7	Kaemferol	285	365	311.8 \pm 0.0a	10.2 \pm 3.2b
<i>Dihidroflavonoles</i>	1.3	Dihydroquercetina	303	365	102.8 \pm 13.0a	49.9 \pm 4.4b
<i>Flavones</i>	10.9	5,6-Dihidroxi-7,8,3',4'-tetrametoxiflavona	373.1	365	26.1 \pm 0.5a	16.7 \pm 0.0b
	10.9	7,4'-Dihydroxiflavona	253.2	365	38.6 \pm 9.7a	40.9 \pm 0.0a
	33.1	7,3',4'-Trihidroxiflavona	269.1	365	10.5 \pm 0.0a	4.6 \pm 0.0b
<i>Estilbenos</i>	21.6	Dihidroresveratrol	228.9	365	37.6 \pm 19.7a	37.9 \pm 47.1a

Valores están expresados como la media \pm desviación estándar (n=3). Letras diferentes indican diferencia significativa estadísticamente ($P<0.05$) por la prueba de T-student.

7.10. Efecto antiobesogénico del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua 5 min en un modelo *in vivo*

Se evaluó el efecto antiobesogénico del subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con agua durante 5 min en un modelo de obesidad, donde se determinó el peso corporal de los animales y algunas alteraciones asociadas a la obesidad glucosa y triglicéridos en suero, índice HOMA, triglicéridos en hígado, también se evaluó la esteatosis en hígado y la hipertrofia en tejido adiposo.

7.10.1. Peso corporal

La administración de la dieta alta en grasa y fructosa (DGF) aumentó el peso corporal del grupo control obeso hasta un 20% comparado con el grupo control sano alimentado con la dieta estándar (Figura 26). Se ha reportado que una dieta alta en grasa y fructosa presenta un efecto obesogénico (Amaya-Cruz *et al.*, 2015). Los animales que se suplementaron con el subproducto de durazno sin tratamiento y tratado mostraron un menor peso corporal de 11 y 6 %, respectivamente, menos que los animales alimentados con la DGF (control obeso). Aunque no se presentó una diferencia estadísticamente significativa en el peso de los animales suplementados con el subproducto de durazno, se observó una importante reducción en el peso corporal con el subproducto sin tratamiento, se ha reportado que una reducción en el peso corporal de más de 10% tiene un efecto importante fisiológicamente.

Este resultado fue mayor a lo reportado por Amaya-Cruz *et al.*, (2015) quienes observaron una reducción del peso corporal sólo del 5% en animales alimentados con una dieta suplementada con el subproducto de durazno sin tratamiento. La

diferencia puede deberse a una mayor concentración de carbohidratos solubles presentes en dicho subproducto el cual aportó mayor contenido calórico a las dietas. Este mayor efecto antiobesogénico del subproducto de durazno sin tratamiento podría deberse a su mayor contenido de varios PE y PNE, tales como el ácido 4-, 3-cafeoilquínico y 4-feruloilquínico, y kaemferol. Se ha reportado que extractos metanólicos ricos en ácidos cafeoilquínicos entre los que se encuentran los 4-cafeoilquínico y 3-cafeolquínico, kampfferol, disminuyen el peso corporal y la grasa abdominal (Nugroho *et al.*, 2010; Takahashi *et al.*, 2014; Alkahady *et al.*, 2015).

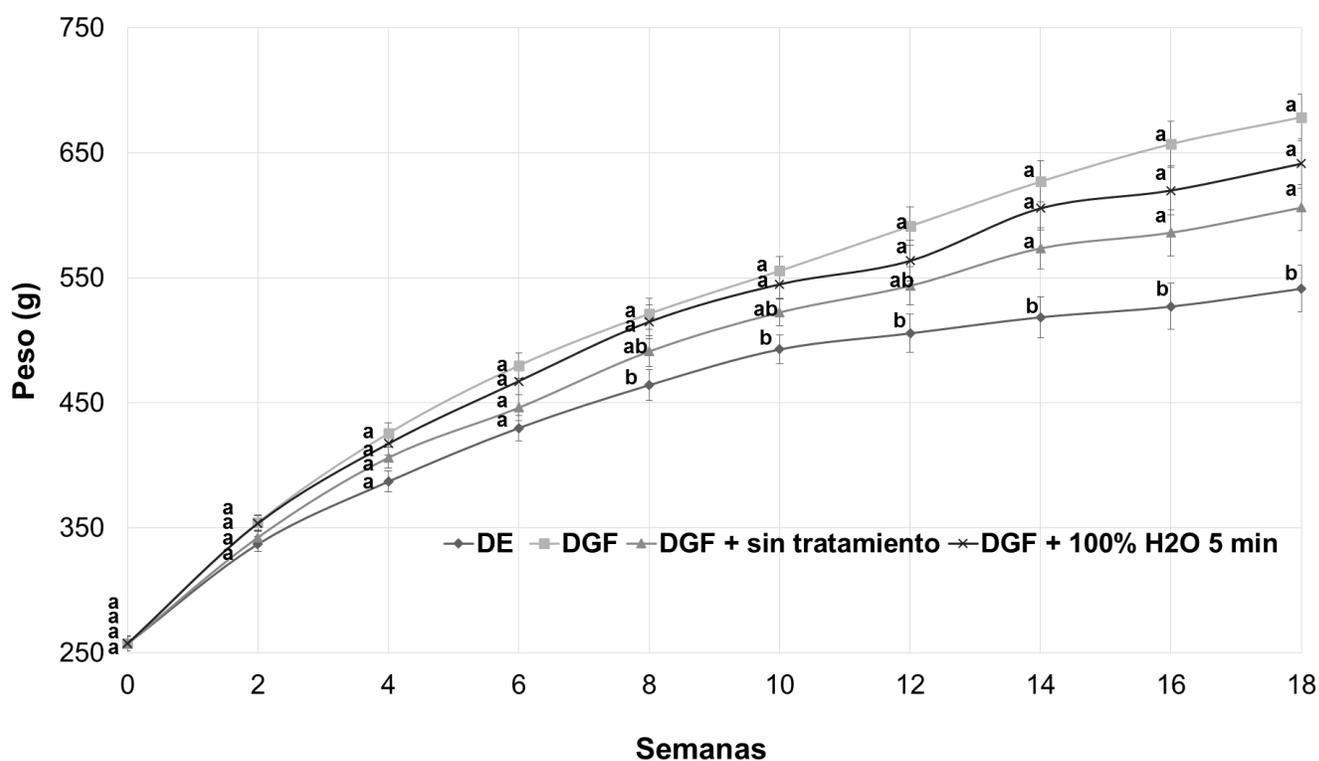


Figura 26. Peso corporal de animales alimentados con una dieta alta en grasa y fructosa y suplementada con subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con 100% H₂O 5 min. DE: Dieta estándar, DGF: Dieta alta en grasa y fructosa. Letra diferentes indican diferencia significativa entre los grupos (Tukey-Kramer $\alpha=0.05$).

El efecto benéfico sobre el peso corporal del subproducto de durazno tratado puede estar relacionado con su contenido de FDI, ya que se ha reportado que pueden ejercer un mayor efecto antiobesogénico comparado con la FDS, lo cual ésta asociado con una aumento en la oxidación de ácidos grasos en el hígado (Isken *et al.*, 2010).

Se ha reportado que en el estómago, la viscosidad de la FDS favorece el atrapamiento de nutrientes como lípidos y glucosa principalmente (Hendrick *et al.*, 1991; Lattimer y Haub, 2010). Durante el proceso de tratamiento con 100% H₂O por 5 min, la concentración de FD total y la FDI incrementaron en un 30% y 66%, mientras que la FDS no presentó cambios significativos respecto al subproducto sin tratamiento. Sin embargo, los resultados de viscosidad y CRA del subproducto de durazno tratado con 100% H₂O 5 min presentaron mayor viscosidad y CRA (Figura 29), así como mayor viscosidad y la CRA de la digesta en el estómago de las ratas suplementadas con este subproducto tratado (Figura 27), que el subproducto sin tratamiento. Estos resultados se relacionan con su mayor cantidad de FD que el subproducto sin tratamiento. Estas propiedades están relacionadas con un mayor efecto de atrapamiento de nutrientes. Sin embargo, esto no se reflejó en el estudio *in vivo*, ya que se observó una menor capacidad de regulación de peso corporal del subproducto de durazno tratado con 100% H₂O 5 min comparado con el subproducto sin tratamiento.

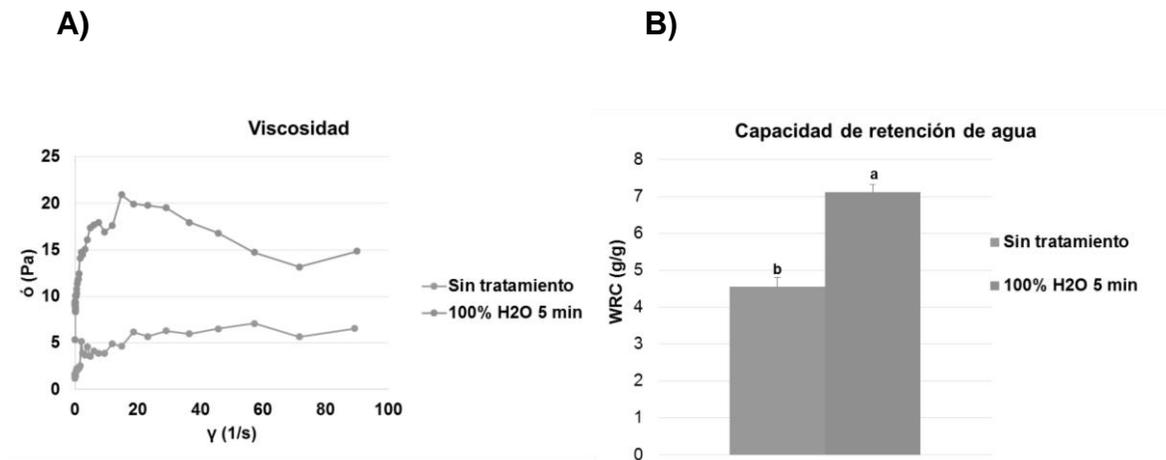


Figura 27. Viscosidad (A) y capacidad de retención de agua (B) del subproducto sin tratamiento y tratado con 100% H₂O 5 min. Letra diferentes indican diferencia significativa entre los grupos (Tukey-Kramer $\alpha=0.05$).

