



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

**“EVALUACIÓN DE SUBPRODUCTO OBTENIDO EN LA ELABORACIÓN DE
JUGOS DE MANGO Y GUAYABA COMO FUENTE DE FIBRA ANTIOXIDANTE”**

Tesis

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


Presenta:

I.B.Q. Eugenia Maria Olivera Fox

Dirigido por:

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

Dra. Rosalía Reynoso Camacho
Presidente



Firma

Dr. Edmundo Mercado Silva
Secretario



Firma

Dra. Ma. Anaberta Cardador Martínez
Vocal



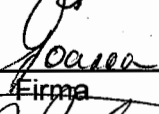
Firma

Dra. Minerva Ramos Gómez
Suplente




Firma


Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Suplente



Firma



M.S.P. Sergio Pacheco Hernández
Director de la Facultad



Dr. Irineo Torres Pacheco
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Diciembre 2012
México



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
Facultad de Química
Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos

Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

**“EVALUACIÓN DE SUBPRODUCTO OBTENIDO EN LA
ELABORACIÓN DE JUGOS DE MANGO Y GUAYABA COMO
FUENTE DE FIBRA ANTIOXIDANTE”**

TESIS

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

Presenta:

IBQ. Eugenia Maria Olivera Fox

Dirigido por:

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Diciembre 2012
México



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

**“EVALUACIÓN DE SUBPRODUCTO OBTENIDO EN LA ELABORACIÓN DE
JUGOS DE MANGO Y GUAYABA COMO FUENTE DE FIBRA ANTIOXIDANTE”**

Tesis

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

Presenta:

I.B.Q. Eugenia Maria Olivera Fox

Dirigido por:

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

Dra. Rosalía Reynoso Camacho
Presidente

Firma

Dr. Edmundo Mercado Silva
Secretario

Firma

Dra. Ma. Anaberta Cardador Martínez
Vocal

Firma

Dra. Minerva Ramos Gómez
Suplente

Firma

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Suplente

Firma

M.S.P. Sergio Pacheco Hernández
Director de la Facultad

Dr. Irineo Torres Pacheco
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Diciembre 2012
México

RESUMEN

La fibra dietaria antioxidante es un producto con elevado porcentaje de fibra y cantidades apreciables de fitoquímicos naturales con propiedades para disminuir el estrés oxidativo. En la elaboración de jugos se genera un subproducto que puede alcanzar hasta un 65% de la fruta procesada; este residuo puede ser una fuente viable de fibras antioxidantes. El objetivo de este estudio fue evaluar el subproducto generado en la elaboración del jugo de mango y de guayaba de la empresa Pascual Boing, S.A. como posible fuente de fibra antioxidante. El análisis fisicoquímico realizado a las muestras de mango mostró una capacidad de absorción de agua y de aceite de 3.31 y de 9.8 mL/g respectivamente, mientras que para guayaba fue de 2.03 y de 12.5 mL/g respectivamente. En el análisis proximal se observó un mayor contenido de fibra soluble en producto de mango (8.66%) comparado con el producto de guayaba (1.33%), sin embargo, esta última presentó 1.65 veces más fibra dietaria total que el producto de mango. Con respecto a los fitoquímicos, el mango presentó 3.2, 13.1, 1.7 y 14 veces mayor concentración de beta caroteno, fenoles extraíbles, flavonoides y taninos hidrolizables respectivamente que para la guayaba. En el subproducto de mango se encontró un mayor contenido de ácido gálico, protocatecoico, siríngico y elágico, mientras que en guayaba se encontró mayor cantidad de ácido benzoico y resveratrol. En la capacidad antioxidante, el producto de guayaba presentó mayor capacidad antioxidante (DPPH y ABTS) respecto al producto de mango. Se realizaron ensayos *in vitro* para determinar la capacidad de atrapamiento de glucosa, obteniéndose valores de V_{max} (mg dL⁻¹/min) de 49 para la celulosa que se usó como fibra control, 47 para producto de mango y 49.89 para producto de guayaba, presentando similar capacidad de retención de glucosa. Se cuantificó la actividad de la enzima alfa amilasa y se observó un porcentaje de inhibición de 64.1 % con producto de mango y de 6.3 % con producto de guayaba. Estos resultados sugieren que el subproducto de mango podría ser una alternativa para desarrollar un ingrediente nutracéutico para elaborar alimentos funcionales.

(Palabras clave: subproducto, fibra, capacidad antioxidante, ingrediente nutracéutico, inhibición de α -amilasa)

SUMMARY

Antioxidant dietary fiber is a product with an elevated percentage of fiber and appreciable quantities of natural phytochemicals having properties that decrease oxidative stress. In fruit processing for obtaining juices a by-product is generated which can represent up to 65% of the processed fruit: this residue can be a viable source of antioxidant fibers. The objective of this study was to evaluate the by-product generated in the preparation of mango and guava juice in the Pascual Boing Company as a source of antioxidant fiber. A physical-chemical analysis was carried out on the powder samples; for mango, a water and oil absorption capacity of 3.31 and 9.8, respectively, was obtained, while for guava 2.03 and 12.5 mL/g, respectively, was obtained. In the following analysis, a greater soluble fiber content of the mango product (8.66 %) compared to the guava product (1.33 %) was observed. Nevertheless, the latter presented 1.65 times more total dietary fiber than the mango product. Regarding phytochemicals, mango presented a 3.2, 13.1, 1.7 and 14 times greater concentration of beta-carotene, extractable polyphenols, flavonoids, and hydrolyzable tannins, respectively. Using HPLC, a greater content of gallic acid, protocatechoic acid, syringic acid and ellagic acid was found in the by-product of mango, while in guava there was a greater quantity of benzoic acid and resveratrol. In antioxidant activity, the guava product presented greater antioxidant capacity (DPPH and ABTS) compared to the mango product. *In vitro* tests were carried out to determine the capacity for glucose entrapment, obtaining values of V_{\max} ($\text{mg dL}^{-1}/\text{min}$) of 49 for the control fiber (cellulose), 47 for the mango product and 49.89 for the guava product, with a similar capacity for glucose retention. The alpha-amylase enzyme's activity was quantified and an inhibition percentage of 64.1 % was observed with the mango product and 6.3 % with the guava product. These results suggest that the mango by-product could be an alternative for developing a nutraceutical ingredient for preparing functional foods.

(Key words: By product, fiber, antioxidant capacity, nutraceutical ingredient, inhibition of alpha-amylase)

