



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

**Facultad de Química
Departamento de Investigación y Posgrado en
Alimentos
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos**

**“Efecto antiobesogénico de subproductos agroindustriales
provenientes de la elaboración de jugos”**

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta:

I.I.A. Diana María Amaya Cruz

Dirigido por:

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

Santiago de Querétaro, Querétaro, Septiembre de 2014



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

"Efecto antiobesogénico de subproductos agroindustriales provenientes de la elaboración de jugos"

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de:
Maestro en ciencia y tecnología de alimentos

Presenta:

I.I.A. Diana María Amaya Cruz

Dirigido por:

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

SINODALES

Dra. Rosalía Reynoso Camacho
Presidente


Firma

Dr. Edmundo Mercado Silva
Secretario


Firma

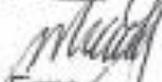
Dra. Ma. Guadalupe Flavía Loarca Piña
Vocal


Firma

Dra. Sandra O. Mendoza Díaz
Suplente


Firma

Dra. Minerva Ramos Gómez
Suplente


Firma
MSP. Sergio Pacheco Hernández
Director de la facultad
Dr. Irineo Torres Pacheco
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Septiembre 2014
México

RESUMEN

En México, las industrias de jugos tienen un rendimiento de sus procesos entre el 40-80% y sus remanentes son considerados desechos. Estos residuos son ricos en fibra y antioxidantes, ambos con beneficios a la salud. En este trabajo, se realizó una caracterización nutracéutica de los subproductos de mango, guayaba, durazno y manzana de una empresa productora de jugos; además de una evaluación antiobesógena en ratas alimentadas con una dieta alta en grasa y fructosa. El subproducto de guayaba presentó el mayor contenido de fibra dietaria total (78.4%), conformada en su mayoría por fibra dietaria insoluble (FDI). Los residuos de mango y durazno presentaron los mayores contenidos de fibra dietaria soluble (FDS); obteniendo la mejor relación de FDI:FDS, mayor concentración de carotenoides y cuatro veces más cantidad de compuestos fenólicos comparado con los residuos de guayaba y manzana. El contenido de polifenoles no extraíbles fue mayor en mango y guayaba, principalmente taninos condensados. El subproducto de mango presentó la mayor capacidad antioxidante evaluada por el método del DPPH y de actividad antinitrosativa ($CI_{50} = 14.4 \pm 4.2$ y $18.87 \pm 0.4 \mu\text{g/mL}$, respectivamente). En el estudio *in vivo* se encontró que después de 14 semanas de tratamiento con dietas suplementadas con 4% de fibra de los subproductos, los animales del grupo de guayaba presentaron la menor ganancia de peso (8%). Mango y durazno mejoraron los niveles de glucosa sanguínea, no se observaron cambios para triglicéridos. Se evaluaron enzimas de función hepática: aspartato aminotransferasa (AST), alanino aminotransferasa (ALT) y fosfatasa alcalina (FA). Los animales del grupo obeso presentaron un contenido significativamente mayor de FA y los subproductos de mango y guayaba disminuyeron la actividad de esta enzima, por lo tanto podría presentarse una mejora hepática. Por lo tanto los subproductos pueden ser utilizados para el control de algunas complicaciones de la obesidad.

(Palabras claves: Obesidad, fibra antioxidante, subproductos)

SUMMARY

In Mexico, juice and nectar industries have efficiency between 40-80%, and the remnants are agroindustrial wastes. These residues are rich in fiber and antioxidants, both with health benefits. A nutraceutical characterization of mango, guava, peach and apple by-products were carrying out, as well as an in vivo study for their antiobesogenic evaluation in rats fed with high-fructose and high-fat diet. Guava by product had the highest content of total dietary fiber (78.4%) and consisted mostly of insoluble dietary fiber (IDF). Mango and peach presented the highest content of soluble dietary fiber (SDF), getting the best ratio of FDI:FDS; higher concentration of carotenoids and four times the amount of phenolic compounds compared with guava and apple. The nonextractable polyphenols were higher in mango and guava, mainly condensed tannins. Mango by-product had the highest antioxidant capacity by the DPPH assay and antinitrosative activity ($IC_{50} = 14.4 \pm 4.2$ y 18.87 ± 0.4 $\mu\text{g/mL}$, respectively). In the in vivo test, 14 weeks after of treatment with diets supplemented with 4% fiber by-products, the animals of the guava group had the lowest weight gain (8%). Mango and peach improved the blood glucose; it was not observed effects on triglycerides. The liver function enzymes were evaluated: alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST) and alkaline phosphatase (AP). Animals in the obese group had a significantly higher content of AP, and the treatments f mango and guava decreased the activity of this enzyme, therefore it may show improvements in liver function. Therefore the by-products may be used to control some complications of obesity.

Keywords: Obesity, antioxidant fiber, by-products

DEDICATORIAS

A Dios, porque me permitió venir a este país y en el transcurso de este tiempo no ha parado de sorprenderme, bendecirme y transformar mi vida.

A Andrés, por su paciencia, ayuda y amor, porque siempre ha estado ahí para escucharme, animarme y guiarme.

A mis padres, Oscar y Jaqueline, y mis hermanos, Antoñito y Marchis, quienes a pesar de la distancia han estado ahí, junto a mí, apoyándome y brindándome su amor incondicional.

Los amo!

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico brindado durante la realización de este trabajo.

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

A la Dra. Rosalía Reynoso Camacho, por su apoyo y dirección.

A mis sinodales: la Dra. Sandra Mendoza Díaz, la Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña, el Dr. Edmundo Mercado Silva y la Dra. Minerva Ramos Gómez, por todas sus observaciones y propuestas para la mejora de este trabajo.

A mis compañeros de laboratorio y estudiantes de servicio.

A Carmelita y al personal administrativo por su invaluable ayuda.

ÍNDICE DE CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES	3
2.1 Metabolismo y Obesidad.....	3
2.2 Complicaciones de la obesidad.....	4
2.2.1 Obesidad y daño hepático	5
2.2.2 Prevención de la obesidad.....	6
2.3 Compuestos fenólicos.....	7
2.3.2 Metabolismo y actividad biológica de los compuestos fenólicos	8
2.4 Carotenoides	10
2.4.1 Metabolismo y actividad biológica de los carotenoides	10
2.5 Fibra dietética	11
2.5.1 Fibra dietaria antioxidante.....	12
2.5.2 Efectos fisiológicos derivados del consumo de fibra dietaria antioxidante	13
2.6 Fuentes de fibras antioxidantes	14
2.6.1 Mango	14
2.6.2 Durazno	15
2.6.3 Guayaba.....	16
2.6.4 Manzana.....	16
III. JUSTIFICACIÓN	18
IV. HIPÓTESIS	19
V. OBJETIVOS	20

5.1 Objetivo general.....	20
5.2 Objetivos específicos	20
VI. METODOLOGÍA.....	21
6.1 Material químico.....	21
6.2 Material biológico	21
6.2.1 Animales de experimentación	21
6.2.2 Manejo de los subproductos de mango, guayaba, durazno y manzana.....	21
6.3 Caracterización fisicoquímica de los subproductos	22
6.3.1 Determinación del color	22
6.3.2 Capacidad de absorción de agua (CAA) y aceite (CAa).....	22
6.4 Caracterización nutracéutica	23
6.4.1 Determinación de la fibra dietaria total, soluble e insoluble	23
6.4.2 Cuantificación de compuestos fenólicos totales y/o extraíbles	23
6.4.3 Determinación de flavonoides totales	23
6.4.4 Cuantificación de fenoles no extraíbles.....	24
6.4.5 Cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC-DAD	25
6.4.6 Cuantificación espectrofotométrica de carotenoides	25
6.4.7 Determinación de capacidad antioxidante	26
6.4.8 Índice de retardamiento de diálisis de la glucosa, IRDG:	27
6.4.9 Inhibición de enzimas relacionadas con el metabolismo de carbohidratos	27
6.5 Estudios <i>in vivo</i>	28
6.5.1 Aclimatación de los animales de experimentación	28
6.5.2 Dieta obesogénica	28

6.5.3 Grupos experimentales	29
6.5.4. Energía digerida de las dietas.....	30
6.5.5 Evaluación de los subproductos como tratamiento preventivo de la obesidad y sus complicaciones	30
6.6 Análisis estadístico	32
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
7.1 Caracterización fisicoquímica de los subproductos de mango, guayaba, durazno y manzana	33
7.1.1 Determinación del color	33
7.1.2 Capacidad de absorción de agua (CAA) y aceite (CAa).....	35
7.2 Caracterización nutracéutica.....	37
7.2.1 Determinación de la fibra dietaria total, soluble e insoluble	37
7.2.2 Cuantificación de compuestos fenólicos y carotenoides	40
7.2.3 Cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC-DAD	44
7.2.4 Determinación de capacidad antioxidante	45
7.2.5 Índice de retardamiento de diálisis de la glucosa (IRDG):.....	48
7.2.6 Inhibición de enzimas relacionadas con el metabolismo de carbohidratos	49
7.3 Modelo <i>in vivo</i>	52
7.3.1 Efecto del consumo de los subproductos sobre el peso corporal.....	52
7.3.2 Energía digerida de las dietas.....	53
7.3.3 Efecto del consumo de los subproductos sobre resistencia a la insulina	54
7.3.4 Efecto del consumo de los subproductos sobre el perfil lipídico.....	56
7.3.5 Efecto del consumo de los subproductos sobre la función hepática	57

CONCLUSIONES	59
REFERENCIAS	60

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Composición nutrimental de la dieta estándar y obesogénica.	28
2. Grupos experimentales para la evaluación del efecto de los subproductos.....	29
3. Análisis de color de los subproductos de mango, guayaba, durazno y manzana	33
4. Capacidad de absorción de agua (CAA) y aceite (CAa) de los subproductos de mango, guayaba, durazno y manzana	36
5. Contenido de fibra dietaria total, soluble e insoluble de los subproductos.	38
6. Contenido de polifenoles extraíbles, polifenoles no extraíbles y carotenoides de los subproductos.....	40
7. Contenido de compuestos fenólicos identificados en un extracto metanólico de los subproductos.....	45
8. Concentración inhibitoria media (CI ₅₀) de los extractos de los subproductos. ..	47
9. Efecto de los subproductos sobre el atrapamiento de glucosa <i>in vitro</i>	49
10. Porcentaje de inhibición de la enzima α -amilasa y α -glucosidasa de los extractos polifenólicos y de las muestras en polvo de los subproductos.	50
11. Energía digerida de los grupos tratados con un suplemento de los subproductos.	53
12. Concentración de glucosa sanguínea, insulina e índice HOMA de ratas alimentadas con una dieta alta en grasa y fructosa y suplementadas con subproductos.	55
13. Perfil de lípidos en suero de ratas alimentadas con una dieta alta en grasa y fructosa y suplementadas con subproductos.....	56
14. Actividad de enzimas de función hepática en ratas alimentadas con una dieta alta en grasa y fructosa y suplementadas con subproductos.	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Consecuencias del desequilibrio energético.....	4
2. Clasificación de los compuestos fenólicos.	8
3. Clasificación de los carotenoides	10
4. Tipos de interacciones entre compuestos fenólicos y fibra dietaria.	12
5. Estrategia general del modelo experimental en ratas alimentadas con subproductos.	30
6. Peso corporal de ratas alimentadas con una dieta alta en grasa y fructosa, y suplementadas con los subproductos.	52

I. INTRODUCCIÓN

La obesidad es una enfermedad multifactorial producto de un desequilibrio entre la ingesta dietaria y el gasto energético, involucrando un incremento en la masa del tejido adiposo, y presentando complicaciones como resistencia a la insulina, dislipidemia, hígado graso no alcohólico y aumento en el riesgo de enfermedad cardiovascular (Sikaris, 2004).

Existen varias maneras de prevenir esta enfermedad entre las que destaca un estilo de vida saludable que incluye un incremento de la actividad física y una dieta equilibrada: En esta última debe de haber un aporte adecuado de todos y cada uno de los nutrientes que el cuerpo necesita incluyendo la ingesta de fibra dietaria. Diversos estudios han demostrado la relación que existe entre la fibra dietaria y la prevención y/o tratamiento complementario de la obesidad (Wang y col., 2007; Isken y col., 2010; Papathanasopoulos y Camilleri, 2010).

La fibra puede disminuir el peso corporal a través de diferentes mecanismos fisiológicos (Pereira y Ludwig, 2001). Las fibras solubles debido a su viscosidad, forman geles que dificultan la absorción de nutrientes, disminuyen el vaciado gástrico, reducen la glucosa postprandial y los niveles de colesterol total y colesterol LDL (lipoproteína de baja densidad); además mejoran la sensibilidad a la insulina (Song y col., 2000). Las fibras insolubles por su parte han demostrado tener efecto en la disminución de la ganancia de peso corporal, mejoran la sensibilidad a la insulina y aumenta la oxidación de ácidos grasos (Isken y col., 2010).

Una fuente alternativa de fibra dietaria lo constituyen los subproductos agroindustriales. Estos se generan continuamente en grandes proporciones en las industrias, por lo tanto causan un impacto ambiental considerable y un gran detrimento económico para las empresas, pues deben invertir recursos en su disposición final. Un claro ejemplo de esta situación son los desechos

agroindustriales generados en la elaboración de jugos. Estos se caracterizan no solo por su alto contenido de fibra dietaria total, sino que además presentan compuestos bioactivos, como lo son los carotenoides y los compuestos polifenólicos; entre los que destacan ácidos fenólicos, flavonoides, taninos condensados e hidrolizables (Jomova y Valko, 2013; Sharma, 2014). Por lo tanto, este tipo de desechos podrían ser canalizados como fuente de estos compuestos bioactivos, disminuyendo así el problema de su disposición final y aumentando su utilidad en beneficio a la salud.

En este trabajo se evaluaron algunas características funcionales de subproductos de manzana, durazno, guayaba y mango de una empresa productora de jugos. Así mismo se determinaron sus efectos sobre el control del peso y las complicaciones asociadas a la obesidad en un modelo de animales alimentados con una dieta alta en grasa y fructosa.

II. ANTECEDENTES

2.1 Metabolismo y Obesidad

La obesidad es una enfermedad crónica de origen multifactorial, se presenta por una gran acumulación de triacilgliceroles, que son el resultado de un consumo excesivo de energía en comparación al gasto energético. Su etiología es multifactorial e involucra una compleja interacción entre factores genéticos y ambientales (Nammi y col., 2004).

El tejido adiposo es un órgano complejo, metabólicamente muy activo y endocrino (Kershaw y Flier, 2004) que está involucrado en procesos metabólicos importantes para la salud humana como lo son: angiogénesis, adipogénesis, lipogénesis, producción de factores de crecimiento, metabolismo de esteroides, entre otros (Bays, 2011).

Es así como este tejido desempeña un papel muy importante en la regulación de la homeostasis energética, sensibilidad a la insulina y metabolismo tanto de lípidos como de hidratos de carbono, todo esto mediante hormonas y péptidos producidos y secretados por los adipocitos (Blüher y col., 2002). A su vez, el tejido adiposo es el encargado de almacenar la mayor cantidad de energía en el cuerpo. Entre sus funciones destacan la síntesis y almacenamiento de triglicéridos, cuando hay un exceso de energía; o la hidrólisis de estos para generar ácidos grasos, cuando hay carencia de dicha energía (Ahmadian y col., 2007).

Los triglicéridos pueden ser sintetizados o transportados al adipocito. La síntesis es a través de la lipogénesis *de novo* a partir de precursores no lipídicos o por ácidos grasos libres (AGL) del plasma. Por otro lado, los triglicéridos que son transportados provienen de los quilomicrones y de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), las cuales debido a su gran tamaño deben ser hidrolizadas en el espacio luminal para poder atravesar el revestimiento endotelial del tejido adiposo. Esta hidrólisis es catalizada por la lipoprotein lipasa (LPL), la cual produce de esta

manera la liberación de ácidos grasos que son transportados a los adipocitos para luego ser esterificados a triglicéridos (Lafontan y Langin, 2009).

2.2 Complicaciones de la obesidad

El tejido adiposo, específicamente los adipocitos, almacenan la mayor cantidad de lípidos del cuerpo, incluyendo los triacilglicéridos y el colesterol libre. El incremento en la masa grasa se manifiesta como el aumento de lípidos intracelulares, que se evidencia en el aumento del tamaño (hipertrofia) y en el número de adipocitos (hiperplasia) (Figura 1) (de Ferranti y Mozaffarian, 2008). La acumulación excesiva de tejido adiposo, debido a un aumento en la cantidad almacenada de lípidos, promueve efectos patogénicos sobre este, lo que se conoce como adiposopatía (Bays y col., 2013), ocasionando alteraciones en el sistema endocrino e inmunológico.

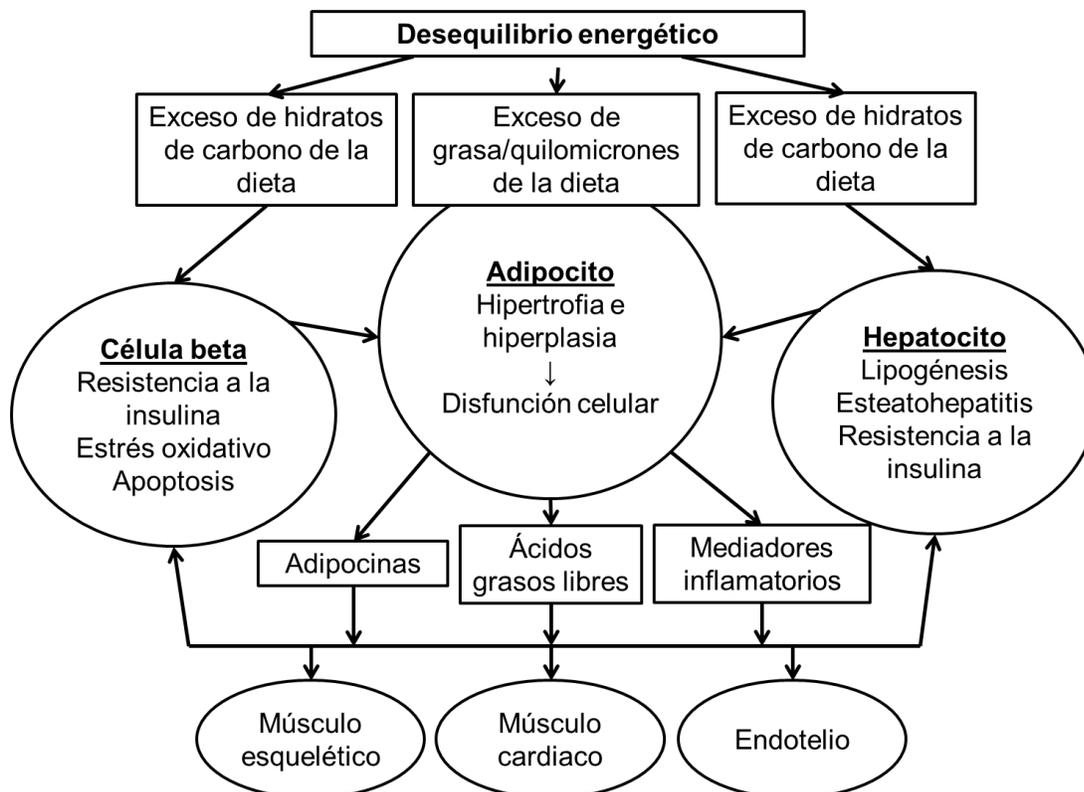


Figura 1. Consecuencias del desequilibrio energético. (Adaptado de: de Ferranti y Mozaffarian, 2008)

Las consecuencias del desequilibrio energético son producidas por un exceso de lípidos postprandiales y glucosa circulante en el flujo sanguíneo. Estos son tomados por el páncreas, hígado y tejido adiposo. Los adipocitos almacenan triglicéridos en gotas de grasa y producen hipertrofia de esta célula. Estas exposiciones en exceso provocan disfunción celular manifestada como anomalías en adipocinas, aumento en la circulación de ácidos grasos libres y un estado proinflamatorio. Éstas a su vez afectan el músculo esquelético (acumulación de lípidos, resistencia periférica a la insulina), músculo cardíaco (deposición de lípidos) y disfunción endotelial. La exposición de las células β al exceso de nutrientes promueve la resistencia a la insulina; la exposición de los hepatocitos al exceso de grasas e hidratos de carbono provoca esteatohepatitis y resistencia a la insulina (Figura 1).