7.10.2. Efecto del subproducto de durazno y tratado con 100% H₂O 5 min en la resistencia a la insulina

Los animales alimentados con la DGF mostraron mayores niveles de glucosa e insulina en suero que los animales alimentados con dieta estándar (112 y 49%, respectivamente) (Cuadro 9). El grupo de animales suplementados con el subproducto sin tratamiento tuvo menores niveles de glucosa en suero comparado con los animales alimentados con la DGF (31%), una reducción similar en estos niveles de glucosa se reportó para el subproducto de durazno sin tratamiento (26%) (Amaya-Cruz *et al.*, 2015). Mientras que, los animales suplementados con el subproducto tratado con 100% H₂O 5 min mostraron solamente un ligero efecto benéfico (14%). Sin embargo, los animales alimentados con dieta suplementada con subproducto sin tratamiento y tratado con 100% H₂O 5 min mostraron niveles

de insulina estadísticamente similares comparados con los animales alimentados con la DGF y dieta estándar.

Estos resultados no se esperaban, al igual que el peso corporal ya que el subproducto tratado con 100% H₂O 5 min presenta una alta cantidad de FD, la cual se ha reportado que tiene la capacidad de atrapar glucosa y lípidos y de esta manera disminuir su absorción en el intestino delgado, además de inhibir algunas enzimas digestivas (Lattimer y Haub, 2010).

Cuadro 9. Parámetros bioquímicos de animales alimentados con una dieta alta en grasa y fructosa suplementada con subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con 100% H₂O 5 min

Parámetro bioquímico	DE	DGF	DGF + sin tratamiento	DGF + 100% H ₂ O 5 min
Glucosa ¹	106.1 ± 9.8c	225.5 ± 8.7a	156.6 ± 13.1bc	194.8 ± 14.5ab
Insulina ²	34.9 ± 1.9b	51.9 ± 1.9a	35.6 ± 4.2ab	45.9 ± 4.6ab
Índice HOMA	10.9 ± 0.4b	28.0 ± 1.1a	12.0 ± 2.5b	22.4 ± 2.8a
Glucógeno ³	29.2 ± 1.2a	12.8 ± 0.4b	29.4 ± 4.3a	24.9 ± 3.1ab
PEPCK ⁴	9.5 ± 4.9c	38.4 ± 1.9a	22.8 ± 3.6bc	31.9 ± 2.3ab
Triglicéridos ¹	83.8 ± 4.2b	161.3 ± 1.1a	93.3 ± 2.1b	133.1 ± 14.5a
Índice TyG	8.7 ± 0.08b	9.5 ± 0.14a	8.8 ± 0.08b	9.4 ± 0.12a

Los valores son reportados como la media ± error estándar (n=8). Los datos son expresados como ¹mg/dL, ²MIU, ³mg/g hígado, ⁴nmol/min/mg proteína. Las medias con la misma letra en cada línea no son diferentes significativamente ($\alpha=0.05$) por la prueba de Tukey. DE: Dieta estándar, DGF: Dieta alta en grasa y fructosa, HOMA: evaluación del modelo homeostático, PEPCK: fosfoenolpiruvato carboxiquinasas.

Los resultados de velocidad máxima de difusión de glucosa determinado en un sistema de diálisis no coinciden con esto, ya que dicha velocidad fue menor en el subproducto tratado con 100% H₂O 5 min, y dicho efecto está relacionado a la FD, que está en mayor concentración en este subproducto. Esta fibra puede atrapar a la glucosa y no permite que esta difunda a través de la membrana de diálisis. Debido a que este efecto no se observó en los estudios *in vivo*, se sugiere que en

el tracto gastrointestinal, la fibra del subproducto tratado podría ser modificada cuando se expone a los diferentes pH o enzimas digestivas, disminuyendo su capacidad de atrapamiento de glucosa y este efecto es mayor en este material por los cambios estructurales que presentó durante el tratamiento con agua.

La razón por la cual el subproducto sin tratamiento tiene mayor efecto hipoglucémico puede deberse a que además de FD, este subproducto tiene mayor concentración de ciertos compuestos que también tienen efecto hipoglucémico, como los ácidos cafeoilquínicos que de manera sinérgica presentan mayor efecto. Se ha reportado que estos ácidos tienen un efecto en la disminución de los niveles de glucosa, ya que mejoran la sensibilidad a la insulina (Pang *et al.*, 2008).

Por otra parte, los compuestos fenólicos y flavonoides inhiben competitivamente la α -amilasa y α -glucosidasa, además también se ha reportado que inhiben al transportador del glucosa dependiente de sodio SGLT1, y al transportador de fructosa GLUT 5 en las células intestinales, y por lo tanto inhiben su absorción (Manzano y Williamson, 2010; Williamson, 2013).

El índice HOMA se determinó para estimar la resistencia a la insulina (Cuadro 9). Los animales alimentados con la DGF mostraron mayor índice HOMA que los animales alimentados con dieta estándar, sugiriendo el desarrollo de resistencia a la insulina (índice HOMA > 13) en este estudio. Los animales suplementados con subproducto sin tratamiento mostraron valores de índice HOMA menores comparados con los animales alimentados con DGF (57%), y valores similares a los animales alimentados con la dieta estándar, mientras que no se encontraron

diferencias significativas en el grupo suplementado con el subproducto tratado y el grupo alimentado con la DGF.

El índice de triglicéridos y glucosa (TyG) es otro parámetro usado también para estimar la resistencia a la insulina, el cual incluye los niveles de TG y glucosa en suero (Unger *et al.*, 2014). Los animales alimentados con la DGF mostraron mayores valores del índice TyG comparados con los alimentados con dieta estándar (9%) y solamente se redujo significativamente en los animales suplementado con el subproducto sin tratamiento (Cuadro 10), esto podría deberse al su mayor contenido de compuestos fenólicos. Se ha reportado que un extracto etanólico rico en compuestos fenólicos del durazno tienen cierto efecto en la homeostasis de glucosa ya que este estimula su consumo por la célula mediante la vía PPAR- γ (Ju-Shin *et al.*, 2013). Un efecto similar fue reportado para jugo de durazno, en el cual los compuestos fenólicos se podrían regular positivamente a PPAR γ para mejorar la sensibilidad de glucosa (Noratto *et al.*, 2015).

La hiperglicemia relacionada a obesidad es consecuencia principalmente del desarrollo de resistencia a la insulina en hígado, la cual se caracteriza por una alta gluconeogénesis y una baja glucogénesis (Luna, 1968; Varman *et al.*, 2004). Por lo tanto, se determinó la actividad de PEPCK y contenido de glucógeno (Cuadro 9). Los animales alimentados con la DGF mostraron menor contenido de glucógeno hepático y mayor actividad de PEPCK que los animales alimentados con la dieta estándar (56 y 41%, respectivamente). La suplementación con subproducto sin tratamiento produjo alto contenido de glucógeno hepático baja actividad de PEPCK comparado con los animales alimentados con la DGF (129 y 68%, respectivamente),

mostrando valores similares estadísticamente que el grupo alimentado con dieta estándar.

El subproducto de durazno sin tratamiento produjo mayor efecto benéfico que el subproducto de durazno tratado, a pesar de que este último tienen mayor contenido de FDI, la cual está reportado que mejora la sensibilidad a la insulina en ratas alimentadas con una dieta alta en grasa (Isken *et al.*, 2010). Noratto *et al.*, (2015) reportaron que ratas Zucker alimentadas con jugo de durazno rico en polifenoles disminuye los niveles de glucosa en suero mejorando la resistencia a la insulina. El efecto benéfico del subproducto de durazno sin tratamiento en resistencia a la insulina puede estar relacionado a su alto contenido de varios PE y PNE.

Los ácidos cafeoilquínicos, los compuestos fenólicos mayoritarios del subproducto de durazno sin tratamiento, disminuyeron los niveles de glucosa en sangre en ratones con diabetes inducida mediante la disminución de los niveles de expresión de PEPCK (Wu *et al.*, 2014). Además, se reporta que el efecto antihiperglucémico del café está asociado a su alto contenido de los ácidos 3, y 4 cafeoilquínico y 4-feruloilquinico, los cuales fueron los PE mayoritarios encontrados en el subproducto de durazno sin tratamiento (Takahashi *et al.*, 2014).

7.10.3. Efecto del subproducto de durazno y tratado con 100% H₂O 5 min en triglicéridos en suero y heces y digestibilidad de la dieta

Los niveles de TAG en los animales alimentados con la DGF fueron mayores que en aquellos alimentados con la dieta estándar (92%). Interesantemente, la suplementación con subproducto sin tratamiento disminuyó los niveles de TAG en

suero comparado con el grupo alimentado con la DGF (73%), mostrando valores similares a los del grupo alimentado con la dieta estándar, mientras que no se observó efecto benéfico en el grupo suplementado con el subproducto tratado (Cuadro 9).

El efecto hipotriglicéridémico del subproducto sin tratamiento puede estar asociado a la disminución de absorción de grasa. Por lo tanto, se evaluó el contenido de TAG en heces y la digestibilidad de la dieta. El grupo alimentado con la DGF mostró mayor contenido de TAG en heces comparado con el grupo alimentado con la dieta estándar (27%) (Figura 28), el cual está relacionado con el alto contenido de grasa en la dieta, y el contenido de TAG en heces incrementó solamente con la suplementación con subproducto sin tratamiento comparado con el grupo alimentado con la DGF (44%).

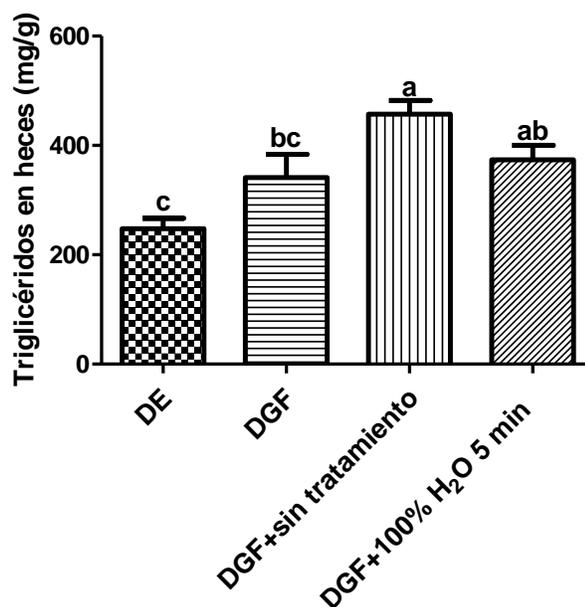


Figura 28. Contenido de triglicéridos en heces de animales alimentados con una dieta alta en grasa y fructosa suplementada con subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con 100% H₂O 5 min. DE: Dieta estándar, DGF:

Dieta alta en grasa y fructosa. Letras diferentes indican diferencia significativa entre los grupos (Tukey-Kramer $\alpha=0.05$).