**A todas aquellas personas
que buscan saber más
para dar más**

AGRADECIMIENTOS

En el desarrollo de este trabajo recibí palabras de aliento e incondicional apoyo de parte de mis compañeros de generación, personal de apoyo y profesores de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro a quienes quedo sinceramente agradecida. En especial a los miembros de mi comité a quienes agradezco sus comentarios y retroalimentación; a Mireya Gutiérrez por su disciplina de trabajo, a Claudia Gamboa por sus consejos y a Victoria Rodríguez por brindarme su amistad. En todo momento desde que este proyecto se gestó como una idea hasta que se concretó en lo que ahora se entrega como un producto terminado, conté con la plena y sincera confianza de parte del Ing. Salvador Coutiño Audiffred, Director General del ITESM Campus Querétaro, del Dr. Héctor Morelos Borja, Director de Profesional y Graduados en Ingeniería y Arquitectura, y del Ing. Jorge Francisco Rocha Orozco, Director de Desarrollo Estudiantil, a quienes admiro y con mi diario desempeño aspiro a estar a la misma altura de la pasión y el amor que ellos muestran por nuestro Instituto y todo lo que éste significa. Porque simplemente superar los obstáculos no hubiera sido posible sin su compañía, agradezco a mis amigas: Guadalupe García, Consuelo Valenzuela, Araceli Florido, Carmen Sosa y Anaberta Ibarra; sus consejos, su escucha y su cariño que son insustituibles y por lo que me siento muy afortunada. En especial agradezco a Dulce Hernández su inagotable paciencia e incondicional apoyo; ella me brinda el sentido común, la prudencia y la capacidad de tomar decisiones inteligentes y son sus consejos los que me mantienen con los pies sobre la Tierra. En la tarea de superar el conjunto completo de responsabilidades asociadas a este proyecto conté con el apoyo de: Anayelli Demeneghi, Gerardo Montejano, Elizabeth Valencia, Jorge Nieto, Arturo González de Cossío, Sandra Teresita Martín del Campo, Anaberta Cardador, Prashant Mishra, Blanca Maldonado, Estela Vázquez, Máximo Cargnelutti, Rocío Rios, Rubén Zárraga, Sophia San Vicente, Priscila Santiago, Víctor Olvera, Eva Vila y Miguel Telles; docentes, personal de apoyo y estudiantes de la Escuela de Agronomía, Biotecnología y Alimentos del ITESM Campus Querétaro; sin su ayuda la cantidad de tareas me hubieran rebasado irremediablemente. Porque me brindaron su paciencia en los momentos en los que yo no reaccioné con la suficiente rapidez y porque esta experiencia me ha regresado esa dosis de humildad que se había convertido en la soberbia que da lugar a un estado de comodidad; agradezco el apoyo brindado y admiro el esfuerzo que imprimen diariamente a todas sus actividades todos y cada uno de los estudiantes de la Carrera de Ingeniería en Industrias Alimentarias del ITESM Campus Querétaro. Y a la Dra. Rosalía Reynoso Camacho, Docente Investigadora de la Universidad Autónoma de Querétaro de la Facultad de Química; quien creyó en una promesa sin necesidad de evidencia, quien nunca mostró dudas; quien acompañó cada una de las etapas de este intenso camino; quien no tuvo más que palabras de aliento y a quien admiro y respeto como persona y como investigadora; le brindo el mayor de mis agradecimientos y la promesa de que este esfuerzo no ha sido en vano y que seguiré su ejemplo de pasión y servicio en el desempeño de mis futuras tareas.

ÍNDICE

	Página
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
2.1 Las enfermedades crónico degenerativas en México y factores asociados	3
2.1.1 Diabetes mellitus	3
2.1.2 Estrés oxidativo	4
2.2 Aspectos metabólicos asociados a las enfermedades crónico degenerativas	5
2.2.1 Metabolismo de los carbohidratos	5
2.3 Compuestos fenólicos	7
2.3.1 Flavonoides	8
2.3.2 Antocianinas	9
2.3.3 Taninos	10
2.3.4 Papel biológico de los polifenoles	11
2.3.5 Polifenoles extraíbles y no extraíbles	11
2.4 Metabolismo de los compuestos fenólicos	13
2.5 Carotenoides	15
2.6 Fibra	16
2.6.1 Fibra dietaria (FD)	16
2.6.2 Fibra dietaria soluble (FS) y no soluble (FI)	16
2.7 Fibra antioxidante	17
2.8 Fibra y sus efectos en el tratamiento de enfermedades	18
2.9 Residuos orgánicos	19
2.10 Industria de jugos en México	19
2.11 Frutas bajo estudio	20
2.11.1 Mango (<i>Mangifera indica</i> L.) y	

su composición química	20
2.11.2 Guayaba (<i>Psidium guajava</i> L.) y composición química	21
III. JUSTIFICACIÓN	22
IV. OBJETIVOS	23
4.1 Objetivo General	23
4.2 Objetivos Particulares	23
V. METODOLOGÍA	24
5.1 Materiales químicos	24
5.2 Materia prima	24
5.3 Análisis proximal	25
5.4 Determinación de FDT por métodos enzimáticos	25
5.5 Propiedades funcionales de la muestra en polvo	25
5.5.1 pH	25
5.5.2 Capacidad de absorción de agua (CAA) y aceite (CAa)	26
5.5.3 Índice de solubilidad en agua (ISA)	26
5.5.4 Análisis de color	26
5.6 Determinación de compuestos fenólicos	27
5.6.1 Cuantificación espectrofotométrica de fenoles totales	27
5.6.2 Cuantificación de espectrofotométrica de flavonoides	27
5.6.3 Cuantificación de fenoles extraíbles	28
5.6.4 Cuantificación de fenoles no extraíbles	28
5.6.5 Cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC-DAD	30
5.7 Determinación de carotenoides	30
5.7.1 Cuantificación espectrofotométrica	30
5.7.2 Cuantificación de β -caroteno por HPLC-DAD	31
5.8 Índice de retardamiento de diálisis de glucosa (IRDG)	31

5.9 Inhibición <i>in vitro</i> de alfa amilasa	32
5.10 Capacidad antioxidante	32
5.11 Análisis estadístico	33
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
6.1 Análisis fisicoquímico y proximal	34
6.2 Análisis de compuestos polifenólicos	42
6.3 Análisis de capacidad antioxidante	50
6.4 Índice de retardamiento de difusión de glucosa	54
6.5 Porcentaje de inhibición de la enzima alfa amilasa	56
VII. CONCLUSIONES	58
VIII. LITERATURA CITADA	59

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
6.1. Análisis fisicoquímico de los subproductos de mango y guayaba.	34
6.2. Análisis proximal de los subproductos de mango y guayaba.	36
6.3. Análisis de color de los subproductos de mango y guayaba.	39
6.4. Cuantificación de β -caroteno en los subproductos de mango y guayaba por HPLC.	40
6.5. Concentración de compuestos fenólicos y flavonoides en los extractos acuoso-orgánicos de las muestras de subproducto de mango y de guayaba.	43
6.6. Concentración de polifenoles no extraíbles en los extractos acuoso-orgánicos del subproducto de mango y de guayaba.	44
6.7. Concentración de compuestos fenólicos identificados por HPLC en los extractos acuoso-orgánicos de subproducto de mango y de guayaba.	49
6.8. Capacidad antioxidante (ABTS y DPPH) en extractos polifenoles extraíbles del subproducto de mango y de guayaba.	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
2.1. Daños producidos por los radicales libres: el equilibrio entre los niveles de radicales libres y su acción antioxidante desencadena un cuadro de cambios fisiológicos y bioquímicos que se conoce como estrés oxidativo (Halliweel, 2004).	6
2.2. Estructura de compuestos fenólicos (Manach y col., 2004).	7
2.3 Estructura de flavonoides (Manach y col., 2004).	9
2.4. Estructura de compuestos fenólicos de mayores pesos moleculares (Arranz, 2010).	10
2.5. Polifenoles extraíbles (PE) y no extraíbles (PNE) en alimentos (Pérez-Jiménez, 2011).	12
2.6. Metabolismo de compuestos polifenólicos presentes en alimentos sólidos y bebidas (Arranz, 2010).	14
2.7. Ejemplos de carotenoides (Arranz, 2010).	16
6.1. β -caroteno identificado por HPLC en solución estándar de β -caroteno (A), muestra de subproducto de mango (B) y de guayaba (C) detectado a λ_{\max} 470 nm.	41
6.2. Compuestos fenólicos identificados en el extracto de polifenoles extraíbles de subproducto de mango (A) y subproducto de guayaba (B) detectados a λ_{\max} 280 nm.	45
6.3 Compuestos fenólicos identificados en el extracto de taninos hidrolizables de guayaba detectados a λ_{\max} 260 nm (A) y 320 nm (B).	46
6.4 Compuestos fenólicos identificados en el extracto de taninos condensados de mango (A) y guayaba (B) detectados a λ_{\max} 260 nm.	47

- 6.5. Compuestos fenólicos identificados en el extracto de taninos condensados de mango (A) y guayaba (B) detectados a λ_{\max} 280 nm. 48
- 6.6. Capacidad antioxidante mediante el ensayo DPPH de diferentes extractos del subproducto de mango y guayaba: Extracto 1 (metanol absoluto con HCl 2%) y Extracto 2 (metanol/agua 50:50 v/v y después acetona/agua 70:30 v/v). 52
- 6.7. Capacidad antioxidante en ensayo ABTS en extractos diferentes: Extracto 1 (metanol absoluto con HCl 2%) y Extracto 2 (metanol/agua 50:50 v/v y después acetona/agua 70:30 v/v) de las muestras de mango y de guayaba. 53
- 6.8. Índice de retardamiento de difusión de glucosa y V_{\max} en un sistema de diálisis del subproducto de mango y de guayaba. La muestra control consistió de una solución de glucosa sin fibra, las muestras de estudio consistieron de solución de glucosa y la fibra de mango y de guayaba respectivamente. 55
- 6.9. Porcentaje de inhibición de la enzima α -amilasa en un sistema de diálisis, la muestra control consistió de solución de almidón y enzima sin fibra, las muestras de estudio consistieron de solución de almidón con la enzima y la fibra de mango y de guayaba respectivamente. 56