2.2.1 Obesidad y daño hepático

El hígado es un órgano clave en el metabolismo de lípidos y glucosa, así como en el control del balance energético y el peso corporal. En la obesidad estas funciones se ven afectadas y dicho órgano comienza a ser blanco de enfermedades como hígado graso no alcohólico asociado a esteatosis, e inflamación, que a su vez promueven hepatitis C y enfermedad hepática alcohólica (Corey y Kaplan, 2014). La esteatosis hepática es causada por la acumulación de triglicéridos en el interior de los hepatocitos a causa de un desequilibrio entre su síntesis y su secreción al torrente sanguíneo (Brea y col., 2011).

La enfermedad del hígado graso no alcohólico (HGNA) y la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) son una de las causas más frecuentes de enfermedad hepática en el mundo. La HGNA se define por la acumulación excesiva de triglicéridos (esteatosis) en el hígado (> 5% de los hepatocitos) y se asocia con diversas formas de dislipidemias como la hipertrigliceridemia (Assy y col., 2000). En la EHNA, además del exceso de grasa (esteatohepatitis), se presenta daño e inflamación de los hepatocitos, representando de esta manera la forma histológica más severa de la enfermedad (WGO, 2012), la cual tiene un

gran potencial para progresar a cirrosis, insuficiencia hepática en fase terminal y carcinoma hepatocelular (Kleiner y Brunt, 2012).

La HGNA está fuertemente asociada con resistencia a la insulina, diabetes mellitus tipo 2, dislipidemia y obesidad (Armutcu y col., 2013). Durante esta última se presenta un aumento en el transporte de ácidos grasos al hígado, estos son provenientes de la dieta o de la lipólisis del exceso de tejido adiposo, característico de esta enfermedad. La resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia ocasionan un aumento de la lipogénesis *de novo*, que terminan por agravar la esteatosis (Ferré y Foufelle, 2010).

Una forma de evaluar la HGNA es midiendo la actividad de enzimas como la alanino aminotransferasa (ALT) y la aspartato aminotransferasa (AST), las cuales pueden llegar a superar 15 veces los valores de actividad normales. También suele aumentarse la fosfatasa alcalina (ALP). Estas enzimas son componentes normales del hígado y cuando las células se dañan, estas se lisan y liberan su contenido al torrente sanguíneo, por ello es que un incremento en la concentración de estas enzimas se relaciona con daño hepático, además no tienen ninguna función conocida fuera del hígado (Amacher, 1998).

2.2.2 Prevención de la obesidad

A pesar de que la obesidad tiene muchas causas ya sea individuales o poblacionales, la sobrealimentación, la baja actividad física y en general el estilo de vida son los que determinan la magnitud del problema (Hernández-Jiménez, 2004). Es por ello que entre las alternativas existentes y recomendadas para la prevención del sobrepeso y la obesidad se encuentran las farmacológicas, la cirugía bariátrica y un estilo de vida saludable que incluye actividad física y buenos hábitos de alimentación.

Dentro de los hábitos de alimentación, se recomienda el consumo de alimentos bajos en grasa y carbohidratos simples, así como alimentos nutracéuticos con alto contenido de fitoesteroles, fibra dietaria y compuestos fenólicos.

2.3 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son los metabolitos secundarios más importantes producidos por las plantas y se encuentran en altas concentraciones en las frutas. Se caracterizan por tener al menos un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo. Presentan una estructura muy variada, desde moléculas simples, como fenoles, a sustancias de alto grado de polimerización como los taninos condensados. La estructura química de los compuestos fenólicos los hace adecuados para poseer una acción antioxidante ya sea como captadores de radicales libres, como quelantes de iones metálicos o mediante la interrupción de cadenas de peroxidación (Saura y Jiménez., 2001).

2.3.1. Clasificación de compuestos polifenólicos

Los polifenoles se pueden clasificar en ácidos fenólicos, flavonoides, lignanos y estilbenos (Figura 2). Los ácidos fenólicos se dividen en dos clases, derivados del ácido benzoico y del ácido cinámico. Los ácidos hidroxibenzoicos incluyen ácido gálico, ácidos p-hidroxibenzoico, vanílico, siríngico y protocatecuico, los cuales forman parte de estructuras más complejas como los taninos hidrolizables (Pandey and Rizvi, 2009). Los ácidos hidroxicinámicos son mucho más comunes e incluye los ácidos cumárico, cafeico, ferúlico y sinápico (Dykes y Rooney, 2007), se encuentran ampliamente distribuidos dentro de las fruta maduras y especialmente la piel.

Los flavonoides son el grupo más grande de compuestos fenólicos y los más abundantes en la dieta humana, su estructura consta de dos anillos aromáticos conectados por tres átomos de carbono. Se clasifican en seis subclases principales: antocianinas, flavonoles, flavanonas, flavanoles, que pueden estar en forma monomérica o polimérica conocida como proantocianidinas o taninos condensados; flavonas e isoflavonas (Bahadoran y col., 2013). Su principal actividad biológica, que está relacionada con la capacidad antioxidante, depende del número y la ubicación de los grupos hidroxilos libres sobre la cadena (Lupea y col., 2008).

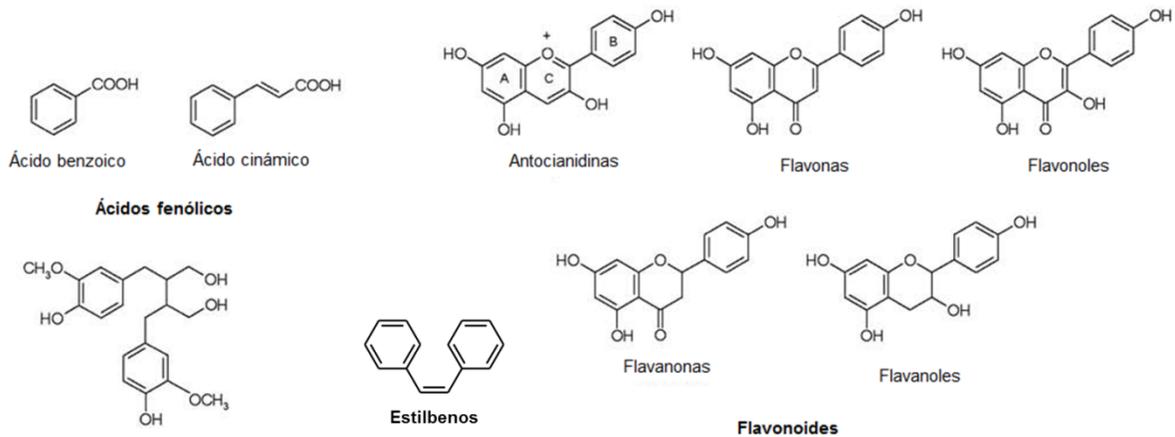


Figura 2. Clasificación de los compuestos fenólicos (Pandey y Rizvi, 2009).

Los lignanos son monómeros y dímeros del ácido hidroxicinámico y también del alcohol cinámico, propenilbenceno y alilbenceno; muchos de ellos son considerados como fitoestrógenos (Pandey y Rizvi, 2009). Los estilbenos son hidrocarburos aromáticos que contienen dos restos fenilo conectados por un puente metileno de dos carbonos. Es muy baja su presencia en la dieta y en las plantas son sintetizados sólo en respuesta a infección o lesión (Pandey y Rizvi, 2009).

2.3.2 Metabolismo y actividad biológica de los compuestos fenólicos

Posterior a su consumo, la biodisponibilidad en el organismo de los compuestos fenólicos depende del proceso de elaboración del alimento, del tipo de matriz en el que se encuentran retenidos, de la digestión gastrointestinal, la absorción y el metabolismo del individuo. Durante el proceso de digestión, los glicósidos son hidrolizados a sus correspondientes agliconas y los polifenoles de bajo peso molecular son absorbidos directamente en el intestino delgado. Los restantes son hidrolizados por la microflora del colon, luego son conjugados por metilación, sulfatación o glucuronidación en las células intestinales y más tarde en los hepatocitos. Posteriormente llegan al tejido diana y realizan su actividad biológica; los derivados de este proceso son excretados a través de la bilis y la orina (Bahadoran y col., 2013).

Entre las actividades biológicas de los compuestos fenólicos destacan su capacidad de estabilizar radicales libres, regular la apoptosis e inducir enzimas antioxidantes (Han y Loa, 2007). Además, se ha reportado que modulan el metabolismo de carbohidratos y lípidos, atenúan la hiperglucemia, debido a que reducen la absorción intestinal de los carbohidratos ingeridos, modulan las enzimas implicadas en el metabolismo de la glucosa, y estimulan la secreción de insulina (Bahadoran y col., 2013).

Se ha demostrado que los compuestos polifenólicos disminuyen la obesidad a través de varios mecanismos como la (a) disminución en la ingesta de alimentos, por ejemplo la epigallocatequina-3-galato (EGCG) a través de un aumento en la producción y liberación de la hormona colecistoquinina que tiene efectos supresores del hambre (Moon y col., 2007). (b) Disminución de la lipogénesis, pues disminuye la digestión y absorción de lípidos provenientes de la dieta al inhibir enzimas digestivas; además reduce la emulsificación de estos (Wang y col., 2006). (c) Aumento de la lipólisis y estimulación de la β -oxidación de ácidos grasos a través de la sobre-regulación de la lipasa sensible a la hormona, UCPs, CPT-1 y PGC-1 α (Lasa y col., 2012; Lee y col., 2009). (d) Inhibición de la diferenciación y el crecimiento de los adipocitos, pues disminuye la proliferación de los pre-adipocitos, induce su apoptosis y promueve el arresto al ciclo celular (Chan y col., 2011) y (e) disminución de las respuestas inflamatorias y supresión del estrés oxidativo; el EGCG, la curcumina y el resveratrol inhiben la expresión y secreción de resistina proinflamatoria, PAI-1, IL-6, TNF- α , MCP-1 y MMPs, lo cual se puede atribuir en parte a la inactivación de NF- κ B (Lu y col., 2012; Kang y col., 2010).

Jadeja y Devkar (2014) han reportado el efecto benéfico de los polifenoles y flavonoides (baicalina, resveratrol, curcumina, polifenoles del café, miricetina, catequinas, herperidina, quercetina, naringenina y rutina) en el tratamiento de la esteatohepatitis no alcohólica. Esto se debe a la habilidad que presentan estos compuestos para disminuir la concentración de lípidos hepáticos (aumento de la β -oxidación), aumento en la fosforilación de AMPK y disminución de la regulación de

genes involucrados en la lipogénesis (acetil-CoA carboxilasa, sintasa de ácidos grasos y SREBP-1c), reducción del estrés oxidativo sistémico y hepático (a través del sistema de glutatión).

2.4 Carotenoides

Los carotenoides son una clase de pigmentos terpenoides con 40 átomos de carbono formados por 8 unidades de isoprenoides unidas de forma que la secuencia se invierte en el centro de la molécula. Es decir, la unión de dichas unidades es "cabeza-cola", excepto en el centro de la molécula, donde es "cabeza-cabeza". La mayoría contienen anillos en uno o ambos extremos de la molécula, aunque también existen algunos que son acíclicos. Dependiendo de los elementos químicos que se presenten se pueden dividir en dos grupos (Figura 3), los carotenos, que son hidrocarburos, y las xantófilas, que contienen átomos de oxígeno, que puede estar presente como grupos hidroxilo, metoxilo, epóxido, carbonilo, carboxilo, acetona, sulfato y lactona (Meléndez y col., 2007).

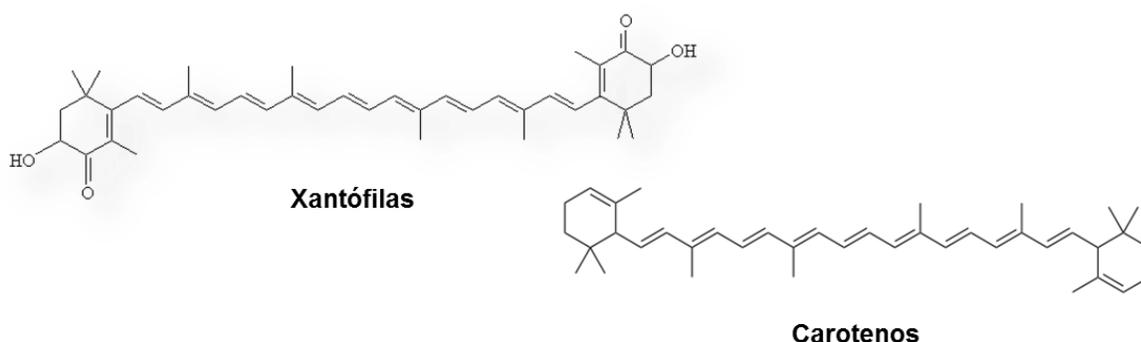


Figura 3. Clasificación de los carotenoides (Meléndez y col., 2007)

2.4.1 Metabolismo y actividad biológica de los carotenoides

Los carotenoides son liberados de la matriz del alimento gracias a la masticación, la acción del estómago y la eficacia de las enzimas digestivas. Luego forman vesículas lipídicas junto con la grasa de la dieta, debido a la acción de las sales biliares y las lipasas pancreáticas, para posteriormente ser absorbidas, por las células de la mucosa duodenal, por difusión pasiva o por transportadores epiteliales específicos (Fernández-García y col., 2012).

Los carotenoides micelares se incorporan a los quilomicrones y se liberan en el sistema linfático donde son degradados rápidamente por la lipoprotein lipasa y transformados en remanentes de quilomicrón, de esta manera son absorbidos por tejidos extra hepáticos. Estos remanentes entregan los carotenoides al hígado donde pueden ser almacenados o empaquetados en lipoproteínas de las cuales las VLDL, LDL y HDL contienen el 14%, 55%, y 31% de carotenoides en el plasma, respectivamente (Deming y Erdman, 1999).

Los carotenoides hidrocarbonados, se localizan principalmente en las LDL, y las xantofilas en las HDL. Estas lipoproteínas son liberadas al torrente sanguíneo y absorbidas por diferentes tejidos. Entre sus efectos benéficos para la salud destacan como antioxidantes, pues eliminan los radicales libres del sistema, ya sea porque reaccionan con ellos para producir productos inocuos o mediante la interrupción de las reacciones en cadena de los mismos (Britton, 1995).

La presencia de carotenoides en suero se ha relacionado con un menor riesgo de aterosclerosis. Este efecto protector se puede explicar gracias a las asociaciones entre los carotenoides séricos y citocinas inflamatorias. Se ha sugerido además que los carotenoides pueden tener un papel importante en el metabolismo de lípidos (Xu y col., 2012) y en el tratamiento de la esteatosis hepática, al reducir los niveles de triglicéridos y colesterol, y la peroxidación lipídica (Pan y col., 2014).

2.5 Fibra dietética

La Asociación de Químicos en Cereales, por sus siglas en inglés AACC, (2001), define a la fibra dietética como la parte comestible de los vegetales y los análogos de los carbohidratos, son macromoléculas resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado del humano con una fermentación completa o parcial en el intestino grueso. Los constituyentes de la fibra dietética incluyen los polisacáridos no amiláceos y oligosacáridos resistentes o no digeribles, análogos de carbohidratos y sustancias no polisacáridos (Jones, 2000). Saura (2011), sugiere que esta definición se podría extender a otros constituyentes no digeribles

(carbohidratos y no carbohidratos) como almidón resistente, oligosacáridos, compuestos polifenólicos, proteínas indigeribles de la pared celular, y materiales derivados de animales como los amino polisacáridos.

2.5.1 Fibra dietaria antioxidante

La fibra dietaria antioxidante es definida como un producto natural que combina los efectos benéficos de la fibra dietaria y de los antioxidantes naturales como lo son los compuestos fenólicos (Bravo y Saura, 1998). La unión entre estos compuestos puede darse por medio de puentes de hidrógeno, entre los grupos hidroxilo de los polifenoles y los átomos de oxígeno de los enlaces glicosídicos de los polisacáridos, interacciones hidrofóbicas y enlaces covalentes, como los enlace éster que se forman entre los ácidos fenólicos y los polisacáridos, de la matriz del fruto. La interacción también puede depender de las propiedades de superficie y de la porosidad de la fibra, que restringen el tamaño de las moléculas que pudieran interactuar con esta (Figura 4). La unión de los carotenoides con la fibra se da a través de enlaces no covalentes (Palafox y col., 2011).

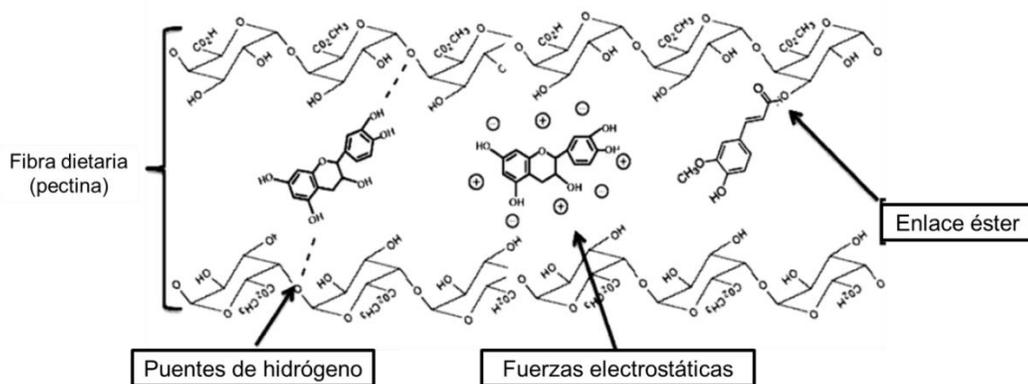


Figura 4. Tipos de interacciones entre compuestos fenólicos y fibra dietaria (Quirós y col., 2012).

Los antioxidantes provenientes de la dieta se pueden clasificar en dos grupos: los bioaccesibles en el intestino delgado, siendo los compuestos polifenólicos de bajo peso molecular, vitaminas y carotenoides y los que no son bioaccesibles en el intestino delgado, como lo son los antioxidantes asociados a la fibra dietaria, es decir, los polifenoles poliméricos y de bajo peso molecular

asociados a la fibra dietaria y/o atrapados en los núcleos de la matriz de la fibra y en menor cantidad los carotenoides (Saura, 2011).

2.5.2 Efectos fisiológicos derivados del consumo de fibra dietaria antioxidante

A nivel general la ingesta de fibra mejora la sensibilidad a la insulina, disminuye la insulinemia y la glucemia postprandial (Weickert y col., 2006), esta última debido a que las fibras dietéticas aumentan la viscosidad del contenido del intestino delgado disminuyendo la difusión de la glucosa y retardando la acción de la enzima alfa amilasa (Ou y col., 2001). De acuerdo a sus propiedades químicas y efectos fisiológicos, la fibra se puede clasificar en fibra dietética soluble (FDS) y fibra dietética insoluble (FDI).

La FDS está formada en su mayoría por polisacáridos no-celulósicos, tales como, pectina, gomas y mucílagos, estas atrapan el agua formando soluciones con alta viscosidad y son las encargadas de retardar el vaciamiento gástrico, aumentar el volumen de las heces y disminuir su consistencia (Córdoba, 2005; Serra y col., 2006); así mismo, reducen la absorción de nutrientes como glucosa, lípidos y colesterol en el intestino delgado, ya que se une a estos disminuyendo su liberación (Klont, 2000). Por ejemplo el efecto hipocolesterolémico sobre el colesterol total y los valores de colesterol LDL, se da porque esta fracción se une a los ácidos biliares en el intestino delgado aumentando su excreción en las heces (Anderson, 2009).