Estos resultados sugieren que el subproducto de durazno sin tratamiento tiene mejor efecto en la inhibición de absorción de grasa en el intestino que el subproducto tratado; por lo tanto, el primer subproducto mostró una mayor excreción de TAG en heces, a pesar de que está reportado que la FDI, la cual se encuentra en mayor cantidad en el subproducto tratado, tiene ligero efecto en la absorción intestinal de macronutrientes (Lattimer & Haud, 2010). Por lo tanto, el efecto benéfico del subproducto sin tratamiento en la excreción de TAG puede estar relacionado a su alto contenido de compuestos fenólicos como ácidos cafeoilquínicos, los cuales están reportados que inhiben competitivamente la lipasa pancreática, una enzima que hidroliza los TAG de la dieta para que puedan ser absorbidos en el intestino delgado (Hu *et al.*, 2015).

Por otra parte, la digestibilidad de la dieta puede ser usada para estimar la absorción de carbohidratos y lípidos. Los animales alimentados con la dieta estándar mostraron una digestibilidad de dieta de 84.5%, mientras que, los animales alimentados con la DGF mostraron una mayor digestibilidad significativamente (96.6%), la cual disminuyó significativamente con la suplementación con el subproducto de durazno sin tratamiento y tratado (86.7 y 88.2%, respectivamente), mostrando valores similares a los animales alimentados con la dieta estándar (Figura 29). Estos resultados sugieren que ambos subproductos, sin tratamiento y tratado, pueden reducir la absorción de carbohidratos y grasa, lo cual puede estar relacionado con su alto contenido de compuestos fenólicos y DFI, respectivamente. Además, ambos subproductos mostraron contenido similar de DFS, la cual esta

reportado que incrementa la viscosidad en el intestino y promueve el atrapamiento de glucosa y grasa, disminuyendo así su absorción en el intestino (Hu *et al.*, 2015).

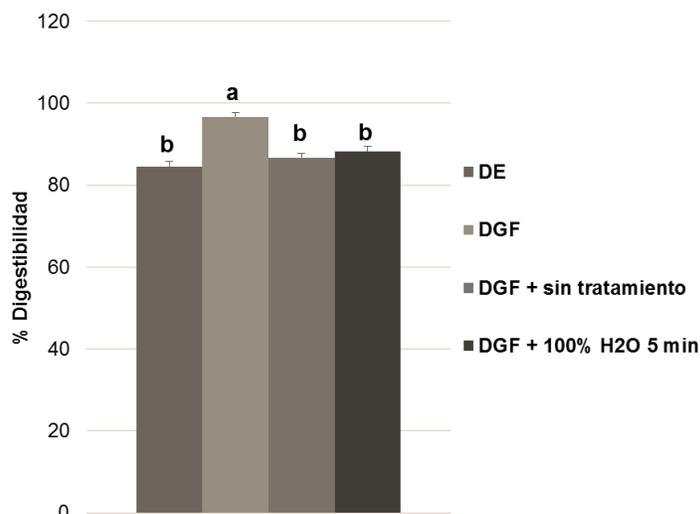


Figura 29. Digestibilidad de las dietas de animales alimentados con una dieta alta en grasa y fructosa y suplementada con subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con 100% H₂O 5 min. DE: Dieta estándar, DGF: Dieta alta en grasa y fructosa. Letras diferentes indican diferencia significativa entre los grupos (Tukey-Kramer $\alpha=0.05$).

Los animales alimentados con dietas suplementadas con subproducto sin tratamiento mostraron mayor contenido de TAG en heces comparado con los animales suplementados con el subproducto tratado. Por lo tanto, la baja digestibilidad de la dieta en el grupo suplementado con el subproducto tratado podría no estar relacionado con la reducción de la absorción intestinal de TAG, mientras que el efecto benéfico del subproducto sin tratamiento en la digestibilidad de la dieta puede estar relacionada a una reducción de la absorción de glucosa y TAG en el intestino. Se ha reportado que el ácido 3-cafeoilquínico inhibe la actividad de la α -amilasa y α -glucosidasa, y consecuentemente disminuye la absorción de glucosa del almidón (Funke & Melzig, 2005; Oboh *et al.*, 2015). El consumo del té

de Kuding disminuye la absorción de glucosa *in vitro* y este efecto se asoció con su contenido de ácido cafeoilquínico, *p*-cumaroilquínico y feruloilquínico (Wang *et al.*, 2008).

7.10.4. Efecto del subproducto de durazno y tratado con 100% H₂O 5 min en esteatosis hepática

La esteatosis hepática se midió a través de análisis de histología (Figura 30 A) además se cuantificó el contenido de TAG en hígado (Figura 30 B). El hígado de los animales alimentados con una dieta estándar mostraron hepatocitos normales morfológicamente (Figura 30 A-a), mientras que en los animales alimentados con la DGF se observó una excesiva acumulación de vacuolas de lípidos dentro de los hepatocitos (Figura 30 A-b), mostrando un grado 3 de esteatosis hepática. Los hígados del grupo alimentado con la DGF mostraron un mayor contenido de TAG comparado con el que fue alimentado con la dieta estándar (170%) (Figure 30 B).

La suplementación de ambos subproductos, sin tratamiento y tratado con 100% H₂O 5 min atenuaron la esteatosis hepática ya que se observó una menor acumulación de vacuolas de lípidos dentro de los hepatocitos (Figura 30 A-c y d, respectivamente), mostrando un menor grado de esteatosis hepática de 1 y 2, respectivamente. Además, ambos subproductos disminuyeron significativamente el contenido de TAG en hígado comparado con grupo alimentado con la DGF (26-50%), teniendo el mejor efecto benéfico el grupo suplementado con subproducto sin tratamiento (Figura 30 B).

El efecto benéfico observado anteriormente podría ser debido a la disminución de la lipogénesis hepática y una β -oxidación de ácidos grasos

aumentada (Ou *et al.*, 2011; Lin *et al.*, 2012), por esta razón se evaluó la expresión de genes relacionados con lipogénesis (Fasn y Srebp1) (Figure 31 A) y β -oxidación (Cpt1a y Acadm) (Figure 31 B). Los animales alimentados con la DGF mostraron una mayor expresión hepática de Fasn and Srebp1 comparados con aquellos animales alimentados con la dieta estándar (2.4 y 1.8 veces, respectivamente) y una disminuida expresión de Cpt1 y Acadm (0.6 y 0.1 veces, respectivamente).

Interesantemente, la suplementación con ambos subproductos disminuyeron la lipogénesis hepática ya que se observó una reducción en la expresión de los genes Fasn y Srebp 1 (30-54 y 60-86%, respectivamente), y el subproducto sin tratamiento mostró el mayor efecto benéfico. Por otra parte, la expresión de Cpt1a en hígado de animales suplementados con subproducto sin tratamiento incrementó un 83% y un 65% en los animales suplementados con el subproducto tratado, mientras que la expresión de Acadm no se moduló con ningún tratamiento.

Estos resultados sugieren que la mejora de le esteatosis en hígado con la suplementación con ambos subproductos está relacionada con la disminución de la lipogénesis y el incremento de la β -oxidación de ácidos grasos en hígado. El efecto benéfico del subproducto sin tratamiento en la esteatosis hepática puede estar relacionada con su alto contenido de ácidos cafeoilquínicos, ya que se ha reportado que un extracto de la fruta *Pandanus tectorius* rico en ácido cafeoilquínico disminuyó la expresión hepática de Srebp1 y Fasn, e incrementó Cpt1 vía activación de AMPK y PPAR α en hamsters alimentados con una dieta alta en grasa (Zhang *et al.*, 2013). Además, el subproducto sin tratamiento presentó un alto contenido de kaemferol en el extracto de PNE, el cual se ha reportado que incrementa la β -oxidación de ácidos grasos vía AMPK y PPAR α (Alkahady *et al.*, 2015).

Por otro lado, la FD puede modular el contenido de lípidos en hígado en obesidad. Isken *et al.* (2010) reportaron que la fibra insoluble (cereal) tienen mejor efecto en la disminución del contenido de TAG hepáticos que la fibra soluble (goma guar) debido a que la fibra insoluble aumenta la expresión de genes de β -oxidación de ácidos grasos tales como PPAR- α y CPT-1.

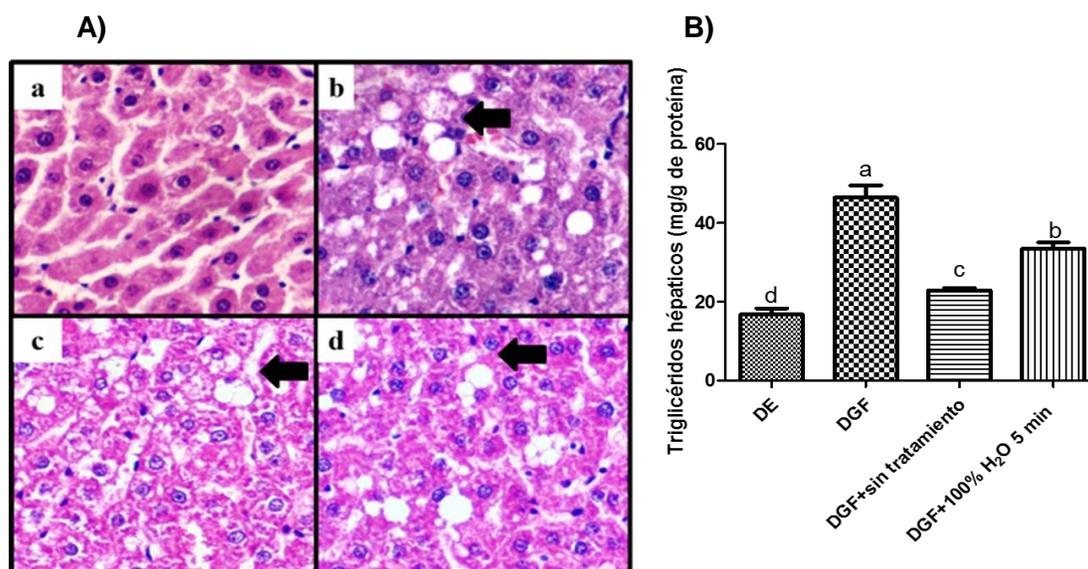


Figura 30. A) Histología y contenido de triglicéridos en hígado de animales alimentados con DE (a), DGF (b), DGF+sin tratamiento (c), DGF+100% H₂O 5 min (d). B) Triglicéridos hepáticos. Las flechas negras indican vacuolas de grasa. DE: Dieta estándar, DGF: Dieta alta en grasa y fructosa. Letras diferentes indican diferencia significativa entre los grupos (Tukey-Kramer $\alpha=0.05$).