I. INTRODUCCIÓN

La industria de los alimentos es una fuente importante de residuos orgánicos y su aprovechamiento no sólo reduciría los efectos negativos de los que hoy representa un problema de contaminación sino que además puede brindar beneficios económicos. La mayoría de este tipo de industrias no tiene definido un proceso para aprovechar residuos debido en parte al alto costo de su reutilización y por otra parte a la falta de caracterización de los mismos. Se sabe que se destinan al consumo animal o como abonos y fertilizantes; mediante esfuerzos aún limitados, algunos residuos orgánicos se destinan a la elaboración de biocombustibles.

En lo que se refiere a los riesgos para la salud, los malos hábitos alimentarios, los estilos de vida cada vez más sedentarios y el consumo de alimentos refinados que contienen más carbohidratos y grasas, han resultado en una mayor incidencia de enfermedades crónico degenerativas en nuestro país. Éstas son un grupo heterogéneo de padecimientos entre los cuales se encuentran la diabetes y las enfermedades cardiovasculares. Se sabe que si estas patologías no son tratadas adecuadamente se incrementa la concentración de radicales libres celulares y que esto conlleva a procesos de deterioro que como consecuencia, aumentan el riesgo de muerte en las personas. En México se tiene registro de que en el año de 2006, el 73% de las muertes se atribuyeron a padecimientos de esta naturaleza (Secretaría de Salud, 2007).

Se ha comprobado que la buena alimentación desempeña un papel fundamental para prevenir estas enfermedades y cada vez es más necesario mejorarla de forma que sea más sana y balanceada; incluyendo en la dieta alimentos ricos en nutrientes y que contengan sustancias capaces de producir efectos benéficos en el organismo. Sustancias con estas propiedades se conocen como compuestos bioactivos y dentro de este grupo de alimentos se encuentran la fibra dietaria (FD) y los compuestos fenólicos, esto últimos relevantes porque presentan una capacidad antioxidante (Martínez y col., 2008).

En la industria alimentaria, las frutas y las hortalizas se caracterizan por ser las que mayores residuos orgánicos generan, pero además son materiales ricos en fibra dietaria que, al mismo tiempo, se sabe también que contienen compuestos bioactivos importantes. En el subproducto generado del procesamiento de frutas Larrauri y col., (1994) identificó sustancias como: azúcares, ácidos orgánicos, pigmentos, proteínas, aceites y vitamina C.

Distintos materiales orgánicos procesados por diversos métodos u obtenidos de diversas fuentes varían en su composición química y en sus propiedades fisicoquímicas lo que, en consecuencia, afecta sus usos como ingredientes en el desarrollo de alimentos. En particular la FD contenida en estos materiales brinda un interés científico ya que distintas características químicas y fisicoquímicas generan distintas respuestas fisiológicas relevantes en el estudio de enfermedades como la diabetes o condiciones asociadas como el estrés oxidativo (Schneeman, 1986).

Fuentes de FD y compuestos antioxidantes de buena calidad, no explotados actualmente de manera formal en nuestra región, como el subproducto de fruta para la elaboración de jugo; brindan una oportunidad para la industria alimentaria de aprovechar los residuos para la elaboración de ingredientes bioactivos naturales y con ello promover beneficios a la salud humana. Es así como este proyecto se planteó la evaluación del subproducto obtenido en la elaboración de jugo de frutas de mango y guayaba para determinar su potencial como ingrediente funcional.

II. ANTECEDENTES

2.1 Las enfermedades crónico degenerativas en México y factores asociados

Las enfermedades crónico degenerativas se asocian a estilos de vida sedentarios y una alimentación poco balanceada aunque se ha comprobado la existencia de factores genéticos de naturaleza hereditaria que conciernen a estas condiciones. Algunos factores de predisposición a estas enfermedades son el estrés oxidativo, el sobrepeso y la obesidad, las concentraciones anormales de los lípidos sanguíneos, el sedentarismo y la dieta inadecuada (Córdoba-Villalobos, 2009).

La diabetes mellitus (DM) se considera una enfermedad crónico degenerativa. Se calcula que el 7% de la población general la padece y se ha determinado que 13% de la población presenta estados de intolerancia a la glucosa y condiciones que definen un estado pre-diabético (FMD, 2011).

Otros problemas en la población mexicana son el sobrepeso y la obesidad los cuales afectan a 70 % de los mexicanos, se estima que dentro de 10 años el 90 por ciento de la población mexicana estará en esta condición de salud. La obesidad representa un determinante de gran peso para el desarrollo de la diabetes e hipertensión arterial, o bien puede ser un factor que agrava o dificulta el control de dichos padecimientos (Secretaría de Salud, 2007).

2.1.1 Diabetes mellitus

La diabetes mellitus es un grupo heterogéneo de desórdenes metabólicos caracterizados por una hiperglicemia crónica asociada a fallas en la secreción y/o acción de la insulina con efectos en el metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas. Es un síndrome causado por la falta o la disminución de la efectividad de la insulina en los tejidos en cuanto al transporte, utilización y producción de glucosa. Facilita la captación de glucosa por los tejidos periféricos; en condiciones de diabetes solamente 10 a 20 % de las células beta de los islotes de Lagerhans están

en buen estado y se presenta una baja disponibilidad tisular de este carbohidrato, elevándose, en consecuencia, la concentración de glucosa en torrente sanguíneo.

Uno de los factores de predisposición a esta enfermedad es la obesidad, principalmente en pacientes con distribución de grasa predominantemente abdominal. La relación entre obesidad y la insulino resistencia es multifactorial: por un lado se ha asociado a una inadecuada actividad quinasa del receptor de insulina que se normaliza con la reducción de peso. Por otro lado, los pacientes obesos tienen en plasma unos niveles mayores de ácidos grasos libres con la capacidad de aumentar la resistencia a la insulina en diferentes tejidos. Ambas patologías, diabetes y obesidad, están relacionadas con el estrés oxidativo.

2.1.2 Estrés oxidativo

Los radicales libres (RL) son moléculas que en su estructura atómica presentan un electrón no apareado (ocupa una órbita molecular por sí mismo). Pueden existir de forma independiente y debido a la inestabilidad de su configuración electrónica, son generalmente muy reactivos (Boots y col., 2011).

El estrés oxidativo puede darse tanto por un exceso de producción de radicales libres (RL) y especies reactivas de oxígeno (ERO) como por un problema o alteración en el sistema de defensa antioxidante del organismo (Halliwell y Whiteman, 2004).

Hay fuentes endógenas y exógenas de radicales libres. Al ingerir alimentos la glucosa que llega a la sangre se define como glucosa postprandial y ésta es una fuente exógena de ERO ya que en condiciones de hiperglicemia un aumento en la concentración de la NAD(P)H oxidasa eleva la concentración de ERO. Una fuente endógena de ERO está asociada a un exceso de poder reductor en la cadena respiratoria a través del cual aparecen subproductos como el O_2^- , H_2O_2 y OH^- (Ames, 1995).

Los RL en exceso causan daño a diversas estructuras biológicas y pueden originar lesiones en el ADN, pérdida de función de enzimas, incremento en la permeabilidad celular, alteración de la señalización de la célula y, en ocasiones,

muerte celular por necrosis o apoptosis. El daño provocado por los RL se asocia a diversas patologías entre ellas la diabetes (Figura 2.1) (Kim y Kim, 2003).