La FDS al mismo tiempo retarda la acción de enzimas digestivas como la alfa amilasa (Ou y col., 2001). Debido a que disminuye la absorción de nutrientes, reducen la síntesis de novo de lípidos y su posterior almacenamiento en el tejido adiposo, además mejoran la sensibilidad a la insulina (Lairon, 1996, Weickert y col., 2006, Lu y col., 2000).

La fibra dietaria insoluble (FDI) o poco soluble está compuesta por celulosa, hemicelulosa y lignina, es capaz de retener el agua en su matriz

estructural formando mezclas de baja viscosidad en el colon distal, produciendo un aumento de la masa fecal que acelera el tránsito intestinal (Escudero y col., 2006). Los componentes de este tipo de fibra son poco fermentables en el colon ascendente y resisten la acción de los microorganismos del intestino (Serra y col., 2006). Tanto la FDI como la FDS, han demostrado tener un comportamiento sinérgico debido a sus diferentes efectos fisiológicos (Escudero y col., 2006).

Un aspecto a resaltar es que algunas fibras dietarias son fermentadas durante su paso por el colon por la microbiota asociada, produciendo ácidos grasos de cadena corta (AGCC), como el ácido acético, el propiónico, y el butírico que pueden afectar el metabolismo de la glucosa y de lípidos (Daubioul y col., 2002, Escudero y col., 2006). Estos AGCC producen la liberación y síntesis de incretinas, que son hormonas que funcionan como secretagogos de otras hormonas como la insulina, además regulan las concentraciones de glucosa, el metabolismo de lípidos, la movilidad intestinal, el apetito, el peso corporal y la respuesta inmune (Campbell y col., 2013).

2.6 Fuentes de fibras antioxidantes

2.6.1 Mango

Los desechos agroindustriales del procesamiento de mango (*Mangifera indica L*), están constituidos por semilla, pulpa fibrosa (bagazo) y cáscara; los cuales representan cerca del 40 al 60% del peso total de la fruta (Prieto y col., 2005). El bagazo y la cáscara tiene una proporción FDI/FDS de 1.5:1, encontrándose en lo recomendado por Spiller (1986), quien indica que debe estar en el rango de 1.0-2.3, con el fin de obtener los efectos fisiológicos asociados a la fibra (Martínez y col., 2012). Estudios *in vitro* con este desecho han mostrado que disminuye la digestibilidad total del almidón y retarda la difusión de la glucosa, por lo tanto podría disminuir la respuesta glucémica postprandial (Gourgue y col., 1992).

La cáscara tiene un contenido importante de enzimas como proteasas, amilasas, peroxidases y polifenol oxidases. También contiene carotenoides,

siendo el β -caroteno el que se presenta en mayor cantidad seguido de la violaxantina y la luteína (Ajila y col., 2010); así mismo, presenta alto contenido de fibras dietéticas (Ajila y col., 2007) sobresaliendo su contenido de fibra dietética soluble (281 g/kg de cáscara), lo que hace que presente una alta capacidad de retención de agua (11,4 g/g de materia seca) (Larrauri y col., 1996).

Adicionalmente, la cáscara, tiene concentraciones importantes de compuestos fenólicos como mangiferina, quercetina, ramnetina, ácido elágico, kaempferol, y sus conjugados relacionados; ácido gálico, ácido siríngico, ácido elágico y ácido gentisílico-protocatéuico (Berardini y col., 2005). La mangiferina, tiene propiedades antihiperlipidémicas, antihiperlipidémicas y antiaterogénicas. Así mismo, disminuye los niveles de glucosa ya sea mejorando el metabolismo de los lípidos o porque interacciona de forma directa con la homeostasis de esta (Muruganandan y col., 2004).

Lucas y col. (2011) realizaron un estudio en el cual suplementaron una dieta alta en grasa con pulpa de mango liofilizada y la compararon con un fármaco hipolipemiante y con otro hipoglucémico. Encontraron una mejora de la tolerancia a la glucosa, el perfil lipídico y la reducción de la adiposidad. Este resultado puede estar relacionado con los compuestos bioactivos que tienen propiedades antiinflamatorias y antioxidantes.

2.6.2 Durazno

La pulpa, cáscara y semilla son los residuos resultantes de la producción de jugo de durazno (*Prunus persica L.*). Tanto la cáscara como la pulpa, presentan una cantidad apreciable de ácidos fenólicos, flavonoides y antocianinas; la cáscara tiene niveles significativamente mayores de minerales, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante 20 veces mayores que la pulpa, sugiriendo su consumo como una fuente importante de antioxidantes naturales (Maleeha y col., 2012).

En un estudio realizado con fibra dietaria de subproducto de durazno obtenida por un método enzimático-químico, se reportó que esta presentaba bajo contenido calórico, buena capacidad de absorción de agua y aceite (Grigelmo y

col., 1999). Hasta el momento no se han reportado estudios sobre el efecto del consumo de fibra de durazno en sobrepeso y obesidad.

2.6.3 Guayaba

La guayaba (*Psidium guajava*) es una fruta tropical rica en vitamina C y compuestos polifenólicos como taninos, fenoles y flavonoides. Como resultado de su procesamiento en la industria de jugos se genera cáscara, pulpa y semillas. Tanto la pulpa como la cáscara tienen un alto contenido de fibra dietética (48,55 y 49,42%) y de polifenoles extraíbles (2,62 y 7,79%), respectivamente, estos se encuentran correlacionados con la capacidad antioxidante que presenta, por ello ambas partes pueden ser empleadas para obtener fibra dietaria antioxidante (Jiménez y col., 2001).

Esmael y col. (2013), evaluaron el efecto hipolipidémico del consumo de fibra proveniente de varias frutas, entre ellas la manzana y la guayaba en animales alimentados con una dieta alta en grasa. La manzana presenta un potencial mayor que la guayaba para disminuir los niveles de colesterol total y triglicéridos en plasma debido a que presenta una mayor fracción de fibra dietaria soluble.

2.6.4 Manzana

Uno de los principales productos obtenidos a partir de manzana (*Malus domestica*) es su jugo, que genera como desechos la pulpa, caracterizada por tener un alto porcentaje de fibra soluble. Mientras que la cáscara presenta alta cantidad de fibra dietaria total, antioxidantes como los polifenoles: ácidos fenólicos, glucósidos de flavonoles, flavan-3-oles y procianidinas; entre los fenoles totales el ácido clorogénico, la epicatequina y la quercetina son los que presentan mayor actividad antioxidante (Bai y col., 2013; Tarazona y col., 2013); por lo que se ha reportado que la cáscara seca de manzana tiene la capacidad de reducir el estrés oxidativo y la inflamación (Denis y col., 2013).

Al administrar el extracto de polifenoles de la cáscara de manzana a un modelo de animales hiperlipidémicos, se presentó un aumento en la actividad de la lipoproteína lipasa, lo que originó una disminución en los niveles de triglicéridos

en suero (Yao y col., 2012). Thilakarathna y col. (2013), evaluaron extractos de la cáscara ricos en quercetina y triterpenos, ambos redujeron la oxidación de las LDL, siendo de mayor relevancia biológica el de extracto de quercetina.

Se ha reportado que las dihidroxichalconas presentes en la manzana inhiben los transportadores de glucosa dependientes de sodio que se encuentran en el lumen del intestino (Hyson, 2011), disminuyendo de esta manera su absorción. No hay investigaciones relacionadas con el consumo del subproducto del jugo de manzana y el sobrepeso u obesidad.

A pesar de que existen varios trabajos en los que se emplea el uso de desechos agroindustriales como fuente de compuestos bioactivos, no se ha reportado hasta el momento el efecto de su consumo en la prevención de la obesidad y sus complicaciones asociadas en una dieta alta en grasa y fructosa.

III. JUSTIFICACIÓN

Los desechos agroindustriales constituyen un problema para las empresas de alimentos debido a las implicaciones administrativas y ecológicas que representan. En las industrias productoras de jugos y néctares, éstos se encuentran constituidos por semillas, cáscaras y remanentes de pulpa, que pueden utilizarse como fuente de compuestos promotores para la salud, debido a su contenido de fibra dietaria y compuestos antioxidantes. Tal es el caso de los subproductos de mango, guayaba, durazno y manzana.

Tanto la fibra dietaria como los antioxidantes se han recomendado como suplementos en la prevención y tratamiento de la obesidad, que según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de 2012 presenta una prevalencia combinada con el sobrepeso en más del 30% de la población mexicana. Por lo tanto, este trabajo plantea la evaluación del efecto antiobesogénico de los subproductos de mango guayaba, durazno y manzana como fuente de fibra dietaria antioxidante.

IV. HIPÓTESIS

Los subproductos de mango, guayaba, manzana y durazno, provenientes de la industria productora de jugos, debido a su contenido de fibra dietaria y compuestos bioactivos podrían tener propiedades antiobesogénicas en un modelo animal a través de mecanismos relacionados con la disminución de la absorción intestinal de carbohidratos.

V. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar *in vitro* e *in vivo* el efecto antiobesogénico de subproductos agroindustriales provenientes de la elaboración de jugos de mango, guayaba, manzana y durazno.

5.2 Objetivos específicos

- Evaluar las características fisicoquímicas de los subproductos.
- Identificar y cuantificar compuestos polifenólicos
- Evaluar *in vitro* las características nutracéuticas de los subproductos:
 - 1) Capacidad antioxidante
 - 2) Atrapamiento de glucosa en un sistema de diálisis
 - 3) Inhibición de enzimas relacionadas con la digestión de almidón
- Determinar el efecto del consumo de los subproductos en animales alimentados con una dieta alta en grasa y fructosa sobre:
 - 1) Ganancia de peso corporal
 - 2) Perfil lipídico
 - 3) Resistencia a insulina
 - 4) Funcionamiento hepático

VI. METODOLOGÍA

Materiales

6.1 Material químico

Para fibra dietaria total se empleó el kit total dietary fiber assay de la marca Sigma Aldrich.

Kits para la determinación en suero de glucosa, triglicéridos, colesterol HDL, colesterol total, alanino aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST) y fosfatasa alcalina (ALP), de la marca Spinreact.

Kit de insulina por la técnica de ELISA, marca ALPCO.

α -amilasa y α -glucosidasa de Sigma Aldrich.

6.2 Material biológico

6.2.1 Animales de experimentación

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

6.2.2 Manejo de los subproductos de mango, guayaba, durazno y manzana.

Se recolectaron subproductos de la elaboración de jugo de mango, guayaba y durazno de la Sociedad Cooperativa de Trabajadores de Pascual, S.C.L ubicada en San Juan del Río, Querétaro, México. El subproducto de mango, variedad manila, está constituido de cáscara y remanentes de pulpa, el subproducto de durazno está formado por cáscara y pulpa y el de guayaba, de pulpa blanca, por semillas y restos de pulpa. Los muestreos se llevaron a cabo en el año 2013 en los meses de mayo para mango, junio para durazno y julio para guayaba blanca. El material se tomó directamente del canal de salida de desecho orgánico. El subproducto de manzana se obtuvo a través de la simulación del proceso de fabricación de jugo de manzana en la planta piloto de la Universidad

Autónoma de Querétaro. Para ello las manzanas, provenientes del municipio de San Joaquín, Querétaro; se lavaron, desinfectaron, descorazonaron y posteriormente procesaron en un extractor de jugos de la marca Turmix, se tomó como subproducto la fracción que no pasó por el tamiz.

Los subproductos se transportaron en cubetas de plástico cerradas y se guardaron en refrigeración a 4 °C por 2 horas hasta su secado, el cual se realizó durante 24 horas a una temperatura de 60 °C. El producto seco se molió en un molino pulverizador y se tamizó por una malla 40, posteriormente se envasó en recipientes impermeables a gases y luz (Saura y Jiménez, 2002).

Métodos

6.3 Caracterización fisicoquímica de los subproductos

6.3.1 Determinación del color

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

6.3.2 Capacidad de absorción de agua (CAA) y aceite (CAa)

La capacidad de absorción de agua (CAA), se midió siguiendo el método propuesto por Sathe y Salunkhe (1981). 1 g de muestra en polvo se colocó en un tubo de centrifuga, previamente pesado, donde se añadieron 10 mL de agua; se dejó en reposo 30 min con agitación cada 30 segundos, posteriormente se centrifugó a 262 rad/seg durante 10 min. El sobrenadante se desechó y se pesó el tubo con el pelet. El valor de CAA se calculó con la siguiente fórmula:

$$CAA = \frac{(\text{peso del tubo} + \text{sedimento}) - (\text{peso del tubo} + \text{peso de muestra inicial})}{\text{peso de muestra inicial}}$$

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

6.4 Caracterización nutracéutica

6.4.1 Determinación de la fibra dietaria total, soluble e insoluble

El contenido de fibra dietaria total, soluble e insoluble, se determinó por el método enzimático-gravimétrico (AOAC 985.29, 2002) utilizando el kit: total dietary fiber assay. Las muestras secas y libres de grasa se gelatinizaron con α -amilasa estable y luego se digirieron con enzimáticamente con proteasa y amiloglucosidasa para remover la proteína y el almidón presente en la muestra. Se adicionó etanol para precipitar la fibra dietaria soluble. El residuo se filtró y lavó con etanol y acetona, posteriormente se secó, pesó y determinó su contenido de proteína (AOAC 920.15, 2002) y ceniza (AOAC 923.03, 2005).

6.4.2 Cuantificación de compuestos fenólicos totales y/o extraíbles

Para la obtención del extracto se empleó la metodología planteada por Hassan y col. (2011), que consiste en una primera 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 determinación de fenoles totales correspondientes a la fracción de los polifenoles extraíbles, y se guardó el residuo para las determinaciones de polifenoles no extraíbles.

Para la determinación de polifenoles totales se utilizó el método de Folin y Ciocalteu sugerido por Singleton y col., (1999). La cuantificación se realizó utilizando una curva estándar de ácido gálico (AG), y se expresó como mg equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra seca (mg equivalentes AG/g de muestra seca).

6.4.3 Determinación de flavonoides totales

El contenido total de flavonoides de los extractos obtenidos en la sección 6.4.2 se estimó usando el método colorimétrico descrito por Heimler y col. (2006). A cada una de las muestras se le adicionaron 1250 μ L de agua destilada y después de adicionar 75 μ L de NaNO_2 al 5% se dejaron reposar por 6 minutos. Se

adicionaron 150 μL de AlCl_3 al 10% y se dejó reposar 5 minutos más. Después de esto se agregaron 500 μL de NaOH 1M y finalmente se completó el volumen a 2.5 mL con agua destilada. Después de 30 min se leyó la absorbancia a 510 nm, los resultados se expresaron en mg de (+)-catequina por gramo de extracto (mg cat/g extracto) calculados a través de una curva de calibración de catequina.

6.4.4 Cuantificación de fenoles no extraíbles

6.4.4.1 Cuantificación de taninos condensados

La cuantificación de taninos condensados se realizó mediante la hidrólisis ácida con *n*-butanol del residuo (pellet) de la extracción del subproducto descrito en la sección 6.4.2, siguiendo el método establecido por Zurita y col. (2012). Los residuos se secaron y se trataron con 10 mL de HCl /butanol (5:95, v/v) que contenía 0.7 g de FeCl_3/L a 100°C por 1 h. Los tubos luego se centrifugaron a 2500 g por 10 min, los sobrenadantes se recuperaron. Luego se realizaron dos lavados del precipitado con 5 mL de HCl /butanol/ FeCl_3 , el volumen final se aforó a 25 mL. Las absorbancias se leyeron a una longitud de onda de 450 y 555 nm. Los resultados se expresaron como mg de proantocinidinas por 100 gramos de muestra fresca.

6.4.4.2 Cuantificación de taninos hidrolizables

Se llevó a cabo una hidrólisis ácida con el fin de romper la estructura de la pared celular e hidrolizar polisacáridos y proteínas, permitiendo de esta manera la liberación de los polifenoles hidrolizables (Arranz, 2010). Se pesaron 20 mg del pellet seco de la técnica de fenoles extraíbles descrita en la sección 6.4.2, se adicionaron 2 mL de metanol/ H_2SO_4 (90:10), se dejó incubar a 85°C durante 20 horas. Después de este tiempo se centrifugaron los tubos a 3000 g y al sobrenadante se le ajustó el volumen a 3 mL con agua destilada, y se añadieron 4 volúmenes de etanolamina comercial (50 μL), agitando entre cada adición. A cada muestra se le agregó 500 μL de acetato de amonio 3.7 M y se ajustó de nuevo el pH a 5.5 con etanolamina. Se aforó a 4 mL con agua destilada y se mezcló. Se transfirieron 100 μL de la muestra en un tubo de 2 mL, se le agregaron 350 μL de

agua y 1000 μL de metanol y se mezcló. Los tubos se colocaron en baño de agua a 30 $^{\circ}\text{C}$. Para preparar el blanco en cada muestra se reemplazó los 350 μL de agua por HCl al 0.3 N. Se añadió 40 μL de KIO_3 y se colocó a baño maría a 30 $^{\circ}\text{C}$ durante 50 min. Se leyó la absorbancia a 525 nm (Hartzfeld y col., 2002).

6.4.5 Cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC-DAD

Los compuestos polifenólicos se identificaron y cuantificaron usando un sistema Agilent 1200 HPLC-DAD (Santa Clara, CA, EEUU). Las muestras (10 μL) se inyectaron en una columna de fase reversa (Phenomenex C18 250 mm x 4.6 mm, 5 μm) con una tasa de flujo de 1 mL/min. La fase móvil consistió de dos solventes: (A) ácido fórmico: agua 1:99 v/v y (B) acetonitrilo, en una proporción (A/B) de 98/2 a 0 min, 68/32 a 30 min, 45/55 a 48 min, 5/95 a 53 min, 98/2 a 57 min, con un tiempo total de 75 min. Las absorbancias se midieron a 280 y 320 nm (Figuroa y col., 2014). Para la muestra se realizó una extracción a una concentración de 10 mg de fibra/mL de metanol/agua (50:50) acidificada con HCl concentrado a pH 2. Las cuantificaciones se realizaron empleando los estándares de los siguientes ácidos fenólicos: clorogénico, gálico, cumárico, cafeico, sinápico, elágico, flavonoides como: epigallocatequina, epicatequina, rutina, galocatequina, catequina, eriocitrina y hesperidina.

6.4.6 Cuantificación espectrofotométrica de carotenoides

Para el procedimiento de extracción se usó la metodología propuesta por Olives y col. (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 minutos 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:

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

Dónde:

Abs= Absorbancia a 446 nm

PM= Peso molecular (536.8726 g/mol)

ϵ = Coeficiente de extinción molar para β caroteno ($24686 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)

Distancia= 1 cm

6.4.7 Determinación de capacidad antioxidante

6.4.7.1 Evaluación de la capacidad antinitrosativa

Para establecer la habilidad de los extractos para capturar el óxido nítrico (NO), se usó la metodología descrita por Giraldo y col. (2003), con algunas modificaciones. Se emplearon los extractos obtenidos en la sección 6.4.2, a cada tubo se le agregó diferentes alícuotas (0-1 mL) y se completó el volumen a 2 mL con agua destilada, inmediatamente se adicionó nitroprusiato de sodio (NPS, 0.4 mL, 113 mM), se agitó y se dejó incubar a temperatura ambiente durante 150 min sin protegerlo de la luz. Se agregó el reactivo de Griess: primero 0.4 mL del reactivo A (ácido sulfanílico al 1% en ácido fosfórico al 5%) y 10 min después se adicionó 0.4 mL del reactivo B (N-1 naftiletilenediamina al 0.1% en agua destilada); los tubos se dejaron en reposo durante 15 minutos, y se midió la absorbancia a 546 nm. Las lecturas de absorbancia decrecen con el aumento de la actividad antinitrosativa. La actividad antinitrosativa se estimó de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ PION} = \left[\frac{A_0 - A_M}{A_0} \right] \times 100$$

Dónde: % PION: corresponde al potencial inhibitorio del óxido nítrico

A_0 : es la absorbancia del control

A_M : es la absorbancia de la mezcla reaccionante

6.4.7.2 Método del DPPH

Se cuantificó la capacidad de los extractos obtenidos en la sección 6.4.2 para estabilizar el radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). El DPPH es caracterizado como un radical libre en virtud de la deslocalización de un par de electrones. Cuando una solución de DPPH es mezclada con una sustancia que puede donar un átomo de hidrógeno, se da lugar a la forma reducida, perdiendo de esta manera su color violeta característico.