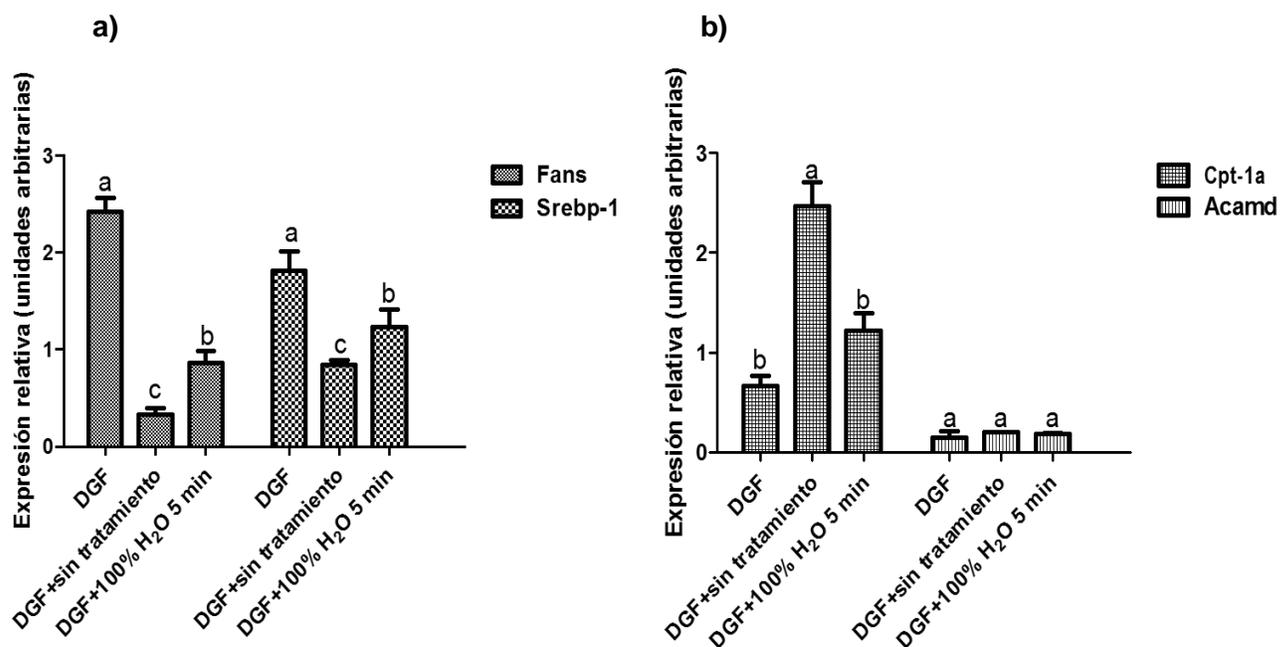


Figura 31. Expresión relativa de genes de lipogénesis y β -oxidación en hígado de animales alimentados con una dieta alta en grasa y fructosa suplementada con subproducto de durazno sin tratamiento y tratado con 100% H₂O 5 min. DE: Dieta estándar, DGF: Dieta alta en grasa y fructosa. Letras diferentes indican diferencia significativa entre los grupos (Tukey-Kramer $\alpha=0.05$).

7.11. Propiedades fisicoquímicas de la digesta y biodisponibilidad de compuestos fenólicos de animales alimentados con subproductos de durazno

7.11.1. Consumo de alimento y propiedades fisicoquímicas de la digesta

Los animales se alimentaron con una dieta estándar, dieta suplementada con subproducto sin tratar y subproducto tratado con 100% H₂O y 20% EtOH durante 5 min. No se observó efecto significativo en el consumo de alimento con la suplementación de subproducto sin tratamiento y subproducto tratado (Figura 32-A). Sin embargo, si se observó una ligera disminución en el consumo de alimento

en los animales alimentados con el subproducto tratado con 100% H₂O por 5 min comparado con los animales alimentados con la dieta estándar (14%).

Además, las ratas alimentadas con 100% H₂O por 5 min mostraron una reducción significativa en el peso de la digesta comparadas con las ratas alimentadas con la dieta estándar (26%) (Figura 32-B). Esta reducción del peso de la digesta está asociada con la absorción de agua de la FDS, provocando sensación de saciedad, aumento del tiempo de tránsito y disminuyendo la tasa de absorción de nutrientes (Kristensen y Jesen, 2011). Sin embargo, no se observó una asociación entre el peso de la digesta, el contenido de FD y los valores de CRA y CRAc *in vitro*. No obstante, el subproducto de durazno tratado con 100% H₂O por 5 min mostró una alta porosidad, la cual está relacionada con un alto atrapamiento de agua y nutrientes, incrementando el peso de la digesta (López *et al.*, 1996).

Respecto a la viscosidad, las ratas alimentadas con subproducto sin tratamiento y tratado con 100% H₂O por 5 min mostraron significativamente mayor viscosidad del contenido estomacal e intestinal que las ratas alimentadas con la dieta estándar (1.4-1.5 veces), mientras que las ratas alimentadas con subproducto tratado con 20% EtOH por 5 min tuvieron valores menores de viscosidad (1.5 veces) (Figura 33-A).

En cuanto a la CRA de la digesta estomacal, las ratas suplementadas con subproducto tratado con 100% H₂O por 5 min presentaron valores mayores comparado con los animales alimentados con la dieta estándar (2.3 veces), mientras que no se observó diferencia significativa en la CRA del intestino delgado (Figura

33-B). Estos resultados sugieren que el aumento del peso de la digesta gastrointestinal con el subproducto tratado con 100% H₂O por 5 min está parcialmente asociado con una alta viscosidad intestinal y CRA.

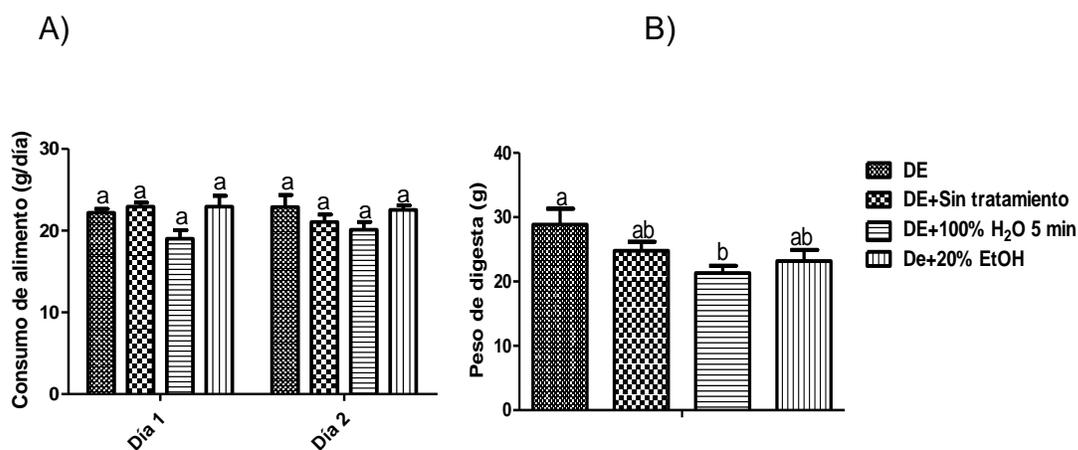


Figure 32. A) Consumo de alimento y B) Peso de la digesta gastrointestinal de ratas alimentadas con dieta estándar (DE), DE+sin tratamiento, DE+100% H₂O 5 min y DE+20% EtOH 5 min. DE: Dieta estándar. Los valores se expresaron como la media ± desviación estándar, letras diferentes indican diferencia significativa estadísticamente ($P \leq 0.05$) por la prueba de Tukey. DE: Dieta estándar.

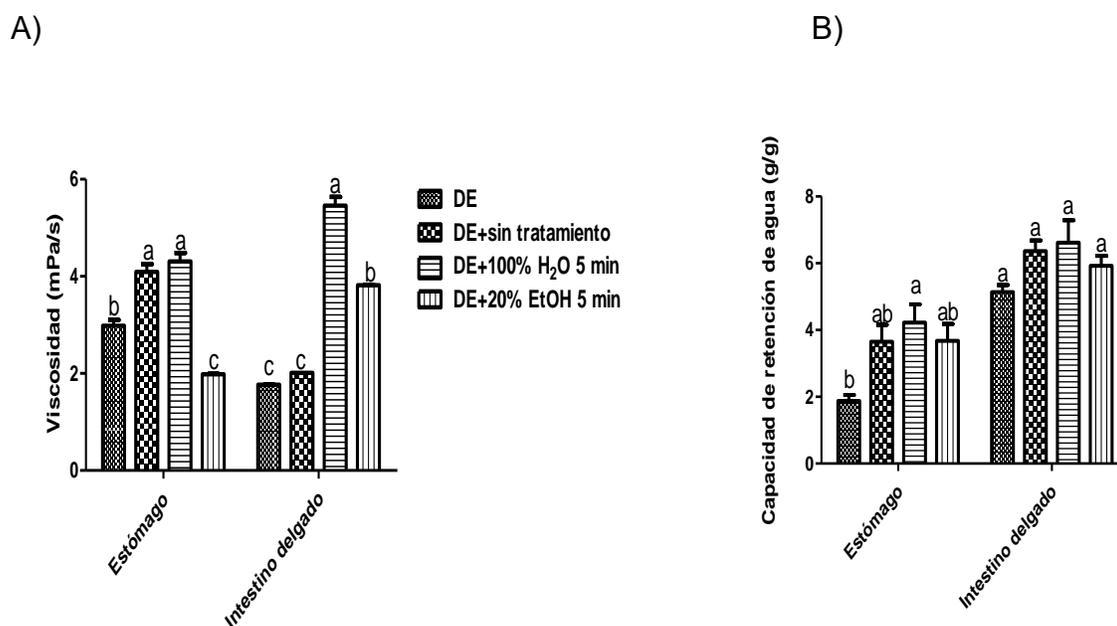


Figure 33. A) Viscosidad y B) capacidad de retención de agua de la digesta del

estómago y del intestino delgado de ratas alimentadas con DE, DE+sin tratamiento, DE+100% H₂O 5 min y DE+20% EtOH durante 5 min. DE: Dieta estándar. Los valores se expresaron como la media \pm SD, valores con diferente letras en las barras indican diferencia significativa estadísticamente ($P \leq 0.05$) por la prueba de Tukey.