2.2 Aspectos metabólicos asociados a las enfermedades crónico degenerativas.

De los diez factores de riesgo identificados como claves para el desarrollo de enfermedades, cinco están relacionados con la dieta y el estilo de vida: obesidad, sedentarismo, hipertensión, hipercolesterolemia y bajo consumo de frutas y verduras. La dieta es un factor clave porque a través de los alimentos el organismo obtiene la fuente de energía que requiere para vivir.

2.2.1 Metabolismo de los carbohidratos

El funcionamiento normal de los órganos del cuerpo humano requiere de energía. La fuente de energía celular más importante es la glucosa. Hay dos fuentes principales de glucosa; la digestión del almidón de los vegetales y el glucógeno de la carne en los alimentos que consumimos, y la movilización de las reservas de glucógeno del propio organismo.

En la digestión de los carbohidratos intervienen diferentes enzimas que desempeñan cada una funciones diferentes y que por tanto, tienen especificidades diferentes. Al consumir alimentos éstos se digieren por acción de enzimas digestivas como la α (1-4) amilasa y α (1-6) glucosidasa que hidrolizan al almidón y al glucógeno. La hidrólisis de un enlace glucosídico se lleva a cabo mediante la disociación de una molécula de agua rompiendo las cadenas de almidón y de glucógeno hasta llegar a unidades de maltosa que se degradan hasta glucosa. La glucosa es aprovechada por las células a y entonces se produce energía (Lafrance y col., 1988).

Los niveles de glucosa postprandial en sangre son un potente estímulo para que las células β -pancreáticas secreten insulina cuyo efecto principal es transportar

las moléculas de glucosa a través de la membrana de las células de los tejidos periféricos, principalmente músculo y tejido adiposo. El aumento de los niveles de glucosa incrementa la síntesis de ácidos grasos, triacilglicéridos y por tanto, la acumulación de tejido adiposo (Lafrance y col., 1988).

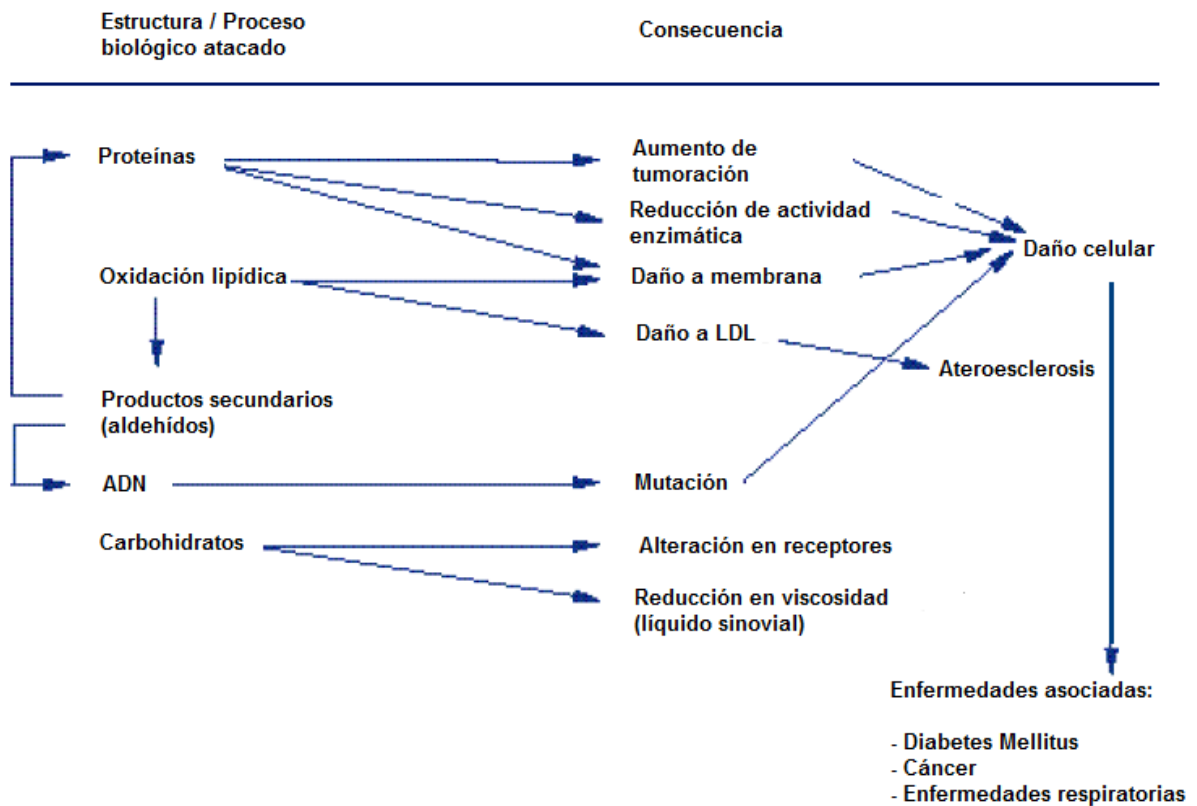
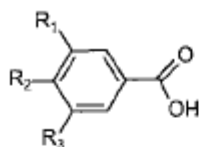


Figura 2.1. Daños producidos por los radicales libres (Halliweel, 2004).

2.3 Compuestos fenólicos

Químicamente, los compuestos fenólicos se pueden definir como sustancias que poseen anillos aromáticos (Figura 2.2) con uno o más grupos hidroxilo, incluyendo sus derivados funcionales; esta característica les confiere una acción antioxidante. Son los compuestos bioactivos antioxidantes más abundantes en la dieta. Se trata de un amplio grupo de compuestos que se pueden clasificar de acuerdo al número de anillos fenólicos que contienen y a los elementos estructurales enlazados en los anillos en: ácidos fenólicos (hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos), flavonoides, estilbenos y lignanos (Manach y col., 2004).

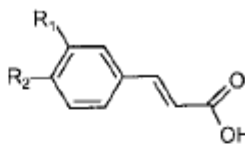
Ácidos hidroxibenzoicos



$R_1 = R_2 = OH, R_3 = H$: **protocatecoico**

$R_1 = R_2 = R_3 = OH$: **gálico**

Ácidos hidroxicinámicos

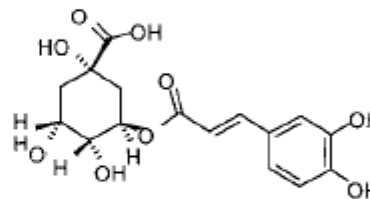
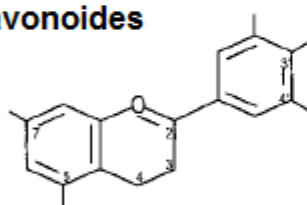


$R_1 = OH$: **coumárico**

$R_1 = R_2 = OH$: **cafeico**

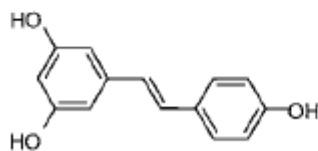
$R_1 = OCH_3, R_2 = OH$: **ferúlico**

Flavonoides



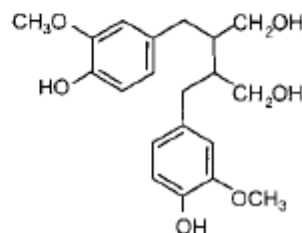
Clorogénico

Estilbenos



Resveratrol

Lignanos



Secoisolariciresinol

Figura 2.2. Estructura de compuestos fenólicos (Manach y col., 2004)

En los alimentos pueden también aparecer en formas conjugadas (glucósidos) con uno o más restos de azúcares unidos a grupos hidroxilo o directamente al anillo aromático aunque también pueden encontrarse asociados a otros compuestos (Manach y col., 2004).

El interés que se tiene en los compuestos polifenólicos está asociado a sus propiedades antioxidantes, su abundancia en las frutas y hortalizas, y su probable participación en la prevención de diversas enfermedades asociadas con el estrés oxidativo tales como cáncer, cardiovasculares y neurodegenerativas (Manach y col., 2004).