Se adicionaron diferentes concentraciones de 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. Se calculó el porcentaje de inhibición, y los resultados se expresaron como concentración inhibitoria media (IC_{50}) (Molyneux, 2004).

6.4.8 Índice de retardamiento de diálisis de la glucosa, IRDG:

En una membrana de diálisis se incorporó 1 g de muestra con 25 mL de solución de glucosa (glucosa 6-fosfato, Sigma) con una concentración de 50 $\mu\text{mol/L}$, después se dializó contra 200 mL de agua destilada a 37 °C y se midió el contenido de glucosa en el dializado a diferentes tiempos (20, 30, 60, 120, y 180 min), empleando un kit enzimático para la cuantificación de glucosa (Hernández y col., 2008), los resultados se expresaron como la velocidad máxima de difusión ($\mu\text{mol/min}$).

6.4.9 Inhibición de enzimas relacionadas con el metabolismo de carbohidratos

Se realizaron ensayos con el fin de determinar los porcentaje de inhibición de α -amilasa (Kandra y col., 2005) y α -glucosidasa (Apostolidis y col, 2007). Todos los ensayos se llevaron a cabo tanto para el subproducto en polvo como para el extracto de polifenoles, el cual se concentró hasta obtener un precipitado que posteriormente se resuspendió. Para el ensayo de α -amilasa, se agregó 5 mL de una solución al 4% de almidón, 0.025 mg de la enzima y 17.5 mg de subproducto

o 70 µL del extracto. Se incubó a 37°C durante 30 min. Se determinó el contenido de glucosa en el sobrenadante usando un kit de ensayo de glucosa. Se realizó un control del experimento sin la adición de fibra ni extracto a la reacción.

Para la inhibición de la enzima α-glucosidasa se tomó 100 µL de enzima (1U/mL) y 0.005 gramos de cada subproducto en polvo o 30 µL del extracto (concentración 0.25 g/mL). Se incubó a 25°C por 10 min, posteriormente se adicionaron 50 µL de sustrato (p-nitrofenil-β-D-glucopiranosido), se incubó nuevamente y finalmente se leyó la absorbancia a 405 nm.

6.5 Estudios *in vivo*

6.5.1 Aclimatación de los animales de experimentación

Las ratas se sometieron a un período de adaptación de una semana en el bioterio, bajo un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas cada uno, a temperatura y humedad controladas (25 ± 2 °C y $55 \pm 15\%$ respectivamente) y con acceso libre a comida y agua.

6.5.2 Dieta obesogénica

Los animales se alimentaron con una dieta alta en grasa saturada y fructosa. La dieta estuvo constituida por 62.5% de la croqueta comercial, o dieta estándar, 18.75% de manteca de cerdo y 18.75% de fructosa. La composición nutrimental de ambas dietas se presenta en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Composición nutrimental de la dieta estándar y obesogénica.

	Dieta estándar (%)	Dieta obesogénica (%)
Humedad	12.0	8.8
Proteína	23.0	16.8
Grasa	4.5	16.9
Carbohidratos	46.5	47.6
Fibra	6.0	4.4

Minerales	8.0	5.8
------------------	-----	-----

6.5.3 Grupos experimentales

Se emplearon 48 ratas machos Wistar de 180 ± 20 gramos, se formaron 6 grupos de 8 animales cada uno. El consumo de agua y alimento fue *ad libitum*. El primer grupo (control sano), se alimentó con croqueta comercial para rata de la marca Rodent lab chow de Purina. El segundo grupo (control obeso), se alimentó con la dieta obesogénica. Para los cuatro grupos restantes la dieta obesogénica se suplementó con cada uno de los subproductos a evaluar: mango, manzana, guayaba y durazno, con el fin de ajustar un porcentaje final de fibra del 8%, pues cada subproducto presentó un contenido diferente de fibra. Este porcentaje equivalente a un consumo recomendado de 30 g por 2000 kcal (Cuadro 2, Figura 5). El estudio se llevó a cabo durante 14 semanas y semanalmente se midió el peso corporal.

Cuadro 2. Grupos experimentales para la evaluación del efecto de los subproductos.

Grupo	Dieta	Tratamiento
Control sano	Estándar	Dieta estándar
Control obeso	Obesogénica	Dieta obesogénica
Subproducto de guayaba	Obesogénica	Dieta obesogénica+ 4% de subproducto de guayaba ¹
Subproducto de manzana	Obesogénica	Dieta obesogénica+ 4% de subproducto de manzana ¹
Subproducto de durazno	Obesogénica	Dieta obesogénica+ 4% de subproducto de durazno ¹
Subproducto de mango	Obesogénica	Dieta obesogénica+ 4% de subproducto de manzana ¹

¹Porcentaje basado en el contenido de fibra de cada subproducto.

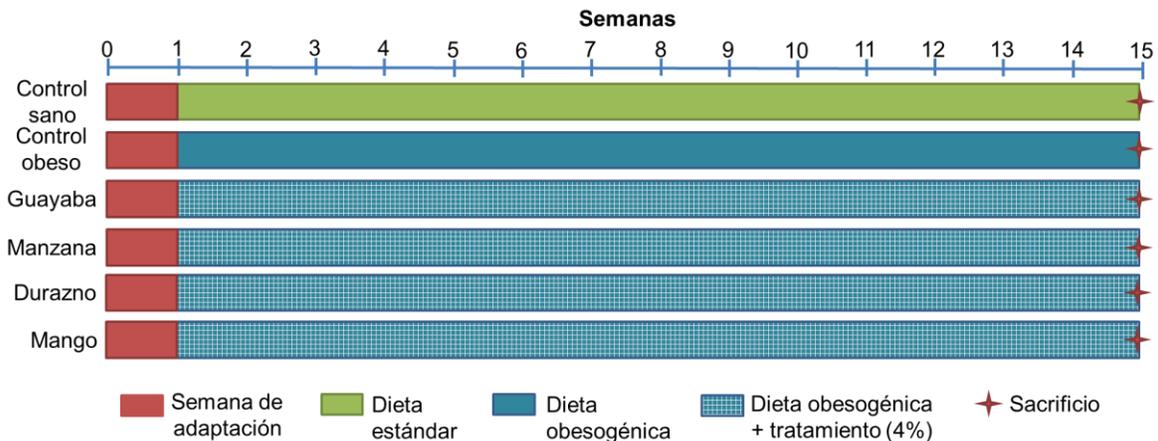


Figura 5. Estrategia general del modelo experimental en ratas alimentadas con subproductos.

6.5.4. Energía digerida de las dietas

En la semana 12, se recolectaron las heces y se registró la ingesta diaria de alimento para realizar el correspondiente balance energético. Tanto las heces, como las muestras de las diferentes dietas se secaron y se determinó su contenido energético y este se multiplicó tanto por el consumo de alimento como por la cantidad de heces excretadas en 24 horas. Para ello se empleó un calorímetro IKA KU600, en modo dinámico a 25 °C (Isken y col., 2010). La energía digerida de cada una de las dietas se calculó como:

$$\text{Energía digerida} = A - B$$

A= Ingesta energética de la dieta (kJ/g)

B= Pérdida de energía a través de las heces (kJ/g)

6.5.5 Evaluación de los subproductos como tratamiento preventivo de la obesidad y sus complicaciones

Sacrificio

Al final de 14 semanas de experimentación, los animales se mantuvieron en ayuno durante 12 horas. A la mañana siguiente se anestesiaron con éter y se tomó una muestra de sangre por punción cardíaca que fue centrifugada durante

10 min a 2500 x g para obtener el suero, que se almacenó a -70 °C hasta su posterior análisis.

6.5.5.1 Resistencia a insulina

- **Determinación de glucosa**

La cantidad de glucosa en suero se cuantificó con un kit enzimático de la marca Spinreact.

- **Cuantificación de insulina**

La cuantificación de la insulina se realizó en las muestras de suero utilizando un kit basado en el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). A partir del resultado obtenido se calculó el índice HOMA, con el fin de determinar si los animales presentaron algún grado de resistencia a la insulina. El valor de corte para resistencia a la insulina en ratas machos Wistar es de 7.1 (Cacho y col., 2008).

$$\text{HOMA} = \frac{\text{Insulina} \left(\frac{\mu\text{U}}{\text{ml}} \right) * \text{Glucosa} \left(\frac{\text{mmol}}{\text{L}} \right)}{22.5}$$

6.5.5.2 Perfil lipídico

En el suero se cuantificó la concentración de triglicéridos, colesterol HDL (lipoproteína de alta densidad) y colesterol total, mediante kits enzimáticos (Spinreact).

6.5.5.3 Enzimas hepáticas

Con el fin de evaluar la función hepática, se cuantificó en suero la concentración de las enzimas: aspartato aminotransferasa (AST), alanino aminotransferasa (ALT) y fosfatasa alcalina (ALP) a través de kits enzimáticos de la marca Spinreact. En ratas wistar normales se ha reportado que las actividades de las enzimas de los animales sanos deben estar entre 39.92-92 U/L para AST

(Jeong y col., 2009), 21.75 ± 4.74 U/L para ALT y 107.55 ± 24.34 para ALP (Antai y col, 2009).

6.6 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de la caracterización *in vitro* se expresaron como la media \pm la desviación estándar (DE) y las pruebas *in vivo* como la media \pm error estándar (EE). Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) a un nivel de confianza de 95%. La diferencia entre los subproductos evaluados se realizó mediante la comparación de medias por la prueba de Tukey y la de cada tratamiento *in vivo* con el grupo control sano, por la prueba de Dunnett. Los datos se analizaron con el paquete estadístico JMP 10.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Caracterización fisicoquímica de los subproductos de mango, guayaba, durazno y manzana

7.1.1 Determinación del color

En las frutas, el color está dado por diversos pigmentos, entre los que se encuentran las antocianinas, clorofilas, carotenoides, betalaínas, entre otros, siendo estos compuestos los responsables de colores rojo y violeta, verde, amarillo y naranja, y rojo respectivamente. Pueden presentar propiedades biológicas importantes como antioxidantes, agentes fotoprotectores y de defensa de las plantas (Delgado y col., 2000). De su presencia depende que tan atractivo sea un alimento para el consumidor.

Cuadro 3. Análisis de color de los subproductos de mango, guayaba, durazno y manzana.

Parámetro	Mango	Guayaba	Durazno	Manzana
L*	55.3 ± 1.2 ^d	66.9 ± 0.21 ^a	64.8 ± 0.86 ^b	57.8 ± 0.4 ^c
a*	7.1 ± 0.19 ^c	5.8 ± 0.21 ^d	8.0 ± 0.60 ^b	9.5 ± 0.2 ^a
b*	23.2 ± 0.89 ^c	24.7 ± 0.76 ^b	29.8 ± 1.31 ^a	29.7 ± 0.5 ^a
C*	24.3 ± 0.84 ^b	25.4 ± 0.79 ^b	30.9 ± 1.41 ^a	31.2 ± 0.5 ^a
H	72.9 ± 0.85 ^c	76.7 ± 0.20 ^a	74.9 ± 0.47 ^b	72.3 ± 0.3 ^c

Datos expresados como media ± DE. Determinaciones con tres réplicas cada uno. Valores con diferente letra en el mismo renglón indican diferencia significativa ($p < 0.05$) (Prueba de Tukey-Kramer). L*= luminosidad, a* y b*= cromaticidad, C* y h* representan el croma y el ángulo Hue, ambas combinaciones de las coordenadas a* y b*.

Para las frutas en estudio, se ha reportado la caracterización del color tanto de la piel como de la pulpa para diferentes variedades y estado de maduración. Por ejemplo, Ornelas-Paz y col. (2008) evaluaron cambios en el color durante el proceso de maduración de mango Manila y Ataulfo y su relación con el contenido de carotenoides, el cual incrementó de manera exponencial en el mango Manila. Soares y col., 2007 evaluaron la composición física y química de

guayaba blanca en tres estados de maduración (inmaduro, intermedio, maduro), y según los valores obtenidos para color la guayaba empleada en este estudio se encuentra en un estado maduro. Se ha reportado que factores como el estado de maduración, clima, momento de la recolección, variedad, irrigación, entre otras, influyen en el color de los frutos (Kays, 1999).

En el Cuadro 3 se presenta el análisis de color de las muestras en estudio. La luminosidad (L^*) fue mayor para las fibras de guayaba y durazno, respecto de la mostrada por los de manzana y mango. Este parámetro mide la luminosidad de la muestra analizada, representando el valor de 0 al negro y de 100 al blanco. El oscurecimiento de los subproductos puede estar asociado a reacciones de pardeamiento enzimático producido en las frutas al estar expuestas al oxígeno luego de ser procesadas, o, a un pardeamiento no enzimático, producido a través de la reacción de Maillard, propiciada por las temperaturas del proceso de secado (Ioannou y Ghoul, 2013).

Para el parámetro a^* , los resultados superiores a cero indican que predomina el tono rojo (a^*) sobre el verde ($-a^*$) en todas las muestras evaluadas. Hubo una mayor expresión de este tono en los subproductos de manzana y durazno, que en los de mango y guayaba. En el caso del mango Manila, los mayores valores de a^* se reportan en la pulpa (-2 en estado verde a 25 en estado maduro) a diferencia de la piel, donde los valores oscilan de -7 a 15 (Ornelas-Paz y col., 2008). Esto puede explicar los valores obtenidos en este trabajo, pues el subproducto está conformado en su mayoría por piel. La aparición de los tonos rojos en los frutos es debido a que durante el proceso de maduración se presenta la degradación de la clorofila, desenmascarando así el color de los demás pigmentos (Dutta y col., 2005).

El parámetro b^* indica que tan azul ($-b^*$) o amarillo (b^*) son los subproductos analizados. Al ser todos los valores mayores a cero, el color amarillo es predominante sobre el azul. Durazno y manzana no presentaron una diferencia significativa ($p < 0.05$) en lo relacionado al parámetro b^* , siendo estos los residuos

más amarillos. La manzana aunque no presenta un alto contenido de carotenoides, a diferencia del durazno y el mango, su color amarillo se puede deber a productos del pardeamiento enzimático, este mismo oscurecimiento podría suceder con el subproducto de guayaba pues se trata de una variedad blanca (Abbott y col., 2004).

La cromaticidad, C^* , fue significativamente mayor para los subproductos de manzana y durazno, que para los de guayaba y mango. El subproducto de manzana fue el que presentó los mayores valores de los parámetros a^* , b^* y C^* , siendo por tanto el que mayor intensidad, saturación o pureza del color (C.I.E, 1971) presentó.

7.1.2 Capacidad de absorción de agua (CAA) y aceite (CAa)

Los beneficios de la fibra dietaria dependen de sus propiedades fisicoquímicas como lo son las propiedades de hidratación, tamaño de partícula, densidad, características de la superficie, capacidad de intercambio catiónico, entre otros. El principal efecto fisiológico de la fibra es su capacidad de hincharse al absorber agua debido a la presencia de carbohidratos con grupos polares libres, la interacción con enlaces hidrófilos o a su retención dentro de la matriz. La capacidad de absorción de agua (CAA) es un indicador de la capacidad estructural que tiene cualquier material de absorber agua cuando están inmersos en una suspensión acuosa (Vázquez y col., 2009).

Se encontró que el subproducto de manzana puede retener hasta 7 veces su peso en agua, seguido de los subproductos de durazno (6 veces), mango (4 veces) y guayaba (3 veces) (Cuadro 4). Los subproductos con mayor contenido de fibra dietaria soluble, mango y durazno, que es la fracción de la fibra que presenta solubilidad en agua, no presentaron un mayor valor de CAA. Esto podría ser un indicativo de que las características físicas, como el tamaño de partícula, la densidad, la porosidad y la estructura, tienen un papel mucho más importante que la composición química (Daou y Zhang, 2011).

Cuadro 4. Capacidad de absorción de agua (CAA) y aceite (CAa) de los subproductos de mango, guayaba, durazno y manzana

Parámetro	Mango	Guayaba	Durazno	Manzana
Capacidad de absorción de agua¹	4.81 ± 0.02 ^c	3.67 ± 0.06 ^d	5.99 ± 0.13 ^b	7.31 ± 0.03 ^a
Capacidad de absorción de aceite²	2.49 ± 0.06 ^b	2.48 ± 0.00 ^b	2.43 ± 0.09 ^b	3.09 ± 0.08 ^a

Datos expresados como media ± DE. Determinaciones con tres réplicas cada uno. Valores con diferente letra en el mismo renglón indican diferencia significativa ($p < 0.05$) (Prueba de Tukey-Kramer). ¹CAA (mL agua retenida/g de fibra). ²CAa (mL aceite retenido /g de fibra).

Las interacciones del agua con la fibra dietaria se dan por medio de dos mecanismos; ya sea por la retención del agua en estructuras capilares como resultado de la tensión superficial, o por la interacción del agua con componentes moleculares a través de puentes de hidrógeno (Chen y col., 1984). Para otras fuentes de fibra se han reportado valores de CAA de 6 mL agua retenida/g de fibra para la zanahoria y el betabel (Zambrano y col., 2001) y de 12 mL agua retenida/g de fibra para la chía (Vázquez y col., 2009), siendo mayores a los valores obtenidos para los subproductos de mango y guayaba. Los resultados obtenidos con esta técnica pueden simular un indicativo de la función fisiológica intestinal, la fibra insoluble al atrapar agua produce un bolo fecal más suave y de mayor volumen facilitando de esta manera la evacuación, asimismo la fibra soluble al atrapar agua forma soluciones viscosas y se une a colesterol, grasas y azúcares disminuyendo de esta manera su absorción intestinal y por lo tanto su concentración en sangre (Slavin, 2008).

Para la capacidad de absorción de aceite (CAa), los subproductos de mango, guayaba y durazno no presentaron diferencia significativa entre ellas, siendo capaces de retener 2.4 veces su peso en aceite. Esto es mayor a lo reportado para la chía (2.02 g aceite/g muestra) (Vázquez y col., 2009), la cáscara de maracuyá (1.99 g aceite/g muestra) (Cruz, 2002) y la harina de curuba (1.09 g aceite/g muestra) (Belén y col., 2004). La CAa se encuentra relacionada con la

naturaleza de la superficie, la densidad y el grosor de las partículas. Las partículas que presentan mayor superficie de contacto tienen una mayor capacidad para retener componentes de naturaleza lipídica (López y col., 1996). Estas características los hacen adecuados para ser empleados en matrices alimentarias; por ejemplo la pulpa de manzana, debido a sus propiedades de CAA y CAa, se ha empleado en una variedad de productos alimenticios como embutidos, mermeladas y productos de panadería (Henríquez y col., 2010).

7.2 Caracterización nutracéutica

7.2.1 Determinación de la fibra dietaria total, soluble e insoluble

En el Cuadro 5 se presentan los resultados de fibra dietaria total (FDT), soluble (FDS) e insoluble (FDI). El residuo de guayaba presentó dos veces más FDT comparado con durazno, mango y manzana; estas tres últimas con valores similares.

El valor obtenido de FDT para mango fue de 37.12% y se trata del subproducto de mango variedad manila. Ajila y col. (2013) reportaron porcentajes de FDT entre 40.6–72.5 para cáscara de mango de las variedades Raspuri y Badami. Este contenido depende tanto de la variedad como del estado de maduración del fruto, siendo mayor para el mango maduro. Por su parte, García y col. (2013) cuantificaron el contenido de fibra dietaria de la cáscara de mango de las variedades Ataulfo y Tommy Atkins, obteniendo valores de 23.6 y 38.7%, respectivamente.