7.11.2. Biodisponibilidad de polifenoles

Se identificaron 44 polifenoles en la orina, específicamente 18 ácidos cinámicos y sus derivados, 6 ácidos benzoicos y sus derivados, 12 flavonoides y derivados, 1 ácido fenilacético, 1 ácido fenilpropiónico, 1 lignina y 5 valerolactonas (Cuadro 10).

En la orina de ratas alimentadas con la dieta estándar sólo se encontraron 9 metabolitos, los cuales incrementaron con todos los tratamientos. El subproducto sin tratamiento incrementó principalmente la excreción de ácido sulfa-3,4-dihidroxifenilacético y ácido *p*-cumárico comparado con las ratas alimentadas con la dieta estándar. Además, se identificaron 5 metabolitos (ácido caféico, isovanílico, feruloil hexixosida, rutina y 3,4-dihidrovalerolactona) en la orina en estas ratas que no fueron identificados en las ratas alimentadas con la dieta estándar. Estos resultados sugieren que estos últimos metabolitos son derivados de polifenoles del subproducto de durazno. El ácido caféico y la rutina fueron los mayoritarios identificados en el subproducto de durazno.

El subproducto tratado con 100% H₂O for 5 min incrementó la excreción de más metabolitos identificados en las ratas alimentadas con el subproducto de durazno (0.11-10.74 veces); mientras que las ratas que se alimentaron con 20% EtOH sólo

aumentó la excreción de los ácidos *p*-cumárico, isovanílico, 3,4-dihidroxibenzoico sulfatado y 3-hidroxifenilpropionico (0.11-1.25 veces).

Se identificaron una gran cantidad de metabolitos en ratas alimentadas con los subproductos tratados. El ácido 3,4-dicafeoilquínico fue excretado sólo en ratas suplementadas con los dos subproductos tratados, sugiriendo una buena biodisponibilidad de estos compuestos después de los tratamientos con agua/etanol.

En las ratas suplementadas con subproducto tratado con 100% H₂O, se identificaron veintinueve metabolitos. Este tratamiento aumentó la porosidad de la FD, lo cual pudo haber mejorado la biodisponibilidad de los polifenoles no extraíbles que están ligados a la matriz de la FD, los cuales pueden absorberse intactos en el colon, o pueden ser metabolizados por la microbiota colónica y estos metabolitos pueden ser absorbidos completamente (Saura-Calixto, 2011).

Los ácidos cafeoilquínicos fueron los polifenoles mayoritarios identificados en el subproducto de durazno sin tratamiento, los cuales se han identificado intactos en orina, así como los hidroxicinamatos conjugados y no conjugados (Farah *et al.*, 2008).

Las ratas suplementadas con el subproducto tratado con los dos tratamientos mostraron una alta excreción de ácido 4-cafeoilquínico; en las ratas suplementadas con el subproducto tratado con 100% H₂O, se observó una ligera mayor excreción. Además, el ácido 3,4-di-*O*-cafeoilquínico fue excretado solamente en las ratas suplementadas con los subproductos tratados con ambos tratamientos, siendo

mayor la excreción en los animales alimentados con el subproducto tratado con 100% H₂O; mientras que, el ácido cafeoilquínico fue excretado sólo en ratas suplementadas con subproducto tratado con 100% H₂O. Interesantemente, los ácidos 1,5- y 4,5- di-O-cafeoilquínicos fueron identificados en el subproducto sin tratamiento y el subproducto tratado pero no como metabolito en orina. Contrariamente, el ácido 1,5-di-O-cafeoilquínico se ha identificado en orina después de 12 h de su administración oral (Yang *et al.*, 2005).

El ácido 5-O-cafeoilquínico tiene una muy buena absorción y un lento metabolismo por el hígado y tejido adiposo, que el 4-O-cafeoilquínico (Monteiro *et al.*, 2007). El subproducto sin tratamiento y el tratado con ambos solventes mostraron un alto contenido de ácido 4- y 5-O-cafeoilquínico; sin embargo, sólo las ratas suplementadas con el subproducto tratado mostraron excreción de ambos ácidos cafeoilquínicos en la orina, sugiriendo, que la modificación de la matriz de la FD con los tratamientos con agua/etanol afectaron su biodisponibilidad.

Los ácidos cafeoilquínicos son hidrolizados en ácidos quínico y caféico, y este último podría ser hidrogenado completamente en ácido dihidrocaféico. El ácido quínico es metabolizado completamente en ácido gálico, el cual es convertido en ácido *p*-hidrocaféico o ácido siringico, y este último es metabolizado en ácido vanílico. Los ácidos caféico y dihidrocaféico son metabolizados completamente en ácido *p*-cumárico, ferúlico, y sináptico (Kristesen y Jesen, 2011). En este estudio, sólo se identificaron tres metabolitos de esta ruta metabólica; ácido caféico, *p*-cumárico y gálico, los cuales se encontraron en grandes cantidades en las ratas suplementadas

con el subproducto tratado con 100% H₂O. Esos metabolitos son posiblemente formados en el lumen intestinal, mucosa o hígado (Kern *et al.*, 2003).

Por otra parte, rutina (quercetina 3-O-rutinoside) fue el flavonoide mayoritario identificado en el subproducto sin tratamiento y en el tratado. La quercetina y sus derivados son absorbidos principalmente en el estómago y en la parte superior del duodeno, por eso se observa su rápida detección en el plasma. Sin embargo, la rutina es absorbida desde la parte distal del intestino delgado y colon (Erlund, 2004). Interesantemente, tanto la quercetina como la rutina se han identificado en plasma después del consumo de la rutina (Erlund, 2004), así como la quercetina aglicona y sus conjugados de ácido glucurónico y grupos sulfatos (Crespa *et al.*, 1999). En este estudio, sólo la quercetina glucuronidada se identificó en ratas alimentadas con una dieta suplementadas con el subproducto tratado con 100% H₂O. La ausencia de otros metabolitos derivados de rutina podrían estar relacionados con su alta excreción en la bilis (Rice-Evans *et al.*, 2000).

Respecto a la hesperidina, se ha reportado que esta flavanona tiene biodisponibilidad limitada y debe estar desglucosilada para su absorción. La hesperidina es metabolizada a hespetina por la microbiota colónica y es absorbida por difusión pasiva y activa. En este estudio la neohesperidina se identificó como el segundo flavonoide mayoritario del subproducto sin tratamiento y tratado, obteniendo la mejor cantidad en el subproducto tratado con 20% EtOH. Interesantemente, hesperidina se identificó solamente en la orina de las ratas suplementadas con el subproducto tratado con 100% H₂O, sugiriendo un

mejoramiento de la biodisponibilidad de neohesperidina por la modificación de la porosidad de la matriz de la FD.

Por otra parte, se identificaron varios metabolitos derivados de flavonoles y flavanoles. Flavonoles como rutina, así como flavanoles pueden ser metabolizados por la microbiota colónica, formando derivados del ácido fenilacético, y fenilpropiónico en una dieta de flavonoides (Hollman y Katan, 1999). En este estudio se identificaron los ácidos 3-hidroxifenilpropionico y 3,4-dihidroxyfenilacético sulfatado en todos los grupos de animales, encontrando mayor cantidad en ratas suplementadas con subproducto tratado con 100% H₂O.

Se identificaron varios metabolitos derivados del metabolismo de catequinas por la microbiota colónica (Unno *et al.*, 2003; Choy y Waterhouse, 2014), sólo en la orina de ratas suplementadas con el subproducto tratado con 100% H₂O, tales como valerolactonas, así como el ácido metil-hipurico, 3,4-dihidroxibenzoico sulfatado y epigalocatequina galato metil-glucuronido-sulfatado y galocatequina galato. Interesantemente, un bajo contenido de catequina, epicatequina, galocatequina y epicatequina galato se encontraron en subproducto sin tratamiento y tratado. Estos resultados sugieren un incremento de la biodisponibilidad de flavanoles con el tratamiento con agua en el subproducto.

Cuadro 10. Identificación de metabolitos de polifenoles en la orina de ratas alimentadas con una dieta estándar y dieta estándar suplementada con subproducto de durazno obtenido con 100% H₂O o 20% EtOH por 5 min.