2.3.1 Flavonoides

Uno de los dos grandes grupos de compuestos fenólicos junto con los ácidos fenólicos son los flavonoides; éstos se subdividen en flavonas, flavonoles, flavononas, isoflavonas y flavanoles (Figura 2.3). Constan de un anillo pirano que puede ser abierto (chalconas) o reciclado en un anillo furano (auronas). Los flavonoides son importantes para el desarrollo y buen funcionamiento de las plantas al protegerlas contra agentes agresores externos, como la radiación UV, microorganismos, animales herbívoros y del medio ambiente. Pueden actuar como señalizadores químicos, indicando a los insectos que planta es apropiada para su alimentación, oviposición o simplemente guiándolos y facilitando así la polinización (Shahidi y col., 2004).

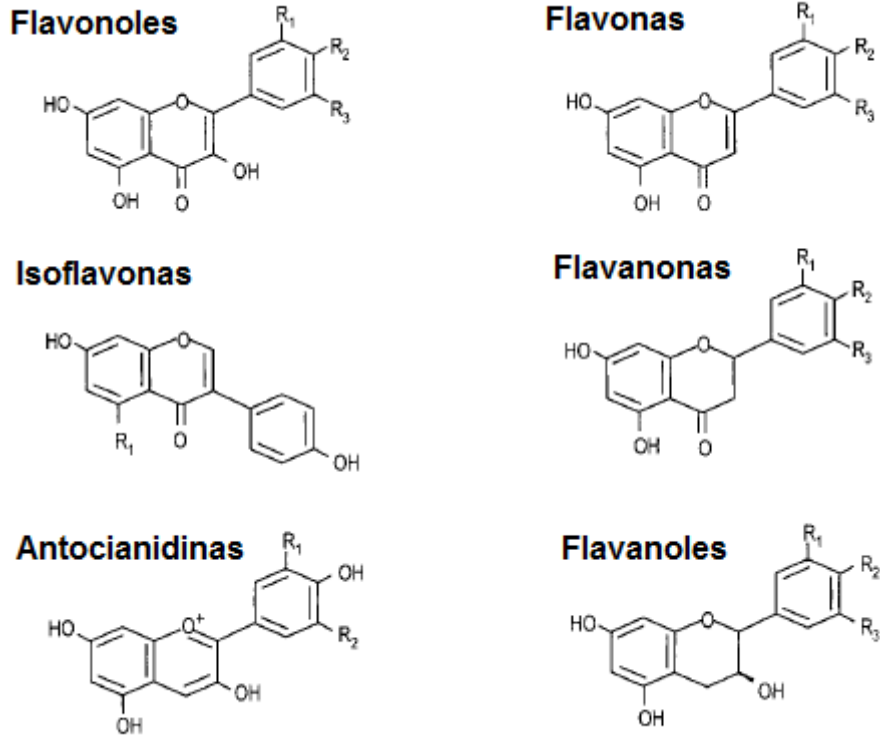


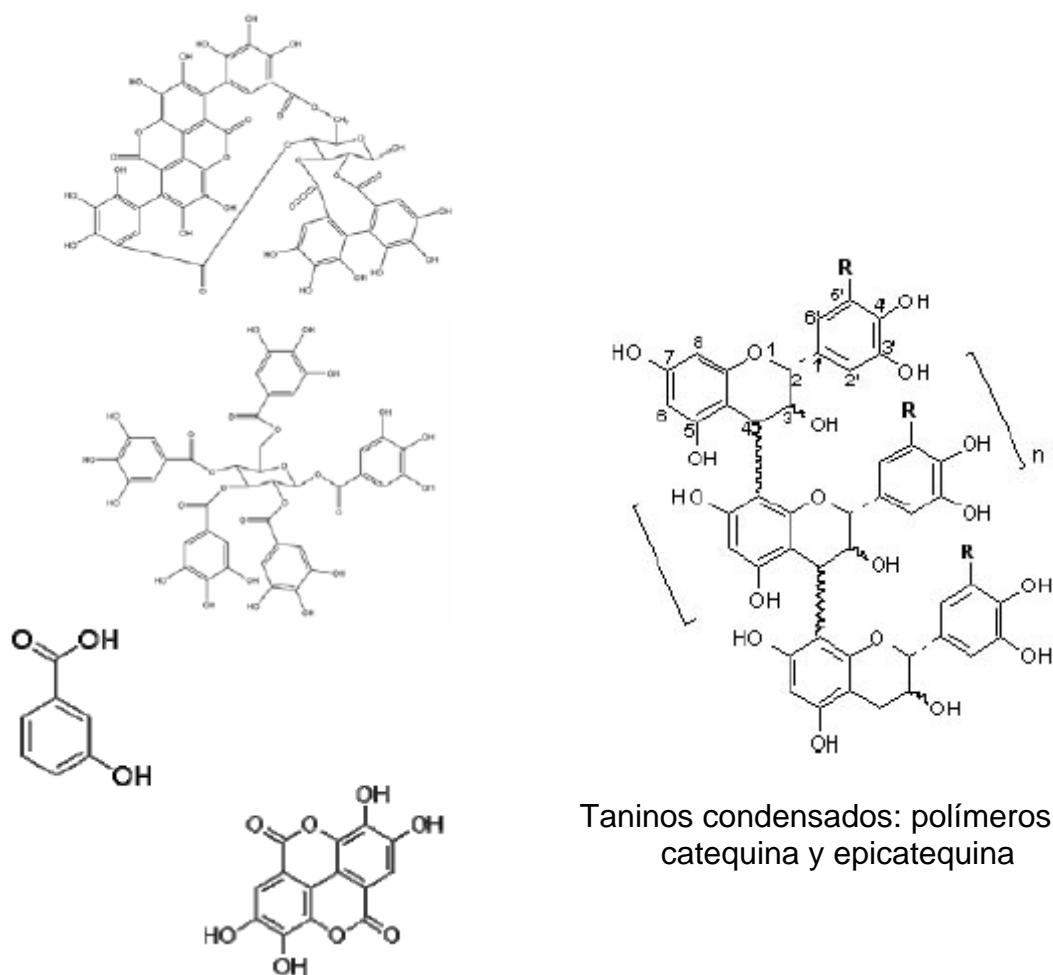
Figura 2.3. Estructura de flavonoides (Manach y col., 2004)

2.3.2 Antocianinas

Las antocianinas forman parte de la familia de los polifenoles y se definen como flavonoides fenólicos. Se encuentran principalmente en la piel de las frutas en forma de glucósidos solubles formados por una molécula de antocianidina (aglicona) que se une a una fracción de carbohidrato a través de un enlace β -glucosídico. La estructura química consiste en un grupo flavilo formado por un anillo de benzopirano unido a un anillo fenólico (Figura 2.2). Los monosacáridos comúnmente encontrados son D-glucosa, D-galactosa, L-ramnosa, D-arabinosa y D-xilosa, normalmente unidos con los grupos hidroxilo de la posición 3 de la antocianidina. El azúcar presente en la molécula otorga mayor estabilidad y solubilidad. De todas las antocianinas existentes, solo seis son de interés en los alimentos: pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina y malvinidina (Gross, 1987).

2.3.3 Taninos

Los taninos están constituidos por un amplio grupo de compuestos hidrosolubles con estructura polifenólica de pesos moleculares elevados de 500 a 3000 con la propiedad de que pueden precipitar proteínas y otros compuestos. En el alimento se encuentran unidos a la matriz de fibra por lo que no son fácilmente extraíbles (Figura 2.4). Los taninos pueden ser hidrolizables o condensados, también conocidos como proantocianidinas de alto peso molecular (Antolovich y col., 2000).



Taninos condensados: polímeros de catequina y epicatequina

Taninos hidrolizables: galotaninos, elagitaninos, ácidos benzoicos, ácidos hidroxicinámicos

Figura 2.4. Estructura de compuestos fenólicos de mayores pesos moleculares (Arranz, 2010).