En guayaba, el contenido de FDT fue de $78.43 \pm 0.31\%$. Jiménez y col. (2001) y Ramulu y Rao (2003) reportaron para guayaba sin semilla, es decir pulpa y cáscara, un contenido de fibra dietaria total de 48.55 y 45.21%, respectivamente. Para la semilla de guayaba, que es el principal constituyente del subproducto, Chang y col. (2014) reportaron un contenido de fibra dietaria total del 61.8%. Martínez y col. (2012) evaluaron diferentes residuos procedentes de la extracción de jugos de fruta, entre ellos la guayaba, y encontraron un porcentaje de FDT de

69.1%; este valor es similar a lo encontrado en el presente trabajo (78.43%), pues ambos subproductos están formados tanto de semillas, que presenta el mayor contenido de fibra, como remanentes de pulpa y piel.

Cuadro 5. Contenido de fibra dietaria total, soluble e insoluble de los subproductos.

Subproducto	Mango	Guayaba	Durazno	Manzana
Fibra dietaria total, FDT	37.12 ± 0.45 ^b	78.43 ± 0.31 ^a	37.63 ± 0.11 ^b	28.91 ± 1.14 ^c
Fibra dietaria soluble, FDS	15.67 ± 0.15 ^a	4.26 ± 0.39 ^d	13.38 ± 0.03 ^b	7.55 ± 0.74 ^c
Fibra dietaria insoluble, FDI	21.18 ± 0.51 ^c	74.37 ± 0.18 ^a	24.26 ± 0.14 ^b	20.94 ± 1.50 ^c
Relación FDI:FDS	57.06 : 42.21	94.82 : 5.17	64.44 : 35.56	73.88 : 26.11
Proporción FDI/FDS	1.35	17.46	1.81	2.77

Los valores se expresan en porcentaje en base a materia seca y representan la media ± DE. Determinaciones con tres réplicas cada uno. Valores con diferente letra en el mismo renglón indican diferencia significativa ($p < 0.05$) (Prueba de Tukey-Kramer).

Grigelmo y col. (1999) evaluaron concentrados de fibra dietaria de varios subproductos industriales, entre ellos el durazno, y reportaron contenido de FDT entre 30.7–36.1%, de los cuales el 23.8% corresponde a la FDI y el 12.3% a la FDS, valores similares a los reportados en este trabajo.

El resultado para el subproducto de manzana (28.91%) fue similar a lo reportado por Gorinstein y col., (2002), quienes analizaron el contenido de FDT tanto de la cáscara como de la pulpa de manzanas de la variedad Golden Delicious, y encontraron valores de 28.7% para la cáscara y de 21.9% para la pulpa.

En todos los subproductos, la FDI fue la fracción más abundante en relación a la FDT. La guayaba presentó la mayor proporción (94.82%), seguida de la manzana (73.88%), el durazno (64.44%) y el mango (57.06%) (Cuadro 5). Sin embargo, la fracción de FDS en relación a la FDT, fue mucho mayor (5.17-

42.21%) a la encontrada en el salvado de algunos cereales (2.9-3.6%) (Grigelmo y col., 1999), por ello es que se considera que es más completa la fibra dietaria de las frutas porque tiene mayor contenido de FDS que es a la que mayor cantidad de efectos fisiológicos se le otorgan.

La proporción entre las fracciones de FDI/FDS de mango (1.35) y durazno (1.81) están dentro de lo recomendado por Spiller (1986), quien sugiere que se deben encontrar en un rango de 1.0-2.3, esto con el fin de lograr los efectos fisiológicos de ambas fracciones. El valor de la manzana es ligeramente superior al recomendado (2.77), pero dicho valor fue muy alto para el subproducto de guayaba (17.46), debido a que tiene un alto contenido en FDI ($74.37 \pm 0.18\%$) otorgado por las semillas. Los cereales presentan una fracción más elevada que las frutas; por ejemplo, Grigelmo y col. (1999) reportaron para salvado de trigo y salvado de avena valores de 14.15 y 5.62, respectivamente, pues su contenido de FDI es mayor.

Cada fracción, FDI y FDS, tienen un efecto fisiológico diferente, por lo tanto se habla de un comportamiento sinérgico. La fibra dietaria insoluble se encuentra relacionada con la regulación intestinal, la absorción de agua y un aumento de la masa fecal (Escudero y col., 2006), siendo estos los efectos esperados en el caso del subproducto de guayaba.

En el caso de la FDS al mezclarse con el agua adquiere viscosidad. Esta propiedad retarda el vaciamiento gástrico, así mismo, disminuye la absorción de nutrientes como la glucosa, lípidos y colesterol en el intestino delgado, pues al unirse a estos reduce su liberación (Klont, 2000). También retarda la acción de enzimas digestivas como la alfa amilasa (Ou y col., 2001), disminuyendo la glicemia postprandial. El mango sobresale entre los demás residuos por ser el que mayor proporción de FDS presenta, y es esta la que mayores efectos benéficos a la salud se le han otorgado.

7.2.2 Cuantificación de compuestos fenólicos y carotenoides

En el Cuadro 6 se presentan los resultados de polifenoles extraíbles, que son aquellos que se solubilizan en los disolventes acuoso-orgánicos y que son absorbidos de forma total o parcial en el intestino delgado; así como los valores de polifenoles no extraíbles, los cuales quedan retenidos en el residuo resultante tras la extracción acuoso-orgánica y que a nivel biológico llegan casi intactos al colon; y carotenoides.

Cuadro 6. Contenido de polifenoles extraíbles, polifenoles no extraíbles y carotenoides de los subproductos.

	Mango	Guayaba	Durazno	Manzana
Compuestos fenólicos^{1*}	102.01 ± 3.5 ^a	7.53 ± 0.3 ^d	83.59 ± 1.5 ^b	12.68 ± 1.3 ^c
Flavonoides^{2*}	15.21 ± 0.2 ^a	2.30 ± 0.1 ^c	3.85 ± 0.1 ^b	0.66 ± 0.1 ^d
Taninos hidrolizables^{3**}	0.35 ± 0.0 ^a	0.07 ± 0.0 ^c	0.16 ± 0.0 ^b	0.05 ± 0.0 ^c
Taninos condensados^{4**}	9.42 ± 0.9 ^c	13.19 ± 1.7 ^{ab}	16.3 ± 0.1 ^a	10.42 ± 0.5 ^{bc}
Carotenoides⁵	153.57 ± 3.5 ^a	0.02 ± 0.0 ^c	123.24 ± 3.3 ^b	0.05 ± 0.0 ^c

Datos expresados como media ± DE. Experimentos con tres réplicas cada uno. Valores con diferente letra en la misma fila indican diferencia significativa ($p < 0.05$) (Prueba de Tukey-Kramer). ¹Compuestos fenólicos (mg Equivalentes de ácido gálico/g de materia seca). ²Flavonoides (mg Equivalentes de catequina/g de materia seca). ³Taninos hidrolizables (mg Equivalentes de metil galato/g de muestra). ⁴Taninos condensados (PA mg/g). ⁵Carotenoides (mg de β -caroteno/g de materia seca). *Polifenoles extraíbles y **Polifenoles no extraíbles

7.2.2.1 Compuestos polifenólicos extraíbles

Los polifenoles extraíbles como los ácidos fenólicos y los flavonoides constituyen la principal fuente de antioxidantes de la dieta, estos destacan como agentes bioactivos que previenen o disminuyen el desarrollo de enfermedades crónicas (Martin y Appel, 2009), de ahí la importancia de determinar su contenido en los alimentos. Para compuestos fenólicos, así como, para los flavonoides, se encontró los valores mayores para el subproducto de mango, seguido de durazno,

guayaba y por último manzana. El mango presentó una concentración de compuestos polifenólicos de 102 mg Eq de ácido gálico/g. Este resultado es similar a lo encontrado por Gutiérrez (2013), quien reportó valores de 101.56 mg/g para un subproducto similar; y por Ajila y col (2007) quienes analizaron el extracto acetónico de la piel del mango Raspuri y Badami en diferentes estados de maduración y encontraron valores de 54.6-109.7 mg Eq de ácido gálico/g, este contenido fue menor en la piel del mango maduro. Sin embargo en este trabajo y en el de Gutiérrez (2013) a pesar de que se utilizó mango maduro se empleó una extracción doble, la primera con etanol:agua a pH 2, y la segunda con acetona:agua (sección 6.4.2), por lo que es mayor la cantidad de compuestos polifenólicos extraídos.

Para durazno Manzoor y col. (2012) reportan un contenido de compuestos fenólicos de 71.17 a 88.13 mg Eq de ácido gálico/g para la pulpa y de 120.93 a 135.45 para la piel, estos resultados dependen de la variedad estudiada. El resultado obtenido en este trabajo fue de 83.59 mg/g, este valor se encuentra en el intervalo reportado para la pulpa que es el principal constituyente del subproducto. En la guayaba, Bashir y Goukh (2002) evaluaron los cambios en composición de la guayaba de pulpa blanca y rosada durante el proceso de maduración; respecto al contenido de fenoles totales reportaron que el mayor contenido se encuentra en la guayaba rosada que en la blanca, y a su vez es mayor en la cáscara (55 mg Eq de ácido gálico/g) que en una mezcla de pulpa y semillas (40 mg Eq de ácido gálico/g). Abdeldaiem y col. (2014) evaluaron el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante de semillas de guayaba desengrasadas encontrando un contenido de compuestos fenólicos de 3.51 mg Eq de ácido gálico/g, similar al resultado obtenido en este trabajo, 7.53 mg Eq de ácido gálico/g, pero en este caso la muestra no fue desengrasada y su contenido de grasa es de aproximadamente 11%.

Respecto al contenido de flavonoides, Palafox y col. (2012) reportaron valores de 8.5 mg Eq de catequina/g para cáscara de mango Ataulfo, menor a lo encontrado en este estudio para mango Manila (15.21 mg Eq de catequina/g),

esto podría atribuirse al proceso de extracción de estos compuestos, el cual se llevó a cabo de diferente manera por lo que probablemente se podrían extraer mayor cantidad de flavonoides.

Para durazno, la concentración de flavonoides fue de 3.85 mg Eq de catequina/g. Se han reportado contenidos promedio de flavonoides en diferentes variedades de durazno, de 6.87 para cáscara y 3.94 para pulpa (mg Eq de catequina/g muestra seca) (Manzoor y col., 2012).

7.2.2.2 Compuestos polifenólicos no extraíbles

En el Cuadro 6 se encuentran los resultados obtenidos para taninos hidrolizables, expresados como equivalentes de metil galato/g de muestra. Los subproductos de mango (0.338) y durazno (0.164) presentaron un mayor contenido, seguido de la guayaba (0.084) y la manzana (0.051), estos dos últimos no presentaron diferencia significativa entre ellos. En el mango, el resultado fue similar al encontrado por Gutiérrez (2013). En esta fruta, los taninos hidrolizables, junto con el ácido gálico, constituyen los principales antioxidantes y su contenido disminuye a medida que el fruto madura (Kim y col., 2007). Sáyago y col. (2013) evaluaron el perfil de taninos hidrolizables de subproductos industriales para mango Ataulfo e identificaron una serie de galotaninos de 5 a 13 unidades, con efectos potenciales para la salud como antiaterogénicos, antitrombóticos y antiinflamatorios.

Para los taninos condensados o proantocianidinas (Cuadro 6), se encontró una mayor concentración para el subproducto de durazno, seguido del de manzana, mango y finalmente guayaba. Misra y Seshadri (1967) identificaron proantocianidinas en guayaba blanca y rosada y encontraron una mayor concentración de estos compuestos en la cáscara y en la semillas, y muy baja en la pulpa.

Los efectos biológicos de los taninos dependen usualmente del grado de polimerización y solubilidad (Svedstrom y col., 2002). Los taninos altamente

polimerizados como las proantocianidinas poliméricas presentan una baja bioaccesibilidad en el intestino delgado y baja fermentabilidad por la microflora colónica (Serano y col., 2009). Bagchi y col. (1999) y Liu y col. (2009) han reportado que estos compuestos presentan un amplio rango de actividad biológica y farmacológica, pues presentan actividad antioxidante, cardioprotectora, antitumoral, antibacterial, antiviral y antiinflamatoria.

Se debe tener en cuenta que los taninos también podrían considerarse como antinutrientes, debido a su capacidad de formar complejos con macromoléculas como proteínas y carbohidratos, disminuyendo la digestibilidad de las proteínas dietarias, al reducir su disponibilidad para ser digeridas y absorbidas (Bennik, 2002). Los taninos además pueden inhibir enzimas digestivas (Brás y col., 2010) y actuar como disuasivos de la alimentación, pues producen la precipitación de proteínas de la saliva (Soares y col, 2012); sin embargo, estos efectos dependen de la cantidad ingerida. En un estudio *in vivo* concentraciones de taninos de 10 g/kg de dieta, afectaron el crecimiento y la digestibilidad en ratas, dosis menores no tuvieron ningún efecto negativo (Mennen y col., 2005).

7.2.2.3 Contenido de carotenoides

Los carotenoides se caracterizan por ser compuestos que otorgan color a las plantas (principalmente frutas y vegetales) y que poseen efectos benéficos para la salud; entre estos destaca su función como antioxidantes (Johnson, 2002). Su contenido en los alimentos se ve influenciado por factores climáticos, geográficos, prácticas de cultivo, estado de madurez y almacenamiento de los frutos (Mainai y col., 2009). En los subproductos evaluados, los de mango y durazno presentaron un mayor contenido (153.57-123.24 mg de β -caroteno/g, respectivamente). Este resultado era de esperar, pues en estado fresco sus colores oscilan entre el amarillo, naranja y rojo, y los carotenoides son los responsables de otorgar estos colores. Gil y col. (2002) evaluaron diferentes cultivares de durazno y encontraron contenidos de carotenoides entre 71-210 mg/g peso fresco para frutas con pulpa amarilla, siendo similar a la variedad

empleada en este trabajo. La manzana y la guayaba presentaron contenidos muy bajos (0.02-0.05 mg de β -caroteno/g) (Cuadro 6), lo que probablemente se debe a las variedades bajo estudio, pues en guayaba se ha reportado estos valores en las variedades rojas (Mercadante y col., 1999) y la utilizada en este trabajo fue blanca. Además, en estas frutas no es característico un contenido elevado de estos compuestos.

Los carotenoides se caracterizan por presentar una baja tasa de absorción, pues interactúa con macromoléculas dentro de la matriz del alimento (van het Hof y col., 2000). Se ha sugerido que la fibra dietética promueve un efecto negativo sobre la absorción de carotenoides mediante el atrapamiento y la interacción con los ácidos biliares que resulta en aumento de la excreción fecal de grasas y sustancias solubles en grasa, tales como, los carotenoides (Yeum y Russell, 2002).

7.2.3 Cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC-DAD

En el cuadro 7 se presenta la cuantificación de 13 compuestos polifenólicos de los subproductos. El residuo de mango presentó la mayor concentración de estos fenoles, observándose los siguientes compuestos: ácido clorogénico, ácido gálico, ácido cumárico, ácido cafeico, ácido sinápico, ácido elágico, epigallocatequina, epicatequina, rutina, galocatequina, catequina, eriocitrina y hesperidina. De esta última, la muestra de mango contiene 135 veces más concentración que la muestra de durazno y 25 veces más que la de guayaba. La hesperidina tiene acciones farmacológicas como antioxidante, antihiperlipidémico, cardioprotector y antihipertensivo. Estos efectos se atribuyen principalmente a un mecanismo de defensa antioxidante y a la supresión de la producción de citocinas proinflamatorias (Zanwar y col., 2014).

Ajila y col. (2010) identificaron al ácido gálico, ácido siríngico, ácido elágico, mangiferina, ácido gentísico, protocatéuico y quercetina, en un extracto acetónico de la cáscara de mango maduro variedad Badami. Por su parte, Ajila y Prasada

(2013) identificaron los flavonoides rutina, quercetina y kaempferol en cáscara de mango de las variedades Raspuri y Badami.

Cuadro 7. Contenido de compuestos fenólicos identificados por HPLC-DAD

Compuesto fenólico	TR	Durazno	Guayaba	Mango	Manzana
Ácidos fenólicos: hidroxibenzoicos					
Ácido clorogénico	2.1	84±4 ^b	1.9±4 ^b	3204±60 ^a	80±8 ^b
Ácido gálico	4.4	3332±200 ^c	DLD	6916±360 ^b	28288±988 ^a
Ácido cumárico	16.1	32±4 ^b	20±4 ^b	648±60 ^a	DLD
Ácido cafeíco	12.3	20±4 ^a	20±4 ^a	24±4 ^a	DLD
Ácido sinápico	19.1	DLD	24±4 ^b	404±8 ^a	20±4 ^b
Ácido elágico	29.7	124±8 ^a	24±4 ^c	68±8 ^b	DLD
Flavonoides: Flavanoles					
Epigallocatequina	25.6	24±2 ^b	24±4 ^b	184±32 ^a	DLD
Epicatequina	2.4	56±2.1 ^b	148±8 ^b	18264±132 ^a	DLD
Rutina	20.4	176±28 ^b	24±0.0 ^b	5900±372 ^a	244±20 ^b
Galocatequina	24.8	8±0.0 ^b	8±0.0 ^b	216±16 ^a	DLD

Catequina	3.0	64±4 ^c	12±0.0 ^c	368±28 ^b	752±36 ^a
Flavonoides: Flavonona					
Eriocitrina	19.4	8±0.0 ^{ab}	12±4 ^a	12±4 ^a	DLD

Datos expresados como media ± desviación estándar. Experimentos con tres determinaciones independientes cada uno. Valores con diferente letra en la misma fila indican diferencia significativa ($p < 0.05$) (Prueba de Tukey-Kramer). Los resultados están expresados como μg de compuesto por g de muestra seca. DLD: Debajo del límite de detección.

El ácido gálico fue el ácido fenólico más abundante en todos los subproductos. Hsu y Yen (2007) evaluaron el efecto antiobesogénico en un modelo animal inducido con una dieta alta en grasa. Las ratas suplementadas con 100 mg/kg de ácido gálico presentaron una disminución significativa de la ganancia de peso corporal y de la esteatosis hepática producida por el consumo de la grasa. Así mismo, disminuyó el estrés oxidativo y los niveles en sangre de triglicéridos, fosfolípidos, colesterol total, LDL e insulina.

7.2.4 Determinación de capacidad antioxidante

La evaluación de la capacidad antioxidante se llevó a cabo a través del ensayo de DPPH y de la capacidad antinitrosativa (Cuadro 8). Los resultados se expresan como la concentración inhibitoria media (IC_{50}), es decir, la cantidad de subproducto necesario para inhibir el 50% del radical; por lo tanto entre menor IC_{50} , mayor capacidad antioxidante presenta la muestra.

El ensayo de DPPH involucra una reacción de transferencia de electrones; por lo tanto, este ensayo detecta la capacidad de un antioxidante de transferir un electrón para reducir un compuesto (Wright y col., 2001). El subproducto de mango presentó la mayor capacidad antioxidante, seguido de manzana y guayaba. La variación en el poder antioxidante de las muestras podría depender de la accesibilidad de sus compuestos fenólicos al centro del radical DPPH (Mathew y Abraham, 2006), además esta técnica mide la capacidad antioxidante de compuestos poco polares.

El subproducto de mango mostró la mayor habilidad reductora hacia el radical DPPH; esto se puede atribuir a que presenta una concentración más elevada de compuestos fenólicos. Al realizar un análisis se encontró una correlación inversa (-0.6905) entre el contenido de flavonoides y el CI_{50} , es decir, entre mayor contenido de flavonoides, menor cantidad de muestra para inhibir el radical DPPH. Escamilla y col. (2009) reportaron que la capacidad antioxidante de los flavonoides, debido a su estructura, presentan propiedades quelantes de hierro y secuestradores de radicales libres. Así mismo, los flavonoides que presentan constituyentes dihidroxílicos (2 grupos hidroxilos) en posiciones 3' y 4' en el anillo B, muestran una mayor acción antioxidante. En mango la quercetina es uno de los flavonoides más abundantes y esta se caracteriza por su acción antioxidante (Ajila y Prasada, 2013).