Metabolitos	Fórmula Molecular	TR (min)	Observada m/z	Dieta estándar	Dieta estándar + subproducto sin tratamiento	Standard dieta + subproducto tratado con 100% H ₂ O	Standard dieta + subproducto tratado con 20% EtOH
Ácidos cinámicos							
Ácido dihidroferúlico	C ₁₀ H ₁₂ O ₄	0.6733	194.9914	ND	ND	422 ± 21	ND
Ácido caféico 3-O-glucuronido	C ₁₅ H ₁₆ O ₁₀	2.5189	55.0669	ND	ND	220 ± 48	ND
Ácido 4-cafeoilquinico	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	2.5430	353.0883	ND	58 ± 18a	180 ± 94a	131 ± 26a
Ácido caféico 4-O-glucuronido	C ₁₅ H ₁₆ O ₁₀	3.1480	355.0675	ND	ND	464 ± 156	ND
Feruloil C1-glucuronido	C ₁₆ H ₁₈ O ₁₀	3.4172	355.0675	ND	ND	252 ± 38	ND
Ácido cáfeico	C ₉ H ₈ O ₄	3.5024	179.0355	49 ± 12c	72 ± 14bc	196 ± 27a	114 ± 16b
Cafeoil C1-glucuronido	C ₁₅ H ₁₆ O ₁₀	3.7863	355.0675	87 ± 13b	124 ± 20b	337 ± 63a	143 ± 41b
Ácido p-cumárico	C ₉ H ₈ O ₃	3.9281	163.0403	1027 ± 297c	2431 ± 315c	11296 ± 712a	5383 ± 929b
Ácido ferúlico 4-O-glucuronido	C ₁₆ H ₁₈ O ₁₀	4.3680	269.0824	ND	ND	129 ± 38	ND
Ácido cumárico sulfatado	C ₉ H ₇ O ₆	4.5427	242.9944	ND	ND	20255 ± 1129	ND
Ácido trans-cinámico	C ₉ H ₈ O ₂	4.6800	147.0457	ND	ND	252 ± 81	ND
Ácido caféico 4-sulfato	C ₉ H ₈ O ₇ S	4.8902	355.0678	ND	ND	1097 ± 156	ND
Ácido 5-cafeoilquinico	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	4.9177	353.0876	ND	ND	1161 ± 158	ND
Ácido 3,4-dicafeoilquinico	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	5.1511	515.1235	ND	ND	359 ± 87a	101 ± 28b
Ácido caféico 3-sulfato	C ₉ H ₈ O ₇ S	5.2197	258.9919	ND	ND	4429 ± 2957	ND
Ácido fertárico	C ₁₄ H ₁₄ O ₉	5.3984	325.0941	ND	ND	352 ± 20	ND
Ácido trans-caftárico	C ₁₃ H ₁₂ O ₉	5.6607	310.9942	ND	ND	229 ± 19	ND
Feruloil hexosido	C ₁₆ H ₂₀ O ₉	6.3162	354.9894	ND	58 ± 23b	27670 ± 4026a	75±7b
Ácidos benzoicos							
Ácido Vanílico	C ₉ H ₁₀ O ₄	2.4881	181.0512	ND	87 ± 10b	ND	122 ± 10a
Ácido salicílico	C ₇ H ₆ O ₃	2.6335	137.0248	224 ± 97b	809 ± 24a	1011 ± 127a	898 ± 86a
Ácido elágico pentosido	C ₁₉ H ₁₄ O ₁₂	4.9125	432.9915	ND	ND	333 ± 29	ND
Ácido gálico	C ₇ H ₆ O ₅	5.8776	169.0157	280 ± 126b	511 ± 42b	1404 ± 380a	302 ± 380b

Ácido dihidroxibenzoico 3,4-sulfatado	C ₇ H ₆ O ₄ S	6.3070	232.9948	300 ± 23b	1064 ± 131b	10652 ± 1358a	1646 ± 169b
Ácido elágico acetil pentosido	C ₂₁ H ₁₆ O ₁₃	8.8736	474.9909	ND	ND	385 ± 64	ND
Flavanoles							
EC-sulfatado glucuronido (epi)cat-etil-(epi)cat	C ₂₂ H ₂₅ O ₁₄ S	5.2594	543.9882	ND	ND	649 ± 154	ND
EGC Metil-glucuronido-sulfatado	C ₂₀ H ₁₅ O ₁₈ S	6.4615	605.0928	ND	ND	219 ± 58	ND
GC Metil-glucuronido-sulfatado	C ₂₀ H ₁₅ O ₁₈ S	7.8430	574.9952	ND	ND	179 ± 14	ND
GC Metil-glucuronido-sulfatado	C ₂₇ H ₁₁ O ₁₃ S	13.4630	574.9921	ND	ND	122 ± 4	ND
Flavonoles							
Kamferol 7-O-hexosido	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₁	3.6243	446.9934	ND	ND	364467 ± 82574	ND
Miricetina glucuronido	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₄	4.8709	494.1962	ND	ND	186 ± 29	ND
Quercetina hexosido	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₂	5.9812	462.9926	ND	ND	456 ± 45	ND
Quercetina glucuronido	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₃	8.2114	477.0681	ND	ND	384 ± 19	ND
Rutina	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	3.8451	609.1472	ND	202 ± 13b	2372 ± 186a	401 ± 125b
Flavononoles							
Astilbina	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	1.2900	449.0889	ND	ND	748 ± 114	ND
Flavanones							
Ácido hipúrico	C ₉ H ₉ NO ₃	5.5715	192.993	ND	ND	118 ± 14	ND
Hesperetina	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	6.7739	301.2711	ND	ND	990 ± 105	ND
Ácidos fenilacéticos							
Ácido dihidroxifenilacético 3,4-sulfatado	C ₈ H ₈ O ₇ S	2.3157	246.9918	2830 ± 340b	6500 ± 115b	11457 ± 2096a	5486 ± 1690b
Ácidos fenilpropiónicos							
Ácido 3-hidroxifenilpropiónico	C ₉ H ₁₀ O ₃	4.3047	165.0561	225 ± 113c	658 ± 183c	2441 ± 158a	1164 ± 153b
Lignanós							
Enterolactona	C ₁₈ H ₁₈ O ₄	6.0316	297.1137	128 ± 10c	656 ± 24a	732 ± 130a	418 ± 67b
Valerolactonas							
3-Hidroxifenilmetil valerolactona	C ₁₄ H ₁₈ O ₁₂	4.6223	220.9943	ND	ND	128 ± 13	ND
3,4-Dihidroxifenil valerolactona	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	4.6948	207.0668	ND	32 ± 4b	170 ± 45b	ND
3-Hidroximetilfenil valerolactona glucuronido	C ₂₀ H ₂₆ O ₆	7.1742	396.9907	ND	ND	205 ± 31	ND
3,4-Dihidroxifenil valerolactona glucuronido	C ₁₇ H ₂₀ O ₁₀	7.2342	382.9893	ND	ND	106 ± 41	ND

4-Hidroximetilfenil valerolactona glucuronido	$C_{20}H_{26}O_6$	8.0608	396.9909	ND	ND	229 ± 34	ND
--	-------------------	--------	----------	----	----	----------	----

Los valores (n=5) se expresaron como la media ± desviación estándar. Letras diferentes en las líneas indican diferencia significativa estadísticamente entre los diferentes grupos, analizados por la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$). EtOH: Etanol; ND: no detectado. EGC: Epigallocatequina; GC: Galocatequina; EC: Epicatequina.

8. Conclusiones

El tratamiento con 100% H₂O por 5 min representa un proceso alternativo sustentable y simple para concentrar FD, reduce carbohidratos simples y mejorar las propiedades fisicoquímicas de la FD. Estos resultados demostraron el potencial de este subproducto como un ingrediente funcional en tecnología alimentaria.

Las mejoras del subproducto fueron asociados con los cambios en la morfología de este, así como el aumento de la porosidad de la FD, promoviendo la liberación de polifenoles no extraíbles unidos a la DF para su absorción completa en el intestino y una alta viscosidad en el intestino y por lo tanto, mayor peso de la digesta. Esto demuestra una mayor biodisponibilidad de los polifenoles del subproducto tratado.

El subproducto de durazno sin tratamiento mostró mayor efecto hipoglucémico, hipotriglicéridémico y mejoró la esteatosis hepática asociada a obesidad que el subproducto tratado. Esto puede estar relacionado a la disminución de la absorción de glucosa y grasa del subproducto sin tratamiento, así como una menor gluconeogénesis y lipogénesis, y una mayor β -oxidación de ácidos grasos. Esto a pesar de las mejoras en las propiedades fisicoquímicas en el subproducto con el tratamiento. Estos beneficios del subproducto sin tratamiento pueden estar asociados a polifenoles no extraíbles o a otro tipo de compuestos no determinados en este estudio.

Debido al gran efecto del subproducto sin tratamiento, este podría usarse como un suplemento para la obesidad y sus complicaciones.

9. Bibliografía

- Ajila, C. M., Naidu, K. A., Bhat, U. J. S., Prasada, R. 2007. Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. *Journal of Food Chemistry*. 105:982-988.
- Alcobendas, R., Mirás-Avalos, José M., Alarcon, J.J., Nicolás, E. 2013. Effects of irrigation and fruit position on size, colour, firmness and sugar contents of fruits in a mid-late maturing peach cultivar. *Scientia Horticulturae*. 164:340-347.
- Alkahady, H., Moore, W., Zhang, Y., McMillan, R., Wang, A., Ali, M., Suh, K. S., Zhen, W., Cheng, Z., Jia, Z., Hulver, M., Liu, D. 2015. Small Molecule Kaempferol Promotes Insulin Sensitivity and Preserved Pancreatic β -Cell Mass in Middle-Aged Obese Diabetic Mice. *Journal of Diabetes Research*. ID 532984, 14 pages.
- Alvarado, F. 1967. Hypothesis for the interaction of phloridzin and phloretin with membrane carriers for sugars. *Biochimica Biophysica Acta*. 135:483-485.
- 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.
- AOAC. International. Official Methods of Analysis of AOAC International. Association of Official Agriculture Chemists. 1999.
- Arranz, S., Saura-Calizto, F. 2010. Compuestos polifenólicos (extraíbles y no extraíbles) en alimentos de la dieta española: metodología para su determinación e identificación. <http://eprints.sim.ucm.es/11255/1/T32158.pdf>.

- Beaven, G. H., Hirst, E. L., Jones, J. K. N. 1965. Pectic substances. Part IV. Citrus araban. *Journal of Chemical Society*. 1939:1865-1868.
- Barberger-Gateau, P., Samieri, C., Feart, C., Plourde, M. 2012. Dietary omega 3 polyunsaturated fatty acids and Alzheimer's disease: interaction with apolipoprotein E genotype. *Curr Alzheimer Research*. 8:479-491.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Brown, G. K. 2000. Glucose transporters: Structure, function and consequences of deficiency. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 23:237–246.
- Chang, S., Tan, C., Frankel, E. N., Barrett, D. M. 2000. Low-Density Lipoprotein Antioxidant Activity of Phenolic Compounds and Polyphenol Oxidase Activity in Selected Clingstone Peach Cultivars. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 48:147-151.
- 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.
- Chew, K. K. Ng, D. Y., Thoo, Y. Y., Khoo, M. Z., Wan Aida, W. M., Ho, C. W. Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Centella asiatica* extracts. *International Food Research Journal*. 18:571-578.
- Chi-Fai, C., Ya-Ling, H. 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 Food Chemistry*. 51: 2615-2618.
- Choy, Y. Y. Waterhouse, A. L. 2014. Proanthocyanidin metabolism, a mini review. *Nutritional Aging*. 2: 111-116.
- Crespa, V., Morand, C., Manach, C., Besson, C., Demigne, C. Remesy, C. 1999. Part of quercetin absorbed in the small intestine is conjugated and further secreted in the intestinal lumen. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 277: G120-G126.
- Das, L., Bhaumik, E., Raychaudhuri, U. 2012. Role of nutraceuticals in human health. *Journal of Food Science and Technology*. 49:173-183.
- El-Zoghbi, M. 1994. Biochemical changes in some tropical fruits during ripening. *Food Chemistry*, 49, 33-37.
- Elleuch, M., Bedigianm D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C. 2011. Dietary fiber and fibre-rich by products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: a review. *Food Chemistry*, 124:411-421.
- ENSANUT (Encuesta nacional se salud y nutrición). 2016. *Obesidad en la población mexicana*.
- Erlund, I. 2004. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutritional Research*. 24: 851-874.
- Escalada, P. M. F., González, P., Sette, P., Portillo, F., Rojas, A. M., Gerschenson, N. L. 2012. Effect of processing on physico-chemical characteristics of dietary fibre concentrates obtained from peach (*Prunus persica* L.) peel and pulp. *Journal of Food Research International*. 49:184-192.