2.3.4 Papel biológico de los polifenoles

Como antioxidantes los polifenoles protegen a los constituyentes celulares del daño oxidativo y con ello limitan el riesgo generado por varias enfermedades crónicas degenerativas asociadas al estrés oxidativo. Estudios han comprobado el valor de los polifenoles para prevenir enfermedades cardiovasculares, cáncer, osteoporosis, diabetes mellitus y enfermedades neurodegenerativas (Scalbert y col., 2005).

En particular se ha demostrado que el consumo de polifenoles limita el desarrollo de lesiones por ateroma ya que inhiben la oxidación de lipoproteínas de baja densidad las cuales se consideran parte del mecanismo clave que genera lesiones endoteliales típicas de la aterosclerosis (Marrugat y col., 2004).

Además de sus propiedades antioxidantes, otros estudios sugieren una variedad de mecanismos de acción potenciales en la prevención de enfermedades. Estos estudios han comprobado que los polifenoles juegan un papel biológico como la inhibición o reducción de diferentes enzimas (telomerasa, ciclooxigenasa, lipoxigenasa) así como la interacción con receptores celulares y cadenas de señalización celular. Pueden afectar la regulación del ciclo celular y la función de las plaquetas. Es debido a estas propiedades que los polifenoles se consideran agentes terapéuticos potenciales en el tratamiento y prevención de enfermedades crónicas degenerativas (D'Archivio y col., 2007).

2.3.5 Polifenoles extraíbles y no extraíbles

Por su comportamiento durante los métodos de extracción los compuestos fenólicos se han identificado como compuestos polifenólicos extraíbles (PE) y compuestos polifenólicos no extraíbles (PNE). Por polifenoles extraíbles se entiende de todos aquellos compuestos detectados en los extractos analizados a través del uso de solventes orgánicos. Los residuos sólidos que se obtienen de dichas extracciones a menudo se descartan; sin embargo mediante hidrólisis ácidas se han

detectado compuestos bioactivos clasificados como polifenoles no extraíbles (Figura 2.5) (Pérez-Jiménez y col., 2011).

Los PNE forman un grupo de compuestos con interés nutricional por dos razones: (a) algunos pueden ser hidrolizados por las enzimas del intestino delgado haciéndose bioaccesibles y potencialmente biodisponibles; (b) la fracción que llega intacta al colon está sujeta a la acción de microorganismos que provocan el desprendimiento de fenoles de bajo peso molecular y otros metabolitos que se absorben por las paredes del intestino (Pérez-Jiménez y col., 2011).

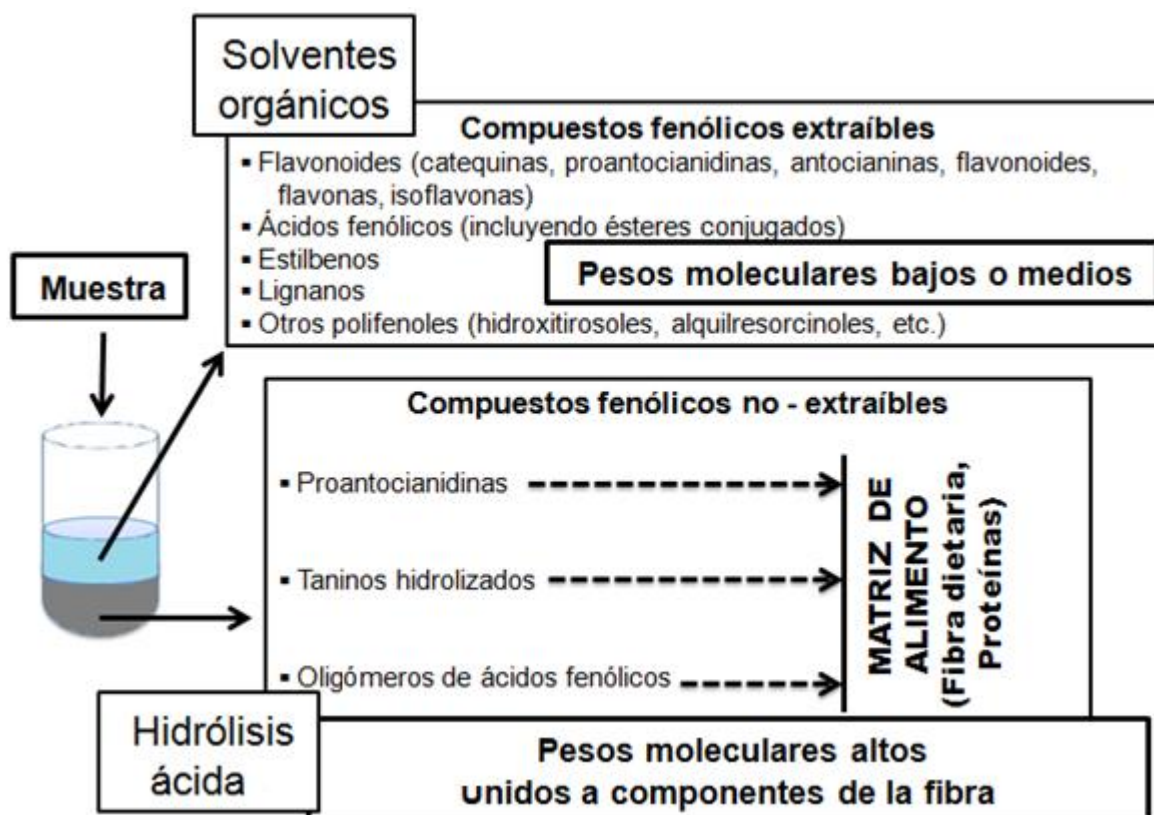


Figura 2.5. Polifenoles extraíbles (PE) y no extraíbles (PNE) en alimentos (Pérez-Jiménez, 2011).

2.4 Metabolismo de los compuestos fenólicos

Los polifenoles parecen ser absorbidos desde el tracto digestivo produciendo efectos sistémicos (Figura 2.6). Los PE absorbidos son metabolizados y tras convertirse en un nuevo compuesto glucuronidado, sulfatado o metilado son excretados en la orina y bilis. Sin embargo, los PNE que incluyen compuestos unidos a otras moléculas y polifenoles polimerizados no son absorbidos en el intestino delgado, por tanto pasarán al colon donde aumentarán el ambiente antioxidante o bien serán metabolizados por la microflora colónica y así serán parcialmente absorbidos (Holst y Williamson, 2008).

La mayoría de los compuestos polifenólicos presentes en los alimentos se encuentran como ésteres, glucósidos o polímeros que no pueden ser absorbidos en su forma nativa teniendo que ser hidrolizados ya sea por las enzimas intestinales como la B-glucosidasa y la lactasa-plorizin-hidrozilasa o por la microflora colónica (D'Archivio y col., 2007).

Estudios sobre fermentación colónica de compuestos polifenólicos muestran al ácido 3-(3-hidroxifenil)-propiónico como metabolito de fermentación del ácido clorogénico, al ácido 3-fenilpropionico el de naringina, y los ácidos 3-hidroxifenilacetico y 3-(3-hidroxifenil)-propiónico de la rutina. De la fermentación de flavan-3-oles (catequinas) se obtienen los ácidos difenilpropan-2-oles (Rechner y col., 2004; Wang y col., 2000). Otros compuestos como las isoflavonas son fermentadas produciéndose equol como metabolito mientras que el ácido elágico y los elagitaninos producen urolitina A (3,8-dihidroxi-6H-dibenzo [b,d] piran-6-ona) (Cerdá y col., 2005).

Algunos de los metabolitos descritos para los principales constituyentes de los PNE, taninos hidrolizables y taninos condensados, son las urolitinas, ácidos gálico, ácido elágico, pirogalol y floroglucinol (Dobroslawa, y col, 2009) y dímeros y trímeros de proantocianidinas respectivamente (Tsang y col., 2005).