Cuadro 8. Concentración inhibitoria media (CI_{50}) de los extractos de los subproductos.

Muestra	DPPH'	NO'
Mango	14.4 ± 4.2 ^d	18.87 ± 0.4 ^c
Durazno	287.5 ± 3.1 ^a	77.6 ± 3.0 ^c
Guayaba	172.5 ± 20.3 ^b	375.2 ± 28.9 ^b
Manzana	125.3 ± 9.1 ^c	928.1 ± 68.7 ^a
Trolox	3.38 ± 0.15 ^d	ND
Catequina	ND	2.5 ± 0.1 ^c
Correlación con compuestos polifenólicos	-0.1573	-0.7974
Correlación con flavonoides	-0.6905	-0.6449

Los valores representan la media ± DE. Experimentos con tres réplicas cada uno. Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) (Prueba de Tukey-Kramer). Los valores representan el CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$). ND: No determinada.

Se evaluó la capacidad de los extractos de los subproductos para inhibir la formación del óxido nítrico (NO'); compuesto que se encuentra naturalmente en el organismo; sin embargo cuando es producido en exceso forma especies reactivas de nitrógeno, que incrementan la inflamación crónica (Nathan, 2008).

Los subproductos con mayor capacidad antinitrosativa fueron mango y durazno, los cuales no presentaron diferencia estadística significativa con el estándar catequina. Indicando que una menor concentración de estos subproductos, en comparación con los de guayaba y manzana, influye en mayor medida en la conversión del óxido nítrico a nitrito, ocasionando así una menor formación del cromóforo y por lo tanto menor absorbancia.

Al llevar a cabo un análisis de correlación ($p \leq 0.05$) de la capacidad antinitrosativa (CI_{50}) y la composición fitoquímica de los subproductos, se observó que dicha capacidad se ve influenciada en gran manera por el contenido de taninos hidrolizables (0.7805), compuestos fenólicos (-0.8101), flavonoides (-0.6816) y carotenoides (-0.8341). Estos resultados demuestran que estos fitoquímicos tienen un efecto importante en la capacidad antioxidante y que son moléculas biológicamente activas (Cuadro 8).

Los subproductos evaluados presentaron variaciones en los resultados de capacidad antioxidante ya sea debido a factores intrínsecos como solubilidad de los extractos en el sistema de la prueba, la posición y número de los sustituyentes donadores de electrones en la molécula antioxidante, la estequiometría de la reacción entre el extracto y el radical, y la estereoselectividad de los radicales (Mathew y Abraham, 2006).

7.2.5 Índice de retardamiento de diálisis de la glucosa (IRDG):

Esta técnica es capaz de predecir el efecto bloqueador de muestras en la absorción de glucosa en el tracto gastrointestinal (López y col., 1996), a mayor velocidad de diálisis, menor efecto retardador del paso de glucosa. El cuadro 9 muestra los datos de velocidad máxima de difusión de glucosa total en el sistema de diálisis utilizado.

Ninguno de los subproductos mostraron características de retención de glucosa, pues su velocidad máxima de difusión fue similar e incluso mayor al control; el cual permite libremente el paso de la glucosa a través de la membrana

de diálisis. Los subproductos de durazno y mango no presentaron diferencia significativa respecto al control; mientras que, guayaba y manzana incluso presentaron una mayor velocidad de difusión, lo que sugiere que estos materiales están aportando glucosa al sistema de dializado. Este resultado no era de esperarse, pues se ha reportado que uno de los efectos de la fibra es retardar la difusión de glucosa, es decir el paso de glucosa desde la zona de mayor concentración hacia la de menor concentración (Ou y col., 2001; Srichamroen y Chavasit, 2011); sin embargo, los subproductos presentan un contenido elevado de azúcares solubles, los cuales se pueden estar liberando al dializado.

Cuadro 9. Efecto de los subproductos sobre el atrapamiento de glucosa *in vitro*.

Muestra	Velocidad máxima de difusión¹
Mango	20.1 ± 0.3 ^{bc}
Durazno	18.8 ± 1.3 ^c
Guayaba	23.4 ± 0.5 ^a
Manzana	22.8 ± 0.7 ^{ab}
Control	17.4 ± 0.4 ^c

Los valores representan la media ± DE. Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) (Prueba de Tukey-Kramer). ¹Velocidad máxima de difusión de glucosa en un sistema glucosa-fibra ($\mu\text{mol}/\text{min}$).

7.2.6 Inhibición de enzimas relacionadas con el metabolismo de carbohidratos

Se evaluó el efecto de los subproductos sobre la actividad de enzimas relacionadas con la hidrólisis de carbohidratos, para lo cual se determinó el porcentaje de inhibición de los subproductos en polvo y sus extractos polifenólicos concentrados sobre la enzima α -amilasa y α -glucosidasa (Cuadro 10).

La α -amilasa es una enzima que tiene como función hidrolizar los enlaces $\alpha,1-4$ del almidón para producir maltosa, maltotriosa y glucosa libre. Tanto la maltosa como la maltotriosa son hidrolizadas por la acción de la enzima maltasa y

la isomaltasa, que posteriormente liberan glucosa libre para su posterior absorción (Gropper y col., 2009).

El subproducto de mango, tanto el polvo como su extracto de polifenoles, mostró el mayor efecto en la inhibición de la actividad de la α -amilasa (29.9 y 44.2%, respectivamente). En contraste, el subproducto de durazno presentó la menor actividad inhibitoria, a pesar de que fue la segunda muestra con mayor contenido de compuestos polifenólicos; lo que indicaría que dicha inhibición depende más del tipo de compuestos que forman la matriz, que de la cantidad.

Al realizar un análisis de correlación, la disminución de la actividad de la enzima presenta una correlación del 0.6719 con el contenido de flavonoides, por lo que podrían estar relacionados con dicha inhibición. Piparo y col. (2008) reportaron que la actividad inhibitoria de flavonoides como los flavonas y flavonoles sobre la inhibición de la α -amilasa depende de los enlaces de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de los ligandos del fenol y los residuos catalíticos del sitio activo, además de la formación de un sistema π -conjugado que estabiliza la interacción con el sitio activo. En el caso del residuo de mango, este presentó la mayor concentración de flavonoles como quercetina y epigallocatequina.

Cuadro 10. Porcentaje de inhibición de la enzima α -amilasa y α -glucosidasa de los extractos polifenólicos y de las muestras en polvo de los subproductos.

Sub-producto	% de inhibición de α -amilasa		% de inhibición de α -glucosidasa	
	Polvo ¹	Extracto ²	Polvo ³	Extracto ⁴
Mango	29.97 \pm 1.8 ^a	44.2 \pm 2.6 ^a	90.8 \pm 3.6 ^a	14.14 \pm 1.5 ^a
Guayaba	3.31 \pm 0.4 ^c	22.8 \pm 2.4 ^b	42.6 \pm 4.1 ^c	5.88 \pm 1.8 ^b
Durazno	0.63 \pm 0.0 ^c	3.3 \pm 0.9 ^c	63.7 \pm 2.5 ^b	15.40 \pm 0.8 ^a
Manzana	10.08 \pm 1.6 ^b	26.4 \pm 1.4 ^b	27.4 \pm 5.1 ^c	4.79 \pm 0.4 ^b
Correlación con flavonoides	0.9200	0.6719	0.9257	0.6569

Datos expresados como media \pm DE. Determinaciones con tres réplicas cada uno. Valores con diferente letra en la misma columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$) (Prueba de Tukey-Kramer). ¹ pruebas realizadas para la muestra en polvo, 17.5 mg. ² Extracto compuestos polifenólicos extraíbles, 17.5 mg. ³ pruebas realizadas para la muestra en polvo, 5 mg. ⁴ Extracto compuestos polifenólicos extraíbles, 5 mg. Análisis de correlación ($p < 0.05$).

También es posible que la disminución de la actividad de la enzima por parte de los subproductos en polvo puede deberse a la encapsulación del sustrato y/o la enzima (Ou y col., 2001), reduciendo la accesibilidad de la enzima al almidón y/o la absorción directa de la enzima sobre las fibras (Chau y col., 2003).

Respecto a la inhibición de la enzima α -glucosidasa esta se presenta en el Cuadro 10. Esta enzima se encuentra ubicada en el borde del cepillo del intestino delgado, actúa sobre los enlaces α , 1-4 y su función es hidrolizar los oligosacáridos y polisacáridos, produciendo monosacáridos absorbibles. Los subproductos en polvo que mayor inhibición presentaron sobre esta enzima fueron el de mango (90.8%) y durazno (63.7%). A pesar de que los compuestos fenólicos y flavonoides han sido reportados como inhibidores eficaces de esta enzima (Kwon y col., 2008). En este estudio, los extractos de compuestos fenólicos de los subproductos de mango y durazno tuvieron una baja inhibición, de 14.1 y 15.4% respectivamente. La gran disminución de la actividad ocasionada por los subproductos en polvo, puede deberse a atrapamiento de la enzima o de su sustrato.

En las situaciones de obesidad, sobrepeso y diabetes, se emplea inhibidores de estas enzimas debido a que ayudan a disminuir la tasa de absorción de glucosa y por ende la concentración de glucosa postprandial en suero, pues una hiperglicemia prolongada es el factor primario de varias complicaciones (Mukherjee y Sengupta, 2013).

7.3 Modelo *in vivo*.

7.3.1 Efecto del consumo de los subproductos sobre el peso corporal

Para determinar el efecto de los subproductos en la obesidad se realizó un estudio con animales alimentados con una dieta alta en grasa y fructosa y suplementada con 4% de fibra proveniente de los subproductos. En la Figura 6 se muestran los resultados de peso corporal de los grupos de experimentación. A partir de la semana 12 se observó una diferencia estadística significativa entre el grupo obeso y el sano ($p < 0.05$). El aumento en el peso corporal de los animales obesos es ocasionado por el exceso de energía ingerida, dicha energía se almacenan en forma de triglicéridos en el tejido adiposo, los cuales pueden sintetizarse a partir de los ácidos grasos de la dieta o bien mediante el metabolismo de la fructosa (Huang y col, 2011).

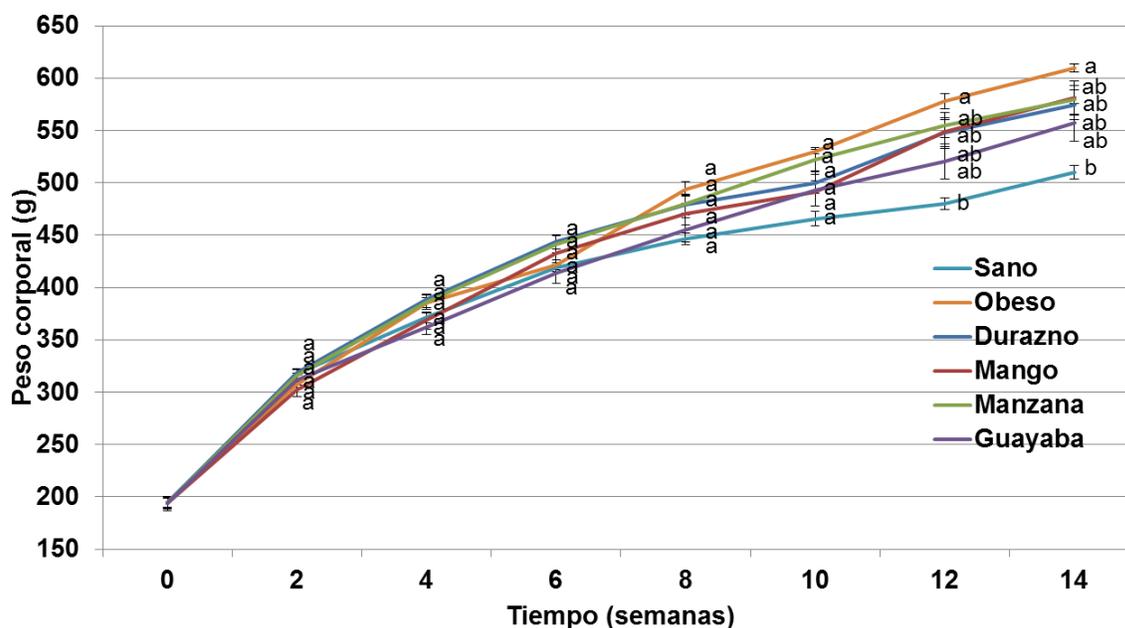


Figura 6. Peso corporal de ratas alimentadas con una dieta alta en grasa y fructosa, y suplementadas con los subproductos. Los datos se expresan como la media \pm EE.

Respecto a los tratamientos, el grupo con menor ganancia de peso fue el suplementado con el subproducto de guayaba, el cual en la semana 14 mostró una menor ganancia de peso (aproximadamente 8%) en comparación con los animales obesos. La característica más notable de este subproducto de guayaba

es su mayor contenido de fibra dietaria insoluble (74.37%). Isken y col (2010) realizaron un estudio durante 45 semanas en ratones C57BL/6J alimentados con una dieta alta en grasa y suplementada con fibra soluble, goma guar, e insoluble, mezcla de celulosa, hemicelulosa y lignina, y encontraron que los animales suplementados con la fibra insoluble (10% p/p) presentaron la menor ganancia de peso, debido a un aumento en el catabolismo de ácidos grasos.

Los animales suplementados con manzana, mango y durazno presentaron una ligera disminución de peso entre el 4 y 5% en relación al grupo obeso, sin embargo, no presentaron diferencia estadísticamente significativa. Dicha disminución no se dio por efectos de saciedad, ya que no se presentaron diferencias significativas entre el consumo de alimento de los grupo control obeso (23.65 g por día) y los alimentados con la dieta suplementada con subproducto (20.3 g por día).

7.3.2 Energía digerida de las dietas

En el Cuadro 11 se presentan los datos de la energía digerida de los animales en estudio.

Cuadro 11. Energía digerida de los grupos tratados con un suplemento de los subproductos.

Grupo	Energía digerida (Kcal)
Sano	13.03 ± 2.0 ^b
Obeso	24.94 ± 2.0 ^a
Mango	18.92 ± 2.0 ^{ab}
Durazno	20.50 ± 2.8 ^{ab}
Guayaba	19.62 ± 2.3 ^{ab}
Manzana	21.49 ± 2.0 ^{ab}

Datos expresados como media ± EE. Promedio de cuatro animales cada uno. Valores con diferente letra en la misma columna indican diferencia significativa ($p < 0.01$) (Prueba de Tukey-Kramer).

Los animales del control sano presentaron la menor cantidad de energía digerida, pues su dieta se compone de alimento estándar que contiene 4.11 Kcal/g, en cambio la dieta de los animales del grupo obeso, al ser alta en grasa y fructosa, tiene 5.25 Kcal/g. Estos últimos presentaron la mayor absorción de energía. En relación a los tratamientos, todos los grupos fueron similares al control sano y al control obeso. Sin embargo, los animales suplementados con los subproductos presentaron menor absorción de energía que los obesos, pero este valor no fue estadísticamente significativa. Este efecto puede atribuirse a los efectos de atrapamiento de nutrientes que presenta la fibra en condiciones fisiológicas (Klont, 2000).

7.3.3 Efecto del consumo de los subproductos sobre resistencia a la insulina

La determinación de la glucosa en estado de ayuno se emplea como un indicador del equilibrio que tienen los animales entre la producción de glucosa por el hígado y la utilización de glucosa por el músculo y la grasa (Barros y col., 2007). Al evaluar la concentración de glucosa en suero (Cuadro 12), se encontró que los animales del grupo obeso presentan las concentraciones más altas (187.32 ± 8.1 mg/dL), siendo mayores a la presentada por los animales sanos (124.13 ± 5.1 mg/dL). Los grupos suplementados con los subproductos de mango y durazno presentaron diferencia estadística respecto al control obeso, su concentración de glucosa en suero fue similar al control sano. A diferencia del grupo alimentado con una dieta suplementada con subproducto de guayaba y manzana, estos no mostraron diferencia estadísticamente significativa respecto al control obeso.

La menor concentración de glucosa en suero del grupo suplementado con los subproductos de mango y durazno podría estar relacionada con la presencia de compuestos fenólicos. Los cuales son muy abundantes en ambos subproductos en comparación a los demás residuos, se ha reportado que estos, reducen los niveles de glucosa en sangre, un mecanismo es a través de la inhibición de las enzimas del metabolismo de los carbohidratos, α -amilasa y α -glucosidasa, disminuyendo de esta manera la absorción de glucosa a nivel intestinal. Uno de los compuestos fenólicos del mango con una actividad

antidiabética importante es la manguiferina; Sellamuthu y col. (2013) al administrarla oralmente a ratas diabéticas observaron una disminución en la concentración de la glucosa sérica, así como un aumento en la utilización de la glucosa por parte del hígado.

Cuadro 12. Concentración de glucosa sanguínea, insulina e índice HOMA de ratas alimentadas con una dieta alta en grasa y fructosa y suplementadas con subproductos.

Grupo/Parámetro	Glucosa (mg/dL)	Insulina (ng/mL)	HOMA
Sano	124.13 ± 5.2 ^c	0.64 ± 0.2 ^b	5.82 ± 1.4 ^b
Obeso	187.42 ± 7.1 ^a	1.17 ± 0.7 ^{ab}	13.02 ± 3.0 ^{ab}
Mango	142.39 ± 8.0 ^{bc}	0.99 ± 0.2 ^{ab}	11.03 ± 2.3 ^{ab}
Durazno	137.52 ± 6.9 ^{bc}	1.38 ± 0.3 ^{ab}	12.20 ± 3.3 ^{ab}
Guayaba	168.60 ± 11.2 ^{ab}	1.05 ± 0.1 ^{ab}	11.05 ± 2.2 ^{ab}
Manzana	174.31 ± 14.0 ^{ab}	1.86 ± 0.2 ^a	17.56 ± 2.0 ^a

Datos expresados como media ± EE. Determinaciones con ocho animales cada uno. Valores con diferente letra en la misma columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$) (Prueba de Tukey-Kramer).

El aumento de glucosa en sangre es consecuencia tanto de la grasa como de la fructosa contenida en la dieta. Se ha reportado que una dieta alta en grasa aumenta la producción hepática de glucosa a través de glucogenólisis y de gluconeogénesis (Jin y col., 2013). El consumo de fructosa tiene efectos importantes en el metabolismo de la glucosa. La fructosa que se absorbe es transportada y liberada al hígado a través de la vena porta. Al llegar allí es fosforilada para formar fructosa 1-fosfato, quien por acción de la aldolasa B forma gliceraldehído y dihidroxiacetona fosfato. Una pequeña porción de estas triosas puede entrar a la vía gluconeogénica y luego ser liberada como glucosa, ocasionando un pequeño aumento en la cantidad de glucosa circulante. Una cantidad importante de la fructosa que entra a la glucólisis es metabolizada y liberada como lactato, y posteriormente entra a gluconeogénesis para ser convertido a glucosa (Havel, 2005).

Una consecuencia del consumo de una dieta alta en fructosa es la resistencia a la insulina que induce una hiperinsulinemia compensatoria (Elliott y

col., 2002). Esto explica el hecho de que los animales alimentados con la dieta obesogénica presentaron mayores concentraciones séricas de esta hormona en comparación con el grupo sano (52%). El grupo suplementado con subproducto de manzana presentó el valor más altos de insulina, 1.86 ± 0.1 ng/mL, incluso superior al control obeso; lo que contribuyó a un incremento del índice HOMA, indicando resistencia a la insulina. Los grupos alimentados con el suplemento de mango, durazno y guayaba presentaron valores de insulina e índice HOMA similares al control obeso.

7.3.4 Efecto del consumo de los subproductos sobre el perfil lipídico

Otra alteración importante de los animales obesos fue el aumento de los niveles de lípidos en torrente sanguíneo. Según los datos del Cuadro 13, los animales alimentados con una dieta alta en grasa y fructosa incrementaron en un 65.75% los niveles de triglicéridos en comparación con el grupo sano. Todos los tratamientos fueron similares al control obeso.