- Farah, A., Monteiro, M., Donangelo, C. M. Lafay, S. 2008. Chlorogenic Acids from Green Coffee Extract are Highly Bioavailable in Humans. *Journal of Nutrition*. 138: 2309-2315.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Schminhuber, J. 2004. The Growing Global Obesity Problem: Some Policy Options to Address It. *Journal of Agricultural and Development Economics*. 1:272-290.
- Funke, I., Melzig, M. F. 2005. Effect of different phenolic compounds on α -amylase activity: screening by microplate-reader based kinetic assay. *Pharmazie*. 60, 796-797.
- Gao, Z., Yin, J., Zhang, J., Ward, R., Martin, R. J., Lefevre, M., Cedalu, W. T., Te, J. 2009. Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice. *Diabetes*. 58:1509-1517.
- García-Magaña, M. L., García, H. S., Bello-Pérez, L. A., Sáyago-Ayerdi, S. G., Oca, M. M. 2013. Functional properties and dietary fiber characterization of mango processing by-products (*Mangifera indica* L., cv Ataulfo and Tommy Atkins). *Plant Foods for Human Nutrition*. 68:254–258.
- Génard, M., Souty, M., 1996. Modeling the peach sugar contents in relation to fruit growth. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 121:1122–1131.
- Gomez, L., Rubio, E. and Augé, M. 2002. A new procedure for extraction and measurement of soluble sugars in ligneous plants. *J Sci Food Agric.*, 82:360–369.
- Gruz, J., Novák O., & Strnad M. (2008). Rapid analysis of phenolic acids in beverages by UPLC–MS/MS. *Food Chemistry*, 111, 789–794.

- Guillon, F. Champ, M. 2000. Structural and physical properties of dietary fibres, and consequences of processing on human physiology. *Food Research International*. 33: 233-245.
- Haslam, E. 2007. Vegetable tannins-lessons of a phytochemical lifetime. *Phytochemistry*. 68:2713-2721.
- Hara, Y., Mizukawa, H., Yamamoto, H., Ikami, T., Kato, K., Yabe, T. 2013. Simple method for refining arabinan polysaccharides by alcohol extraction of the Prune, *Prunus domestica* L. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 77:2137-2139.
- Hendrick, A. J., Tadokoro, T., Emenhiser, C., Nienaber, U., Fennema, R. O. 1991. Various dietary fibers have different effects on lipase-catalyzed hydrolysis of tributyrin in vitro. *The Journal of Nutrition*. 269:277.
- Hollman, P. H., Katan, M. B. 1999. Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. *Food and Chemical Toxicology*. 37: 937-942.
- Hu, B., Cui, F., Yin, F., Zeng, X., Sun, Y., & Li, Y. 2015. Caffeoylquinic acids competitively inhibit pancreatic lipase through binding to the catalytic triad. *International Journal of Biological Macromolecules*. 80, 529-535.
- Isken, F., Klaus, S., Osterhoff, M., Pfeiffer, A. F. H., Weickert, M. O. 2010. Effects of long-term soluble vs. insoluble dietary fiber intake on high-fat diet-induced obesity in C57BL/6J mice. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 21:278-284.
- Ju-Shin, E., Jeon, H. H., Jeong, S. M., Ho, P. J., Jeong, Y. H., Sunny, K. M., Young, K. D. Hwang, J. T. 2013. *Food Chemistry*. 141:4115-4121.

- Jung, U. J., Park, Y. B., Kim, S. R., & Choi, M. S. 2012. Supplementation of persimmon leaf ameliorates hyperglycemia, dyslipidemia and hepatic fat accumulation in type 2 diabetic mice. *PLoS One*, 7, e49030.
- Kern, S. M., Bennett, R. N., Mellon, F. A., Kroon, P. A., Garcia-Conesa, M. T. 2003. Absorption of hydroxycinnamates in humans after high-bran cereal consumption. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 51: 6050-6055.
- Kristensen, M. Jensen, M. G. 2011. Dietary fibers in the regulation of appetite and food intake. Importance of viscosity. *Appetite* 56: 65-70.
- Kwon, O., Eck, P., Chen, S. L., Corpe, C. P. et al. 2007. Inhibition of the intestinal glucose transporter GLUT2 by flavonoids. *FASEB Journal*. 21:366-377.
- Lattimer, J. M. Haub, M. D. 2010. Effects of dietary fiber and its components on metabolic health. *Journal of Nutrients*. 2:1266-1289.
- Lin, Y. L.; Chou, C. H.; Yang, D.J.; Chen, J. W.; Tzang, B.S.; Chen, Y. C. 2012. Hypolipidemic and antioxidative effects of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice on high-fat/cholesterol-dietary hamsters. 2012. *Plant Foods Human Nutrition*. 67:294–302.
- Livak, K. J., Schmittegen, T. D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method. *Methods*. 25:402-408.
- López, G., Ros, G., Rincón, F., Periago, M. J., Martínez, M. C., Ortuño, J. 1996. Relationship between Physical and Hydration Properties of Soluble and Insoluble Fiber of Artichoke. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 44: 2773-2778.

- Luna, L. G. 1968. Manual of histologic staining methods ; of the armed forces Institute of Pathology. In M.-H. Blakiston Division (Ed.), (3rd ed., pp. 258). New York.: Blakiston Division, McGraw-Hill.
- Lyon, M. R. Reichert, R. G. 2010. The effect of a novel viscous polysaccharide along with lifestyle changes on short-term weight loss and associated risk factors in overweight and obese adults: an observational retrospective clinical program analysis. *Alternative Medicine Review*. 15:68-75.
- Manganaris, G. A., Vicente, A. R., Crisosto, C. H., Lavavich, J. M. 2008. Cell wall modifications in chilling-injured plum fruit (*Prunus salicina*). *Postharvest Biology Technology*. 48:77-83.
- Manzano, S., Williamson, G. 2010. Polyphenols and phenolic acids from strawberry and apple decrease glucose uptake and transport by human intestinal Caco-2 cells. *Molecular Nutrition and Food Research*. 54:1773-1780.
- Manzoor, M., Anwar, F., Mahmood, Z., Rashid, U., Ashraf, M. 2012. Variation in minerals, phenolics and antioxidant activity of peel and pulp of different varieties of peach (*Prunus persica L.*) fruit from Pakistan. *Molecules*. 17:6491-506.
- Masuko, T., Minami, A., Iwasaki, N., Majima, T., Nichimura, S. I., Lee, Y. C. 2005. Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format. *Analytical Biochemistry*. 339:69-72.
- McArdle, M. A., Finucane, O. M., Connaughton, E. M., McMorrow, M., Roche, H. M. 2013. Mechanism of obesity-induced inflammation and insulin resistance: insights into the emerging role of nutritional strategies. *Frontiers in Endocrinology*. 54:1-23.

- Meng-Wong, T., Pierson, J. T. Hoang, V. L. T., Shaw, P. N., Dietzgen, R. G., Gidley, M. J., Robert-Thomson, S. J., Monteith, G. R. 2012. Mango fruit peel and flesh extracts affect adipogenesis in 3T3-L1 cells. *Food Function*. 3:828-836.
- Merscher, S., Pedigo, C. E., Mendes, A. J. 2014. Metabolism, Energetics, and Lipid Biology in the Podocyte – Cellular Cholesterol-Mediated Glomerular Injury. *Frontier in endocrinology*. 5(169):1-11.
- Miquilena, M. E. C., Monzón, C. G. 2010. Obesidad y enfermedad hepática. *Gastroenterología y hepatología*. 33:591-604.
- Mohnen, D. 2008. Pectin structure and biosíntesis. *Current Opinion in Planta Biology*. 11:266-277.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 26:211–219.
- Monteiro, M., Farah, A., Perrone, D., Trugo, L. C., Donangelo, C. 2007. Chlorogenic acid compounds from coffee are differentially absorbed and metabolized in humans. *Journal of Nutrition*. 137: 2196-2201.
- Morgan, E. L., Mace, O. J., Affleck, J., Kellett, G. L. 2007. Apical GLUT2 and Ca (v) 1.3: regulation of rat intestinal glucose and calcium absorption. *Journal of Physiology*. 580:593-604.
- Nicoli, M. C., Anese, M. Parpinel, M. 1999. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends Food Sci Technol* 10: 94-100.
- Nieto, C. J. E., Fissore, E. N., Latorre, M. E., Soria, M., De Escalada, P. M. F., Gerschenson, L. N. 2015. Obtention of dietary fibre enriched frections from

- peach bagasse using ethanol pre-treatment and microwawe drying. LWT-- Food Sci Technol 62: 1169-1176.
- Noratto, G. D., Garcia-Mazcorro, J. F., Markel, M., Martino, H. S., Minamoto, Y., Steiner, J. M., Byrne, D., Suchodolski, J. S., Mertens-Talcott, S. U. 2014. Carbohydrate-Free peach (*Prunus pérsica*) and Plum (*Prunus domestica*) juice affects fecal microbial ecology in an obese animal model. PLoS ONE 9(7): e101723.
- Noratto, G., Martino, H. S. D., Simbo, S., Byrne, D., Mertens-Talcott, S. U. 2015. Consumption of polyphenol-rich peach and plum juice prevents risk factors for obesity-related metabolic disorders and cardiovascular disease in Zucker rats. The Journal of Nutritional Biochemistry, 26(6):633-641.
- Norris, A. W., Chen, L., Fisher, S. J., Szanto, I., Ristow, M., Jozsi, A. C., Hirshman, M. F., Rosen, E. D., Goodyer, L. J., Gonzalez, F. J., Spiegelman, B. M., & Kahn, C. R. 2003. Muscle-specific PPAR γ -deficient mice develop increased adiposity and insulin resistance but respond to thiazolidinediones. Journal of Clinical Investigation, 112, 608–618.
- Nugroho, A., Sailful, B. M., Choi, J., Sue, C. J., Kim, W. B., Lee, B. I., Kim, J. D., Park, H. J. 2010. The Inhibitory Effect of the Caffeoylquinic acid-Rich Extract of *Ligularia stenocephala* Leaves on Obesity in the High Fat Diet-Induced Rat. Natural product Sciences, 16(2):80-87.
- Oboh, G., Aqunloye, O. M., Adefeqha, S. A., Akinyemi, A. J., Ademiluyi, A. O. 2015. Caffeic and chlorogenic acids inhibit key enzymes linked to type 2 diabetes (in vitro): a comparative study. Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology. 26, 165-70.