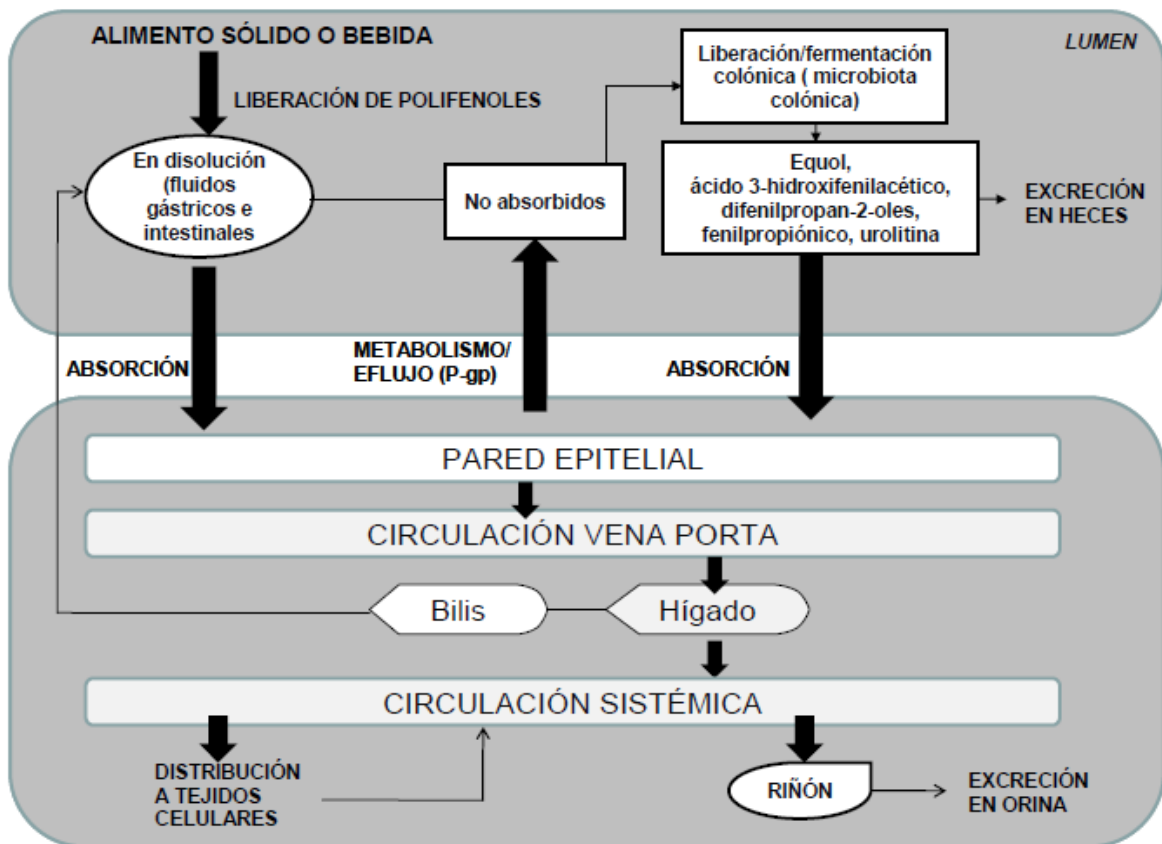


Figura 2.6. Metabolismo de compuestos polifenólicos presentes en alimentos sólidos y bebidas (Arranz, 2010).

2.5 Carotenoides

Los carotenoides son compuestos tetraterpenoides, formados por ocho unidades de isoprenos y biosintetizados a partir del precursor isopentenil pirofosfato, el cual proviene del ácido mevalónico. Los carotenoides se clasifican principalmente en dos grupos: carotenos y xantofilas. Los carotenos presentan una estructura que solo contiene carbono e hidrógeno; en tanto que las xantofilas, además de poseer carbono e hidrógeno, contienen oxígeno en forma de grupos sustituyentes como hidroxilo, carbonilo y epóxido (Rodríguez-Amaya, 2001).

Entre los carotenoides más comunes se encuentran el β -caroteno, licopeno, zeaxantina, luteína, entre otros (Figura 2.7). Los carotenoides son los responsables de los colores amarillos, anaranjados y rojos que presentan los alimentos, los tallos, flores y hojas de plantas, bacterias y algunos animales invertebrados marinos. En los tejidos verdes se localizan en los cloroplastos, y en los tejidos rojos, anaranjados y amarillos se encuentran en los cromoplastos. Estos compuestos junto con las antocianinas y clorofilas, son los pigmentos vegetales de mayor distribución en la naturaleza. Por su diversidad estructural y numerosas funciones, están involucrados en la fotosíntesis. Sólo algunos de los carotenoides presentes en los alimentos son precursores de la vitamina A1, como es el caso del β -caroteno y otros carotenoides que poseen anillo β no sustituido, dicha vitamina es importante en el proceso de la visión, mantenimiento epitelial, secreción de la mucosa y reproducción.

Los carotenoides previenen y protegen la salud de los seres humanos, por su significativa capacidad antioxidante. También se ha demostrado que intervienen en la respuesta inmune y en la comunicación celular *in vivo*, ya que regulan la expresión de algunos genes, como es el caso de los genes que producen el interferón- γ , el cual es responsable de regular las respuestas inflamatorias e inmunes. Varios estudios epidemiológicos han mostrado una relación entre el alto consumo de frutas y vegetales, y una disminución en el riesgo de enfermedades degenerativas como el cáncer, enfermedades cardiovasculares y degeneración macular, debido principalmente a la presencia de compuestos con capacidad antioxidante (Rodríguez-Amaya, 2001).

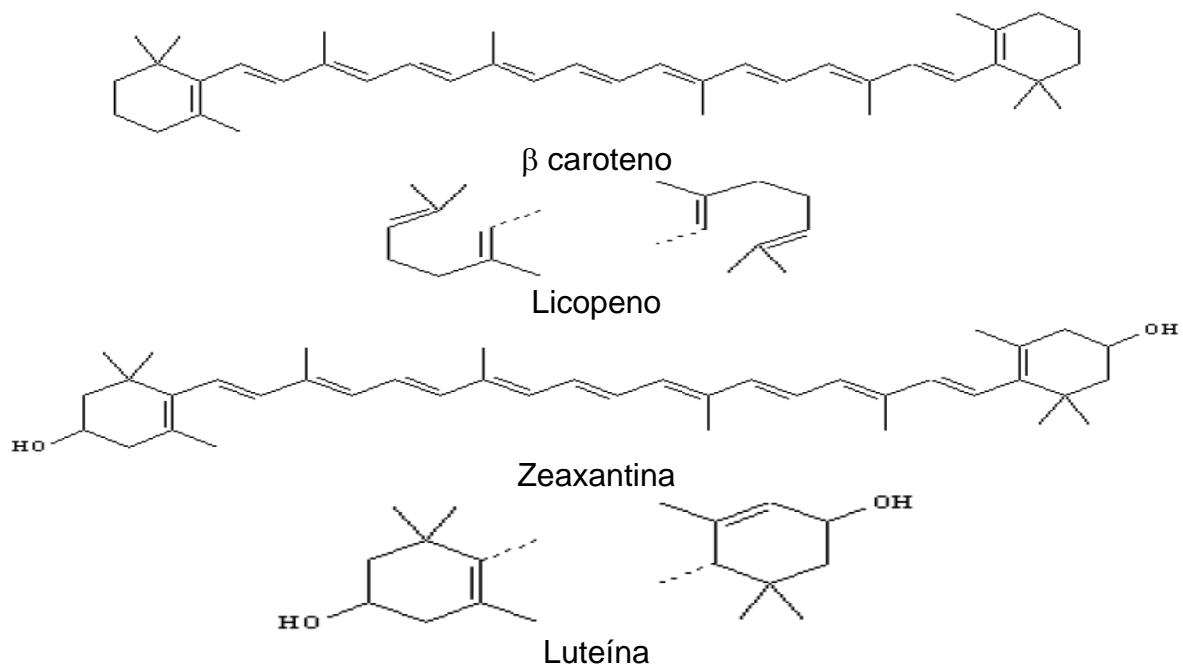


Figura 2.7. Ejemplos de carotenoides (Arranz, 2010).