Cuadro 13. Perfil de lípidos en suero de ratas alimentadas con una dieta alta en grasa y fructosa y suplementadas con subproductos.

Grupo/ Parámetro	Triglicéridos (mg/dL)	Colesterol total (mg/dL)	Colesterol HDL (mg/dL)	Factor de riesgo coronario
Sano	68.84 ± 8.6^b	66.58 ± 6.3^a	50.38 ± 1.7^a	1.23 ± 0.1^a
Obeso	114.10 ± 13.4^{ab}	64.15 ± 4.2^a	49.64 ± 1.1^a	1.29 ± 0.1^a
Mango	119.76 ± 6.3^a	63.26 ± 5.4^a	42.34 ± 1.3^b	1.50 ± 0.1^a
Durazno	95.27 ± 9.3^{ab}	63.50 ± 5.4^a	43.89 ± 0.9^b	1.33 ± 0.1^a
Guayaba	132.70 ± 10.4^a	65.51 ± 5.4^a	41.56 ± 0.5^b	1.58 ± 0.1^a
Manzana	101.98 ± 11.7^{ab}	57.64 ± 3.6^a	47.59 ± 1.5^{ab}	1.23 ± 0.1^a

Datos expresados como media \pm EE. Experimentos con ocho animales cada uno. Valores con diferente letra en la misma columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$) (Prueba de Tukey-Kramer).

Estudios realizados tanto en humanos como en animales han demostrado que un elevado consumo de fructosa está relacionado con un aumento en la dislipidemia, resistencia a la insulina e hipertensión (Huang y col., 2011). En el hígado, la fructosa es metabolizada hasta acetil Co-A, que provee los carbonos

necesarios para la síntesis *de novo* de ácidos grasos de cadena larga, que posteriormente son esterificados para formar triglicéridos (Havel, 2005). Esto podría estar sucediendo con el consumo de una dieta obesogénica.

En relación al contenido de colesterol total en suero no hubo diferencia significativa entre los controles, ni entre los tratamientos. Sin embargo para el colesterol HDL, cuyas funciones antiaterogénicas juegan un papel importante en el transporte reverso del colesterol, se encontró que no hubo diferencia entre los controles, y respecto a los tratamientos mango durazno y guayaba, estos fueron incluso ligeramente menor que el control obeso

7.3.5 Efecto del consumo de los subproductos sobre la función hepática

Entre los marcadores para evaluar el daño hepático se emplea la determinación en suero de la actividad de la fosfatasa alcalina, que funciona como un indicador de lesiones hepatobiliares, así mismo se utilizan las transaminasas (aspartato transaminasa, AST y alanina transaminasa, ALT). Estas son enzimas intracelulares que no se encuentran normalmente en la sangre y no presentan funciones conocidas fuera del órgano de origen. Niveles elevados de ALT han sido asociados con el hígado graso (Amacher, 1998). Es así como la elevación en las transaminasas son un indicativo de muerte hepatocelular.

Respecto a la AST, no hubo diferencia estadística ni entre los controles ni entre los tratamientos, el grupo alimentado con el suplemento de guayaba disminuyó sus niveles de AST de manera importante. Para el caso de ALT no se observaron diferencias significativas entre los diferentes grupos.

En relación a la fosfatasa alcalina el grupo obeso incrementó su actividad al compararse con el grupo control sano (33.1%), los animales suplementados con los subproducto de mango y guayaba mostraron una menor actividad de esta enzima (Cuadro 14). Estos resultados podrían sugerir que los subproductos generan cierta protección hepática.

Cuadro 14. Actividad de enzimas de función hepática en ratas alimentadas con una dieta alta en grasa y fructosa y suplementadas con subproductos.

Parámetro/ Grupo	Aspartato aminotransferasa (U/L de AST)	Alanina aminotransferasa (U/L de ALT)	Fosfatasa alcalina (U/L de FAL)
Sano	34.46 ± 2.0 ^{ab}	21.31 ± 1.7 ^a	90.48 ± 8.4 ^{ab}
Obeso	37.83 ± 4.2 ^{ab}	19.02 ± 1.5 ^a	120.43 ± 7.6 ^a
Mango	32.33 ± 1.7 ^{ab}	17.04 ± 1.6 ^a	85.58 ± 7.4 ^b
Durazno	27.89 ± 1.8 ^{ab}	15.01 ± 1.6 ^a	90.62 ± 6.2 ^{ab}
Guayaba	24.16 ± 1.2 ^b	20.80 ± 1.7 ^a	90.26 ± 4.3 ^b
Manzana	36.05 ± 2.2 ^a	18.52 ± 1.4 ^a	98.41 ± 7.9 ^{ab}

Datos expresados como media ± EE. Experimentos con ocho animales cada uno. Valores con diferente letra en la misma columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$) (Prueba de Tukey-Kramer).

CONCLUSIONES

- El subproducto de mango presentó la mayor concentración de compuestos polifenólicos y carotenoides, seguido del de durazno, mientras que el subproducto de guayaba es una fuente importante de fibra.
- Los subproductos de mango y durazno mostraron la mayor capacidad antioxidante, la cual está asociada al contenido de flavonoides.
- Los subproductos tienen un efecto poco significativo sobre el control de peso corporal, pero el de mango y durazno disminuyen algunas complicaciones relacionadas con la obesidad como la hiperglicemia y protección hepática.
- El subproducto de mango podría disminuir la tasa de absorción intestinal de glucosa, al reducir la actividad de enzimas relacionadas con la digestión de carbohidratos.
- Los subproductos presentan fitoquímicos que se han relacionado con el control de la obesidad y sus complicaciones, sin embargo, los efectos son poco significativos, y esto podría estar relacionado con su contenido de azúcares simples, por lo tanto, se requiere eliminar dichos compuestos para potenciar sus beneficios a la salud.

REFERENCIAS

- Abbott, J., Saftner, R., Gross, K., Vinyard, B. and Janick, J. 2004. Consumer evaluation and quality measurement of fresh-cut slices of 'Fuji,' 'Golden Delicious,' 'Gold Rush,' and 'Granny Smith' apples. *Postharvest Biol. Technol.* 33: 127-140.
- Abdeldaiem, M., Hoda, A. and Nasr, E. 2014. Antioxidant activity of extract from gamma irradiated guava (*Psidium guajava* L.) seeds. *Food Science and Quality Management.* 26:13-24.
- Ahmadian, M., Duncan, R., Jaworski, K., Sarkadi, E. and Sul, H. 2007. Triacylglycerol metabolism in adipose tissue. *Future Lipidol.* 2: 229-237.
- Ajila, C. M.; Naidu, K. A.; Bhat, S. G.; Prasada, U. 2007. Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. *Food Chem.* 105: 982-988.
- Ajila, C., Rao, L., Rao U. 2010. Characterization of bioactive compounds from raw and ripe *Mangifera indica* L. peel extracts. *Food Chem Toxicol.* 48: 3406-3411.
- Ajila, C. and Prasada, U. 2013. Mango peel dietary fibre: Composition and associated bound phenolics. *Journal of functional foods.* 5: 444-450.
- Amacher, D. 1998. Serum transaminase elevations as indicators of hepatic injury following the administration of drugs. *Regul Toxicol Pharmacol.* 27: 119-130.
- Anderson, J., Baird, P., Davis, R., Ferreri, S., Knudtson, M., Koraym, A., Waters, V. and Williams, C. 2009. Health benefits of dietary fiber. *Nutr Rev.* 67: 188-205.
- Antai, A. Eyong, E., Eteng, M., Itam, E., Eko, M. And Ita, S. 2009. Serum protein and enzyme levels in rats following administration of ethanolic leaf extract of *Ageratum conyzoides* (goat weed). *Nigerian Journal of Physiological*

Sciences. 24: 117-120.

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

Apostolidis, E., Kwon, Y., Shetty, K. 2007. Inhibitory potential of herb, fruit, and fungal-enriched cheese against key enzymes linked to type 2 diabetes and hypertension. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 8: 46-54.

Armutcu, F., Akyol, S., Ucar, F. Erdongan, S. and Akyol, O. 2013. Chapter Three—Markers in Nonalcoholic Steatohepatitis. *Adv Clin Chem.* 61: 67–125.

Arranz, S. 2010. Compuestos polifenólicos (extraíbles y no extraíbles) en alimentos de la dieta Española: metodología para su determinación e identificación. Tesis de doctorado, España, Universidad Complutense de Madrid.

Assy, N., Kaita, K., Mymin, D., Levy, C., Rosser, B. and Minuk, G. 2000. Fatty infiltration of liver in hyperlipidemic patients. *Dig Dis Sci.* 45: 1929-34.

Bahadoran, Z., Mirmiran, P., Azizi, F. 2013. Dietary polyphenols as potential nutraceuticals in management of diabetes: a review. *J Diabetes Metab Disord.* 12: 1-9.

Bagchi, M.; Milnes, M.; Williams, C.; Balmoori, J.; Ye, X.; Stohs, S.; Bagchi, D. 1999. Acute and chronic stress-induced oxidative gastrointestinal injury in rats, and the protective ability of a novel grape seed proanthocyanidin extract. *Nutr Res.* 19: 1189-1199.

Bai, X., Zhang, H. and Ren, S. 2013. Antioxidant activity and HPLC analysis of polyphenol-enriched extracts from industrial apple pomace. *J Sci Food Agric.* 93: 2502-2506.

- Barros, C., Lessa, S., Grechi, M., Mouço, T. Souza, M., Wiernsperger, N. and Bouskela, E. 2007. Substitution of drinking water by fructose solution induces hyperinsulinemia and Hyperglycemia in hamsters. *Clinics*. 62: 327-34.
- Bashir, H., Abu-Goukh, A. 2002. Compositional changes during guava fruit ripening. *Food Chem*. 80: 557-563.
- Bays, H. 2011. Adiposopathy: Is “sick fat” a cardiovascular disease?. *J Am Coll Cardiol*. 57: 2461-2473.
- Bays, H., Toth, P., Kris-Etherton, P., Abate, N., Aronne, L., Brown, V., Gonzalez, J., Jones, Kumar, R., La Forge, R. and Samuel, V. 2013. Obesity, adiposity, and dyslipidemia: A consensus statement from the National Lipid Association. *J Clin Lipidol*. 7: 304-383.
- Belén, D., Alemán, R., Álvarez, F., Álvarez, M. 2004. Evaluación de algunas propiedades funcionales y reológicas de harinas de curoba (*Jessenia polycarpa Karst*). *Rev. Fac. Agron.* [online]. 21: 161-170.
- Bennick, A. 2002. Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Crit Rev Oral Biol Med*. 13: 184-196.
- Berardini, N., Knoedler, M., Schieber, A. and Carle, R. 2005. Utilization of mango peels as a source of pectin and polyphenolics. *Inn Food Sci Emerg Tech*. 6: 442-452.
- Blüher, M., Michael, M., Peroni, O., Ueki, K., Carter, N., Kahn, B. and Kahn, C. 2002. Adipose tissue selective insulin receptor knockout protects against obesity and obesity-related glucose intolerance. *Dev Cell*. 3: 25-38.
- Brás, N., Goncalves, R., Mateus, N, Fernandes, P., Ramos, M., De Freitas, V. 2010. Inhibition of pancreatic elastase by polyphenolic compounds. *J. Agric. Food Chem*. 58: 10668-10676.

- Bravo, L. and Saura-Calixto, F. 1998. Characterization of the dietary fiber and the in vitro indigestible fraction of grape pomace. *Am J Enol Viticult.* 49: 135-141.
- Brea, A., Mosquera, D., Mostaza, J., Arandac, J., Argimónd, J., Sanclemente, C., Mateo, R., Almagro, F., Planah, N. y Recartei, C. 2011. Hipertrigliceridemia, esteatosis hepática y riesgo cardiovascular. *Clin Invest Arterioscl.* 23: 72-77.
- Britton, G. 1995. Structure and properties of carotenoids in relation to function. *FASEB J.* 9: 1551-1558.
- Cacho, J., Sevillano, J., de Castro, J., Herrera, E. and Ramos, M. 2008. Validation of simple indexes to assess insulin sensitivity during pregnancy in Wistar and Sprague-Dawley rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 295: E1269-E1276.
- Campbell, J., Drucker, D. 2013. Pharmacology, Physiology, and Mechanisms of Incretin Hormone Action. *Cell Metab.* 17: 819-837.
- Chan, C., Wei, L., Castro-Munozledo, F. and Koo, W. 2011. (-)-Epigallocatechin-3-gallate blocks 3T3-L1 adipose conversion by inhibition of cell proliferation and suppression of adipose phenotype expression. *Life Sci.* 89:779–785.
- Chang, Y., Tan, M., Lok, W., Pakianathan, S. and Supramaniam, Y. 2014. Making Use of Guava Seed (*Psidium guajava* L): The Effects of Pre-treatments on Its Chemical Composition. *Plant Foods Hum Nutr.* 69: 43-49.
- Chau, C., Huang, Y. and Lee, M. 2003. *In vitro* hypoglycemic effects of different insoluble fiber-rich fractions prepared from the peel of *Citrus sinensis* L. cv. Liucheng. *J. Agric. Food Chem.* 51: 6623-6626.
- Chen, J.Y., M. Piva and P. Labuza. 1984. Evaluation of water capacity (WBC) of food fiber sources. *J. Food Sci.* 49: 59-63.

- C.I.E. 1971. Colorimetry, (Official recommendations of the International Commission on Illumination). CIE Publicacion No. 15 (E-1.3.1). Tercera edición, Bureau Central de la CIE, Paris, actualización: CIE 15:2004.
- Córdoba, 2005. En: Matos, A. y Chambilla, E. 2010. Importancia de la fibra dietética, sus propiedades funcionales en la alimentación humana y en la industria alimentaria. Rev. investig. cienc. tecnol. aliment. 1: 4-17.
- Corey, K. and Kaplan, L. 2014. Obesity and Liver Disease. The Epidemic of the Twenty-First Century. Clin Liver Dis. 18:1–18.
- Cruz, M. 2002. Caracterización del residuo fibroso obtenido de la cáscara de maracuyá *Passiflora edulis* var *Flavicarpa* *Dagener* (pp. 37–56). Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Yucatán, México.
- Daou, C. and Zhang, H. 2011. Physico-chemical Properties and Antioxidant Activities of Dietary Fiber Derived from Defatted Rice Bran. AJFST. 3: 339-347.
- Daubioul, C., Rousseau, N., Demeure, R., Gallez, B., Taper, H., Declerck, B. 2002. Dietary fructans, but not cellulose, decrease triglyceride accumulation in the liver of obese Zucker fa/fa rats. J Nutr. 132: 967-973.
- de Ferranti, S. and Mozaffarian, D. 2008. The perfect storm: obesity, adipocyte dysfunction, and metabolic consequences. Clin Chem. 6: 945-955.
- Delgado, F., Jiménez, A., Paredes, O. 2000. Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains — Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. (2000). Crit Rev Food Sci Nutr. 40: 173-289.
- Deming, D. and Erdman, J. 1999. Mammalian carotenoid absorption and metabolism. Pure Appl Chem. 71: 2213-2223.
- Denis, M., Furtos, A., Dudonné, S., Montoudis, A., Garofalo, C., Desjardins, Y., Delvin, E. and Levy, E. 2013. Apple peel polyphenols and their beneficial actions on oxidative stress and inflammation. Plos One. 8: 1-17.

- Dutta, D., Chaudhuri, U. Chakraborty, R. 2005. Structure, health benefits, antioxidant property and processing and storage of carotenoids. Review. Afr J Biotechnol. 4: 1510-1520.
- Dykes, L. and Rooney, L. 2007. Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits. CFW. 52:105-111.
- Elliott, S., Keim, N., Stern, J., Teff, K. and Havel, P. 2002. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. Am J Clin Nutr. 76:911–22.
- Escamilla, C., Cuevas, E. y Guevara, G. 2009. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. Rev Fac Med UNAM. 52: 73-75.
- Escudero, E. y González, P. 2006 La fibra dietética. Nutr. Hosp. 2: 161-172.
- Esmael, O, Sonbul, S., Moselhy, S., Kumosani, T. 2013. Hypolipidemic effect of fruit fibers in rats fed with high dietary fat. Toxicol Ind Health
- Fernández-García, E., Carvajal-Lérida, I., Jarén-Galán, M., Garrido-Fernández, J., Pérez-Gálvez, A. and Hornero-Méndez, D. 2012. Carotenoids bioavailability from foods: From plant pigments to efficient biological activities. Food Res Int. 46: 438-450.
- Ferré, P. and Foufelle, F. 2010. Hepatic steatosis: a role for *de novo* lipogenesis and the transcription factor SREBP-1c. Diabetes Obes Metab. 2:83-92.
- Figueroa, M., Rocha-Guzmán, N., Mercado-Silva, E., Loarca-Piña, G. and Reynoso-Camacho, R. 2014. Effect of chemical elicitors on peppermint (*Mentha piperita*) plants and their impact on the metabolite profile and antioxidant capacity of resulting infusions. Food Chem. 156: 273–278.
- García, M., García, H., Bello, L., Sáyago, S., Mata, M. 2013. Functional properties and dietary fiber characterization of mango processing by-products (*Mangifera indica* L., cv *Ataulfo* and *Tommy Atkins*). Plant Foods Hum Nutr. 68: 254–258.

- Gil, M., Tomás, F., Hess, B. and Kader, A. 2002. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin c contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. *J Agric Food Chem.* 50: 4976-4982.
- Giraldo, L., Hernández, M., Angulo, P. y Fuertes, C. 2003. Actividad antinitrosativa y antiinflamatoria de los flavonoides de las hojas de *Uncaria tomentosa Willd. D.C.* (Uña de gato). *Rev Soc Quim.* 69: 229-242.
- Gorinstein, S. Martin, O., Lojek, A., Číž, M., Soliva, R., Park, Y, Caspi, A., Libman, I., Trakhtenberg, S. 2002. Comparative content of some phytochemicals in Spanish apples, peaches and pears. *J Sci Food Agr.* 82: 1166–1170.
- Gourgue, C., Champ, M., Lozano, Y. and Delort, J. 1992. Dietary fiber from mango byproducts: characterization and hypoglycemic effect determined by *in vitro* methods. *J Agric Food Chem.* 40: 1864-1868.
- Griguelmo, N., Gorinstein, S. and Martín, O. 1999. Characterisation of peach dietary fibre concentrate as a food ingredient. *Food Chem.* 65: 175-181.
- Gropper, S., Smith, J., and Groff, J. 2009. Advanced nutrition and human metabolism (5th ed.). p 63-105. Belmont, CA.
- Gutiérrez, J., Rivera-Dommarco, J., Shamah-Levy, T., Villalpando-Hernández, S., Franco, A., Cuevas-Nasu, L., Romero-Martínez, M, Hernández-Ávila, M. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública (MX), 2012.
- Gutiérrez, M. 2013. Evaluación del efecto antidiabético del subproducto obtenido en la elaboración de jugo de mango. Tesis de maestría Universidad Autónoma de Querétaro, Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos.
- Han, X. and Loa, T. 2007. Dietary polyphenols and their biological significance. *Int J Mol Sci.* 8: 950–988.

- Havel, P. 2005. Dietary fructose: Implications for dysregulation of energy homeostasis and lipid/carbohydrate metabolism. *Nutr Rev.* 65: 133-157.
- Hartzfeld, P. W., Forkner, R., Hunter, M. D., and Hagerman, A. E. 2002. Determination of hydrolyzable tannins (gallotannins and ellagitannins) after reaction with potassium iodate. *J Agric Food Chem.* 50: 1785-1790.
- Hassan, F., Ismail, A., Abdulhamid, A.; Azlan, A. 2011. Identification and quantification of phenolic compounds in bambangan (*Mangifera pajang* Kort.) peels and their free radical scavenging activity. *J Agric Food Chem.* 59: 9102–9111.
- Heimler, D., Vignolini, P., Dinia, M., Vincierib, F. and Romanib, A. 2006. Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties, *Food Chem.* 99: 464-469.
- Henríquez, C., Speisky, H., Chiffelle, I., Valenzuela, T., Araya, M., Simpson, R., Almonacid, S. 2010. Development of an ingredient containing apple peel, as a source of polyphenols and dietary fiber. *Journal of Food Science.* 75: H172-H181.
- Hernández, G. Camacho, R. Castro, J. y Gómez, C. 2008. Evaluación del efecto antihiper glucémico del bagazo de naranja (*Citrus sinensis* var. Valencia) en estudios in vitro. IX Congreso de ciencia de los alimentos y V foro de ciencia y tecnología de alimentos, Universidad de Guanajuato.
- Hernández-Jiménez, S. 2004. Fisiopatología de la obesidad. *Gac Méd Méx.* 140: S27-S32.
- Hsu, C. and Yen, G. 2007. Effect of gallic acid on high fat diet-induced dyslipidaemia, hepatosteatosis and oxidative stress in rats. *Br J Nutr.* 98:727-735.