- 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 b-carotene in vegetables. *Food Chemistry*. 95: 328–336.
- Ou, S., Kwok, K., 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. <http://doi.org/Doi 10.1021/Jf000574n>.
- Ou, T. T.; Hsu, M. J.; Chan, K. C.; Huang, C. N.; Ho, H. H.; Wang, C. J. 2011. Mulberry extract inhibits oleic acid-induced lipid accumulation via reduction of lipogenesis and promotion of hepatic lipid clearance. *J. Sci. Food Agric.* 91:2740–2748.
- Pang, J., Choi, Y., Park. 2008. *Ilex paraguariensis* extract ameliorates obesity induced by high-fat diet: Potential role of AMPK in the visceral adipose tissue. *Arch Biochem Biophys*, 475(2):178-85.
- Palafox-Carlos, H., Ayala-Zavala, J. F., Gonzalez-Aguilar, G. A. 2011. The role of dietary fiber in the bioaccessibility and bioavailability of fruit and vegetable antioxidants. *Journal of Food Science*. 76:6-15.
- Palou, A., Bonet, M. L., Picó, C., Rodríguez, A. M. 2004. Nutrigenómica y obesidad. *Revista de Medicina Universidad Navarra*. 48:36-48.
- Pérez-Ramirez, I. F., Gonzalez-Dávalos, O. M., Gallegos-Corona, M. A., Reynoso-Camacho. R. (2017). Effect of *Ocimum sanctum* and *Crataegus pubescens* on obesity, inflammation, and glucose metabolism. *Journal of functional foods*, 35, 24-31.

- Postic, C., y Girard, J. (2008). Contribution of *de novo* fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: lessons from genetically engineered mice. *The Journal of Clinical Investigation*, 118, 829-838.
- Quirós, S. A. E., Palafox, H., Robles, S. R. M., González, A. G. A. 2011. Phenolic compounds and dietary fiber interaction: antioxidant capacity and bioavailability. *BIOtecnia*. 13:3-11.
- Ramírez, J., Periyakaruppan, A., Sarkar, S., Ramesh, G. T., Sharma, S. C. 2014. Effect of simulated microgravity on the activity of regulatory enzymes of glycolysis and gluconeogenesis in mice liver. *Microgravity Science and Technology*, 25, 303-309.
- Rice-Evans, C., Spencer, J. P., Schroeter, H. Rechner, A. R. 2000. Bioavailability of flavonoids and potential bioactive forms in vivo. *Drug metabolism Drug Interaction*. 17: 291-310.
- Ridley, B. L., O'Neill, M. A., Mohnen, D. 2001. Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. *Phytochemistry*. 57:926-967.
- Rincón-Londoño, N., Millan-Malo, B. M. Rodríguez-García, M. E. 2016. Analysis of thermal pasting profile in corn starch rich in amylose and amylopectin, Part II. *International Journal of Biology Macromolecular*. 89: 43-53 (2016).
- Robertson J. A., Eastwood, M. A. 2000. Hydration Properties of Dietary Fibre and Resistant Starch: a European Collaborative Study. *LWT - Food Science and Technology*, 33(2):72-79.
- Roura, E., Andrés-Lacueva, C., Estruch, R. Lamuela-Raventós, R. M. 2006. Total polyphenol intake estimated by a modified folin-ciocalteu assay of urine. *Clinical Chemistry*. 52: 749-752.

- SAGARPA, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2009. Citado el 18 de junio del 2012. Link: http://w4.siap.sagarpa.gob.mx/sispro/IndModelos/SP_AG/Guayaba/Industria.pdf.
- Saura-Calixto, F. 2011. Dietary fiber as a carrier of dietary antioxidants: an essential physiological function. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 59:40-43.
- Saura-Calixto, F., Goñi, I., Manas, E. 1991. Klason lignin, condensed tannins and resistant protein as dietary fibre constituents: determination in grape pomaces. *Food Chemistry*. 39:299-309.
- Secretaria de Salud (SSA). 2010. Acuerdo Nacional para la Salud Alimentaria, Estrategia contra el sobrepeso y la obesidad.
- Shamah L. T., Morales, R. C., Amaya, C. C., Salazar, C. A., Jiménez, A. A., Méndez, G. H. I. 2012. Effectiveness of a diet and physical activity promotion strategy on the prevention of obesity in Mexican school children. *BMC Public Health*. 12:152.
- Silin, P. M. 1967. *Tekhnologiya sakhara (Sugar Technology)*, Moscow: Pishchevaya Promyshlennost'.
- Simas-Tosin, F. F., Abud, A. P. P., De Oliveira C. C., Gorin, P. A. J., Sasaki, D. F., Bucchi, D. F., Iacomini, M. 2012. Polysaccharides from peach pulp: Structure and effects on mouse peritoneal macrophages. *Food Chemistry*. 134:2257-2260.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymology*. 299: 152-178.

- Simental-Mendía, L. E., Rodríguez-Morán, M., Guerrero-Romero, F. 2008. The product of fasting glucose and triglycerides as surrogate for identifying insulin resistance in apparently healthy subjects. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, 6, 299-304.
- Takahashi, S., Egashira, K., Saito, K., Jia, H., Abe, K., & Kato, H. 2014. Coffee intake down-regulates the hepatic gene expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. *Journal of Functional Foods*. 6, 157-167.
- Tenore, G. C., Stiuso, P., Campiglia, P., Novellino, E. 2013. In vitro hypoglycaemic and hypolipidemic potential of white tea polyphenols. *Food Chemistry*. 141:2379-2384.
- Unger, G., Benozzi, S. F., Perruzza, F. Pennacchiotti, G. L. 2014. Triglycerides and glucose index: A useful indicator of insulin resistance. *Endocrinology nutritional*, 61(10):533-540.
- Unno, T., Tamemoto, K., Yayabe, F. Kakuda, T. 2003. Urinary excretion of 5-(3', 4'-dihydroxyphenyl)- γ -valerolactone, a ring-fission metabolite of (-)-epicatechin, in rats and its in vitro antioxidant activity. *Journal of Agricultural of Food Chemistry*. 51: 6893-6898.
- Varman, T. S., Zhen-Xiang, L., Xianqui, Q., Benjamin, D. E., Stefan, B., Douglas, B., Romanelli, A. J., & Shulman, G. I. 2004. Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Biological Chemistry*. 279, 32345-32353.

- Vázquez-Flores, A. A., Alvares-Parrilla, E., López-Días, J. A., Wall-Medrano, A., De la Rosa, L. A. 2012. Hydrolyzable and condensed tannins: chemistry, advantages and disadvantages of their intake. *Tecnociencia*. 6:84-93.
- Wang, Z., Clifford, M. N., Sharp, P. 2008. Analysis of chlorogenic acids in beverages prepared from Chinese health foods and investigation, in vitro, of effects on glucose absorption in cultured Caco-2 cells. *Food Chemistry*. 108, 369-373.
- Wanders, A. J., Borne, V. D. J. J. G. C., Graaf, C., Hulshof, T., Jonathan, M. C., Kristensen, M., Mars, M., Schols, H. A., Feskens, E. J. M. 2011. Effects of dietary fibre on subjective appetite, energy, intake and body weight: a systematic review of randomized controlled trials. *Obesity Reviews*. 12:724-739.
- Williamson, G. 2013. Possible effects of dietary polyphenols on sugar absorption and digestion. *Molecular Nutrition and Food Research*. 57:48-57.
- 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.
- World Health Organization (WHO), 2013. Centro de prensa. Obesidad y sobrepeso. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/index.html>.
- Global Health Observatory (GHO) 2013.
- Wu, C., Zhang, X., Zhang, X., Luan, H., Sun, G., Sun, X., Wang, X., Guo, P., & Xu, X. 2014. The caffeoylquinic acid-rich *Pandanus tectorius* fruit extract increases insulin sensitivity and regulates hepatic glucose and lipid

- metabolism in diabetic db/db mice. *Journal of Nutrition Biochemistry*. 25, 412-419.
- Yang, B., Meng, Z., Dong, J., Yan, L., Zou, L., Tang, Z., Dou, G. 2005. Metabolic profile of 1, 5-dicaffeoylquinic acid in rats, an in vivo and in vitro study. *Drug Metabolism Disposition*. 33: 930-936.
- Ye-Huang, Y., Gusdon, A. M., Qu, S. 2013. Nonalcoholic fatty liver disease: molecular pathways and therapeutic strategies. *Lipids in Health and Disease*. 12:171.
- Zhang, X., Wu, C., Wu, H., Sheng, L., Su, Y., Zhang, X., Luan, H., Sun, G., Sun, X., Tian, Yu., Ji, Y., Guo, P., Xu, X. 2013. Anti-Hyperlipidemic Effects and Potential Mechanisms of Action of the Caffeoylquinic Acid-Rich *Pandanus tectorius* Fruit Extract in Hamsters Fed a High Fat-Diet. *PLoS One*, 16:8(4).
- Zhong, Q. W., Yu, Y., Zhang, X. H., Floyd, Z. E., Boudrea, A., Lian, K., Cefalu, W. T. 2012. Comparing the effects of nano-sized sugarcane fiber with cellulose and psyllium on hepatic cellular signaling in mice. *International Journal of Nanomedicine*. 7:2999-3012.
- 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*. 63:936-939.