- Huang, D., Dhawan, T., Young, S., Yong, W., Boros, L., Heaney, A. 2011. Fructose impairs glucose-induced hepatic triglyceride synthesis. *Lipids Health Dis.* 20:1-10.
- Hyson, D. 2011. A Comprehensive review of apples and apple components and their relationship to human health. *Adv Nutr.* 2: 408-420.
- Ioannou, I. and Ghoul, M. 2013. Prevention of enzymatic browning in fruit and vegetables. *ESJ.* 30: 1857- 7431.
- Isken, F., Klaus, S., Osterhoff, M., Pfeiffer, A., Weickert, M. 2010. Effects of long-term soluble vs. insoluble dietary fiber intake on high-fat diet-induced obesity in C57BL/6J mice. *J Nutr Biochem.* 21: 278-284.
- Jadeja, R. and Devkar, R. 2014. Chapter 47: Polyphenols and flavonoids in controlling non-alcoholic steatohepatitis. In: *Polyphenols in Human Health and Disease.* Academic Press. Elsevier Inc.
- Jeong, H., Kwon, H. and Kim, M. 2009. Hypoglycemic effect of *Chlorella vulgaris* intake in type 2 diabetic Goto-Kakizaki and normal Wistar rats. *Nutr Res Pract.* 3: 23-30.
- Jiménez, A., Rincón, M., Pulido, R. and Saura-Calixto, F. 2001 Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber. *J Agric Food Chem.* 49: 5489-5493.
- Jin, E., Beddow, S., Malloy, C. and Samuel, V. 2013. Hepatic glucose production pathways after three days of a high-fat diet. *Metabolism.* 62: 152-162
- Johnson, E. 2002. The role of carotenoids in human health. *Nutr Clin Care.* 5:56-65.
- Jomova, K., Valko, M. 2013. Health protective effects of carotenoids and their interactions with other biological antioxidants. *Eur J Med Chem.* 70: 102-110.

- Jones, J. 2000. Update on defining dietary fiber. *Cereal Foods World*. 45: 219-220.
- Kandra, L., Zajacz, A., Remenyik, J., Gyemant, G. 2005. Kinetic investigation of a new inhibitor for human salivary alpha-amylase. *Biochem Biophys Res Commun*. 334: 824-828.
- Kang, L., Heng, W., Yuan, A., Baolin, L. and Fang, H. 2010. Resveratrol modulates adipokine expression and improves insulin sensitivity in adipocytes: relative to inhibition of inflammatory responses. *Biochimie*. 92: 789–96.
- Kays, S. 1999. Preharvest factors affecting peach quality. *Postharvest Biol Technol*. 15: 233-247.
- Kershaw, E. and Flier, J. 2004. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab*. 89: 2548-56.
- Kim, Y., Brecht, J., Talcott, S. 2007. Antioxidant phytochemical and fruit quality changes in mango (*Mangifera indica* L.) following hot water immersion and controlled atmosphere storage. *Food Chem*. 105: 1327–1334.
- Kleiner, D. and Brunt, E. 2012. Nonalcoholic fatty liver disease: pathologic patterns and biopsy evaluation in clinical research. *Semin Liver Dis*. 32: 3-13.
- Klont, R. 2000. Fiber in the new millennium. *World Food Ingred*: April/May: 52-59.
- Kwon, Y., Apostolidis, E. and Shetty, K. 2008. In vitro studies of eggplant (*Solanum melongena*) phenolics as inhibitors of key enzymes relevant for type 2 diabetes and hypertension. *Bioresour Technol*. 99: 2981-2988.
- Lairon, D. 1996. Dietary fibres: effects on lipid metabolism and mechanisms of action. *Eur J Clin Nutr*. 50: 125-133.
- Lafontan, M. and Langin, D. 2009. Review: Lipolysis and lipid mobilization in human adipose tissue. *Prog Lipid Res*. 48: 275-297.

- Larrauri, J., Rupérez, P., Borroto, B. Saura, F. 1996. Mango peels as a new tropical fibre: Preparation and Characterization. *LWT-Food Sci Technol.* 29: 729-733.
- Lasa, A., Schweiger, M., Kotzbeck, P., Churruga, I., Simon, E., Zechner, R. 2012. Resveratrol regulates lipolysis via adipose triglyceride lipase. *J Nutr Biochem.* 23: 379-384.
- Lee, M., Kim, C., Kim, I. and Kim, Y. 2009. Inhibitory effects of green tea catechin on the lipid accumulation in 3 T3-L1 adipocytes. *Phytother Res.* 23: 1088-1091.
- Liu, M., Wang, Y., Han, J. and Mao, P. 2009. The content and distribution of condensed tannins in different species of the genus sorghum (*Sorghum moench*) and their effect on seed protein electrophoresis. *J Sci Food Agr.* 89: 1446-1452.
- López, G., Ros, G., Rincón, F., Periago, M., Martínez, M., Ortuño, J. 1996. Relationship between physical and hydration properties of soluble and insoluble fiber of artichoke. *J Agric Food Chem.* 44: 2773-2778.
- Lu, C., Zhu, W., Shen, C. and Gao, W. 2012. Green tea polyphenols reduce body weight in rats by modulating obesity-related genes. *PloS one.* 7:e38332.
- Lu, Z., Walker, K., Muir, J., Mascara, T. and O'Dea, K. 2000. Arabinoxylan fiber, a byproduct of wheat flour processing, reduces the postprandial glucose response in normoglycemic subjects. *Am J Clin Nutr.* 71: 1123-1128.
- Lucas, E., Li, W., Peterson, S., Brown, A., Kuvibidila, S., Perkins, P., Clarke, S., Smith, B. 2011. Mango modulates body fat and plasma glucose and lipids in mice fed a high-fat diet. *Br J Nutr.* 106: 1495-1505.

- Lupea, A., Pop, M. and Cacig, S. 2008. Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids from *Ziziphus* and *Hydrangea* extracts. *Rev Chim.* 3: 309-313.
- Mainai, G., Periago, M., Catasta, G., Toti, E., Goñi, I., Bysted, A., Granado-Lorencio, F., Olmedilla, B., Knuthsen, P., Valoti, M., Bohm, V.; Mayer, E.; Behnlian, D.; Schelemer, U. 2009. Carotenoids: actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. *Mol. Nutr. Food Res.* 53: S194-S218.
- Maleeha, M., Farooq, A., Zahed, M., Umer, R. and Muhammad, A. 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: 6491-6506.
- 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: 6491-6506.
- Martin, K. and Appel, C. 2009. Polyphenols as dietary supplements: A double-edged sword. *Journal of nutrition and dietary supplements.* 2: 1-12.
- Martínez, R., Torres, P., Meneses, M. Figueroa, J., Pérez, J. and Viuda, M. 2012. Chemical, technological and *in vitro* antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. *Food Chem.* 135: 1520–1526.
- Mathew, S. and Abraham, T. 2006. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. *Food Chem Toxicol.* 44: 198-206.
- Meléndez, A., Vicario, I. y Heredia F. 2007. Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas. *ALAN.* 57: 109-117.

- Mennen, L., Walker, R., Bennetau, C. and Scalbert, A. 2005. Risks and safety of polyphenol consumption. *Am J Clin Nutr.* 81: 326S-329S.
- Mercadante, A., Steck, A. and Pfander, H. 1999. Carotenoids from guava (*Psidium guajava* L.): Isolation and structure elucidation. *J. Agric. Food Chem.* 47: 145-151.
- Misra, K., and Seshadri, T. 1967. Chemical components of the fruits of *Psidium guava*. *Phytochemistry.* 7: 641-645.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *J. Sci. Technol.* 26: 211-219.
- Moon, H., Chung, C., Lee, H., Kim, T., Choi, Y., Cho, C. 2007. Inhibitory effect of (-)-epigallocatechin-3-gallate on lipid accumulation of 3 T3-L1 cells. *Obesity.* 15: 2571-2582.
- Mukherjee, A. and Sengupta, S. 2013. Indian medicinal plants known to contain intestinal glucosidase inhibitors also inhibits pancreatic lipase activity-An ideal situation for obesity control by herbal drugs. *IJBT.* 12: 32-39.
- Muruganandan, S., Srinivasan, K., Gupta, S., Gupta, P. and Lal, J. 2004. Effect of mangiferin on hyperglycemia and atherogenicity in streptozotocin diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* 97: 497-501.
- Nammi, S., Koka, S., Chinnala, K., Boini, K. 2004. Obesity: An overview on its current perspectives and treatment options. *Nutr J.* 3:1-8.
- Nathan, C. 2008. Epidemic Inflammation: Pondering Obesity. *Mol Med.* 14: 485-492.
- 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 Chem.* 95: 328-336

- Ornelas-Paz, J. Yahiaa, E. and Gardeab, A. 2008. Changes in external and internal color during postharvest ripening of 'Manila' and 'Ataulfo' mango fruit and relationship with carotenoid content determined by liquid chromatography–APCl+–time-of-flight mass spectrometry. *Postharvest Biol Tec.* 50: 145–152.
- Ou, S., Kwok, K., Li, Y. and Fu, L. 2001. *In vitro* study of possible role of dietary fiber in lowering postprandial serum glucose. *J Agric Food Chem.* 49: 1026-1029.
- Palafox, H., Ayala, J. and Gonzalez, G. 2011. The role of dietary fiber in the bioaccessibility and bioavailability of fruit and vegetable antioxidants. *J Food Sci.* 76: 6-15.
- Palafox, H., Yahiaab, E., Islas, M., Gutierrez, P., Robles, M. and González, G. 2012. Effect of ripeness stage of mango fruit (*Mangifera indica* L., cv. Ataulfo) on physiological parameters and antioxidant activity. *Sci Hort.* 153: 7-13.
- Pan, M., Lai, C., Tsai, M. and Ho, C. 2014. Review: Chemoprevention of nonalcoholic fatty liver disease by dietary natural compounds. *Mol Nutr Food Res.* 58: 147-171.
- Pandey, K. and Rizvi, S. 2009. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid Med Cell Longev.* 5: 270-278.
- Papathanasopoulos, A. and Camilleri, M. 2010. Dietary fiber supplements: effects in obesity and metabolic syndrome and relationship to gastrointestinal functions. *Gastroenterology.* 138: 65-72.
- Pereira, M. and Ludwig, D. 2001. Dietary fiber and body-weight regulation: Observations and mechanisms. *Pediatr Clin North Am.* 48: 969-980.

- Pereira, M., Jacobs, J., Pins, J., Raatz, S., Gross, M., Slavin, J. and Seaquist, E. 2002. Effect of whole grains on insulin sensitivity in overweight hyperinsulinemic adults. *Am J Clin Nutr.* 75: 848-55.
- Piparo, E., Scheib, H., Frei, N., Williamson, G., Grigorov, M. and Chou, C. 2008. Flavonoids for controlling starch digestion: structural requirements for inhibiting human α -amylase. *J Med Chem.* 51: 3555-3561.
- Prieto, J., Covarrubias, J., Romer, A., Figueroa, J. 2005. Paquete tecnológico del cultivo del mango en el estado de Colima. Secretaria de desarrollo rural. Gobierno del estado de Colima. México.
- Quirós, A., Palafox, H., Robles, R. y González, G. 2012. Interacción de compuestos fenólicos y fibra dietaria: capacidad antioxidante y biodisponibilidad. *Biotecnia.* 13: 3-11.
- Ramulu, P. and Rao, P. 2003. Total, insoluble and soluble dietary fiber contents of Indian fruits. *Journal of Food Compos Anal.* 16: 677-685.
- Robertson, M., Bickerton, A., Dennis, A., Vidal, H. and Frayn, K. 2005. Insulin-sensitizing effects of dietary resistant starch and effects on skeletal muscle and adipose tissue metabolism. *Am J Clin Nutr.* 82: 559–67.
- Sathe, S. and Salunkhe, D. 1981. Functional properties of great northern bean (*Phaseolus vulgaris*) proteins: Emulsion, foaming, viscosity and gelation properties. *J Food Sci.* 46: 71-81.
- Saura-Calixto, F. y Jiménez, A. 2001. Compuestos bioactivos asociados a la fibra dietética. En: Vergara, N. 2005. Obtención de fibra dietética antioxidante a partir de mango y su aplicación en productos de panificación, Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional. México
- Saura-Calixto, F. y Jiménez, A. Fibra dietética antioxidante y concentrado de antioxidantes naturales de piel y de pulpa de guayabas (*Psidium guava* y

- Psidium acutangulum*) y sus procedimientos de obtención. ES, 2 168 223, 1 de junio de 2002. 200002515, 19 de octubre de 2000. 4 p.
- Saura-Calixto, F. 2011. Dietary fiber as a carrier of dietary antioxidants: an essential physiological function. *J Agric Food Chem.* 59: 43-49.
- Sáyago, S., Moreno, C., Montalvo, E., García, M., Mata, M. Lluís, J., Torres, Jara Pérez-Jiménez. 2013. Mexican 'Ataulfo' mango (*Mangifera indica* L.) as a source of hydrolyzable tannins. Analysis by MALDI-TOF/TOF MS. *Food Res Int.* 51: 188-194.
- Sellamuthu, P, Arulselvan, P., Muniappan, B., Fakurazi, S. and Kandasamy, M. 2013. Mangiferin from *Salacia chinensis* prevents oxidative stress and protects pancreatic β -cells in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Med Food.* 16: 719-727.
- Serra, L., Aranceta, J., Mataix, V. y Uauy, R. 2006. *Nutrición y Salud Pública: Métodos, bases científicas y aplicaciones.* 2^o Edición. (1): 10-11.
- Serrano, J., Puupponen, R., Dauer, A., Aura, A. and Saura-Calixto, F. 2009. Tannins: current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Mol Nutr Food Res.* 2: S310-29.
- Sharma, R. 2014. Polyphenols in health and disease: practice and mechanisms of benefits, chapter 59. In: *Polyphenols in Human Health and Disease.* Tucson, USA: Elsevier B.V.
- Sikaris, K. 2004 The clinical biochemistry of obesity, Review. *Clin Biochem Rev.* 25: 165-181.
- Singleton, V., Orthofer, R. and Lamuela, R. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 299: 152-178.

- Slavin, J. Position of the American Dietetic Association: health implications of dietary fiber. *J Am Diet Assoc.* 108: 1716-1731.
- Soares, F., Pereira, T. Marques, M. and Monteiro, A. 2007. Volatile and non-volatile chemical composition of the white guava fruit (*Psidium guajava*) at different stages of maturity. *Food Chem.* 100: 15-21.
- Soares, S., Sousa, A., Mateus, N. and de Freitas, V. 2012. Effect of condensed tannins addition on the astringency of red wines. *Chem Senses.* 37: 191-198.
- Song, Y., Sawamura, M., Ikeda, K., Igawa, S. and Yamori, Y. 2000 Soluble dietary fibre improves insulin sensitivity by increasing muscle GLUT-4 content in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 27: 41–45.
- Spiller, G., 1986. Suggestions for a basis on which to determine a desirable intake of dietary fiber. En: G.A. Spiller. 2001. *CRC Handbook of Dietary Fiber in Human Nutrition.* USA: CRC Press.
- Srichamroen, A. and Chavasit, V. 2011. *In vitro* retardation of glucose diffusion with gum extracted from malva nut seeds produced in Thailand. *Food Chem.* 127: 455-460.
- Svedström, U., Vuorela, H., Kostianen, R., Tuominen, J., Kokkonen, J., Rauha, J., Laakso, I. and Hiltunen, R. 2002. Isolation and identification of oligomeric procyanidins from *Crataegus* leaves and flowers. *Phytochemistry.* 60: 821–825.
- Tarazona, M. and Aguayo, E. 2013. Assessment of by-products from fresh-cut products for reuse as bioactive compounds. *Food Sci Technol Int.* 19: 439-446.

- Thilakarathna, S., Rupasinghe, H. y Needs, P. 2013. Apple peel bioactive rich extracts effectively inhibit *in vitro* human LDL cholesterol oxidation. Food Chem. 138: 463-470.
- Van het Hof, K., West, C., Weststrate, J. and Hautvast, J. 2000. Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids, J Nutr. 10: 503-506.
- Vázquez, A., Rosado, G., Chel, L., Betancur, D. 2009. Physicochemical properties of a fibrous fraction from chia (*Salvia hispanica* L.). LWT - Food Sci Technol. 42:168–173
- Wang, S., Moustaid-Moussaa, N., Chenb, L., Moc, H., Shastria, A., Sua, R., Bapata, P., Kwund, I. and Shen. C. 2014. Novel insights of dietary polyphenols and obesity. J Nutr Biochem. 25: 1–18.
- Wang, Z., Zuberi, A., Zhang, X., Macgowan, J., Qin, J., Ye, X., Son, L., Wu, Q., Lian, K. and Cefalu, W. 2007. Effects of dietary fibers on weight gain, carbohydrate metabolism, and gastric ghrelin gene expression in mice fed a high-fat diet. Metabolism. 56: 1635-1642.
- Wang, S., Noh, S. and Koo, S. 2006. Epigallocatechin gallate and caffeine differentially inhibit the intestinal absorption of cholesterol and fat in ovariectomized rats. J Nutr. 136: 2791–2796.
- Weickert, M., Mohlig, M. y Schofl, C., Arafat, A., Otto, B., Viehoff, H., Koebnick, C., Kohl, A., Spranger, J. and Pfeiffer, A. 2006. Cereal fiber improves whole-body insulin sensitivity in overweight and obese women. Diabetes Care. 29: 775–780.
- WGO. 2012. World Gastroenterology Organisation global guidelines: Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis.
- Wright, J., Johnson, E. and DiLabio, G. 2001. Predicting the activity of phenolic antioxidants: Theoretical method, analysis of substituent effects, and

- application to major families of antioxidants. *J Am Chem Soc.* 123: 1173-1183.
- Xu, X., Zou, Z., Huang, Y., Xiao, X., Ma, L. and Lin, X. 2012. Serum carotenoids in relation to risk factors for development of atherosclerosis. *CLB.* 45: 1357–1361.
- Yao, N., He, R., Zeng, X., Huang, X., Du, T., Cui, J., Hiroshi, K. 2012. Hypotriglyceridemic effects of apple polyphenols extract via up-regulation of lipoprotein lipase in triton WR-1339-induced mice. *Chin J Integr Med.* 20:31-35.
- Yeum, K. and Russell, R. 2002. Carotenoid bioavailability and bioconversion. *Annu Rev Nutr.* 22: 483-504.
- Zambrano, M., Meléndez, R., Gallardo, Y. 2001. Propiedades funcionales y metodología para su evaluación en fibra dietética. En *Fibra Dietética en Iberoamérica, Tecnología y Salud*. Editado por Lajolo M, Saura F, Witting E. y Wenzel E. Brasil.
- Zanwar, A., Badole, S., Shendell, P., Hegde, M. and Bodhankar, S. 2014. Cardiovascular Effects of Hesperidin: A Flavanone Glycoside. *Polyphenols in Human Health and Disease*. Tucson, USA: Elsevier B.V
- Zurita, J., Díaz-Rubio, M., Saura-Calixto, F. 2012. Improved procedure to determine non-extractable polymeric proanthocyanidins in plant foods. *Int J Food Sci Nutr.* 63: 936-939.