2.6 Fibra

El Codex alimentario en 2009 define como fibra al conjunto de polímeros de carbohidratos con diez o más unidades monoméricas, que no son hidrolizados por las enzimas endógenas del intestino delgado de los humanos (Kritchevsky, 1995).

2.6.1 Fibra dietaria (FD)

La FD forma por una mezcla variada de polisacáridos, celulosas, hemicelulosas, pectinas, gomas, mucílagos, polisacáridos algáceos y lignina (Saura, 2011).

2.6.2 Fibra dietaria soluble (FS) y no soluble (FI)

La FD puede clasificarse de acuerdo a su solubilidad en agua como solubles e insolubles. Sus propiedades y efectos fisiológicos están determinados

principalmente por las proporciones que guardan estas dos fracciones junto con otras características como la capacidad de absorción de agua y aceite (López y col., 2008).

Todas las frutas y vegetales contienen tanto fibra soluble como fibra insoluble, aunque la cantidad que poseen cada uno difiere considerablemente. La fibra soluble está constituida por pectinas, gomas y mucílagos, esta retiene líquidos, retarda la absorción de glucosa, reduce los niveles sanguíneos de colesterol y es fermentada por las bacterias colónicas, sin tener un efecto laxante (Fennema, 1993).

Las fibras insolubles están constituidas por celulosa, ciertas hemicelulosas y lignina, son fibras con poca capacidad de captar agua, por lo que forma mezclas de baja viscosidad. La fibra insoluble es la que más acelera el tránsito intestinal, es poco fermentable contribuyendo a aumentar significativamente el peso de los alimentos en el intestino aumentando el peso de la materia fecal (Fennema, 1993; Belitz, Grosh, 1997).

2.7 Fibra antioxidante

El concepto de fibra antioxidante se refiere a aquella materia prima con un elevado porcentaje de FD y cantidades apreciables de antioxidantes naturales asociados a la matriz del conjunto de compuestos no digestibles como las proteínas y los polisacáridos.

Concretamente, en el caso de los polifenoles, una parte considerable de ellos puede estar asociada a la fracción de fibra insoluble, principalmente los compuestos de mayor grado de polimerización como taninos condensados (proantocianidinas) y taninos hidrolizables. Mientras que asociados a la fracción de fibra soluble, se suelen asociar polifenoles de menor peso molecular tales como algunos flavonoides, ácidos fenólicos, dímeros y trímeros de proantocianidinas (Saura y Serrano, 2007; Goñi y col., 2009).

2.8 Fibra y sus efectos en el tratamiento de enfermedades

La FD es un componente esencial de una dieta saludable y un factor preventivo de enfermedades como la diabetes y la obesidad, uno de sus factores de predisposición (Saura, 2011).

Se han estudiado los efectos de la FD en el control del hambre, saciedad, consumo de energía y peso corporal comprobándose que si se aumenta el consumo de FD aumenta la saciedad en estado postprandial y decrece la sensación de hambre. La principal característica de la fracción soluble de la FD es su capacidad para atrapar agua y formar geles viscosos, lo que determina su poder como laxante, enlentecimiento del proceso digestivo, del tránsito y de la absorción de hidratos de carbono (Saura, 2011). Las esterasas y β -glucosidasas de las bacterias atacan fácilmente los enlaces poco estructurados de la fracción soluble de la FD, explicándose el efecto prebiótico de esta fracción. Una característica fundamental de la fibra soluble (FS) es su capacidad para ser metabolizada por las bacterias colónicas, con la consiguiente producción de gases (flatulencia, propulsión fecal) y ácidos grasos de cadena corta: acetato, propionato y butirato. Los dos primeros pueden ser absorbidos y emplearse para obtener energía, mientras que el propionato disminuye la síntesis del colesterol endógeno. El butirato ejerce acciones antiproliferativas; regula la homeostasis del epitelio colónico y se le asignan capacidades anti-tumorales, ya que inhibe a las histona-desacetilasas (Willem y col., 2010).

La fibra insoluble (FI) aumenta el volumen de las heces hasta 20 veces su peso, y se relaciona con la protección de algunos trastornos digestivos como estreñimiento y constipación (Willem y col., 2010).

La ingesta prolongada de dietas altas en fibra ha demostrado que mejora el control glicémico reduciendo la demanda de insulina. Estudios han encontrado que la fibra actúa a nivel fisiológico en el tracto intestinal retardando la absorción de glucosa postprandial. El efecto se atribuye al aumento de viscosidad ejercido por la fibra y a la presencia de polisacáridos fermentables. El mayor efecto reductor de respuesta glicémica se observa con fibras solubles (Bennami y col., 2000).

2.9 Residuos orgánicos

Durante algunos procesos agroindustriales se generan subproductos o residuos y si ellos no son reciclados o procesados apropiadamente, generan diversos problemas ambientales. Algunos son quemados o vertidos en rellenos sanitarios produciendo una gran liberación de dióxido de carbono y contaminación de cursos de aguas. Su eliminación supone un problema de gestión para las empresas productoras. Sin embargo, estos materiales son fuentes que pueden llegar a ser atractivas por su contenido en compuestos químicos (como azúcares, pigmentos, fibra alimentaria, proteína, polifenoles, lignina, etc.) y pueden ser potencialmente útiles cuando se les transforma mediante tratamientos químicos o microbiológicos en productos de elevado valor agregado (Yepes y col., 2008).

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

2.10 Industria de jugos en México

Hay ocho empresas importantes en la industria de jugos en México: Campbells, Coca Cola Export, Jumex, Herdez, Jugos del Valle, Gerber, Valle Redondo y Pascual Boing. La Sociedad Cooperativa Trabajadores de Pascual, S.C.L elabora y comercializa bebidas naturales, saludables y nutritivas en la gama de jugos, néctares, pulpas de fruta, agua purificada y refrescos. Está conformada por tres plantas productoras ubicadas en los estados de Querétaro, Hidalgo y Culiacán.

Los productos Pascual cuentan con la aprobación del Departamento de Administración de Fármacos y Alimentos en los Estados Unidos (FDA por sus siglas en inglés), así mismo cuenta con la certificación ISO 9001:2008 en la planta de San Juan del Río, Querétaro.

Se estima que hay un 70% de rendimiento en el procesado de los productos de la empresa, el 30% restante se considera subproducto o desecho orgánico y se usa como abono de las tierras de cultivo de la región.

En México aún no hay un marco legislativo que regule el destino de los desechos orgánicos ni tampoco se cuenta con registros sobre el destino de los mismos. Se reportan esfuerzos particulares para los residuos en la industrialización de la vid, el agave y la caña de azúcar. Algunos de los usos reportados se encaminan a la producción de biocombustibles, sustratos para la biodegradación de contaminantes y materiales adsorbentes de compuestos tóxicos (Barragán, 2008).

2.11 Frutas bajo estudio

2.11.1 Mango (*Mangifera indica* L.) y su composición química

Estudios sobre la composición química del mango reportan la presencia de ácido ascórbico, ácidos fenólicos (gálico, benzoico, 3-4 dihidrobenzoico), compuestos fenólicos como carotenoides, mangiferina, catequina y epicatequina. Además contiene ácidos orgánicos (ácido málico y tartárico) en pequeña cantidad (menos del 1%) y flavonoides, como la quercetina, con propiedades antioxidantes. Algunos miembros de la familia de las Anacardiáceas a la que pertenece el mango poseen efectos antiinflamatorios, analgésicos e hipoglucemiantes probados en animales que se atribuyen a los diferentes constituyentes químicos de la planta de los que destacan polifenoles, flavonoides, triterpenos y mangiferina (Yahia y col., 2006).

2.11.2 Guayaba (*Psidium guajava* L.) y su composición química

El fruto de guayaba contiene proteína, grasas, carbohidratos, fibras, cenizas, calcio, fósforo, hierro, magnesio, zinc, cobre, sodio, potasio, vitamina A, β -caroteno, riboflavina, tiamina, niacina, vitamina B 6 y ácido ascórbico (Marquina y col., 2008). Se han identificado además compuestos volátiles como aldehídos y ésteres y ácidos grasos (linoléico, palmítico, oleico, esteárico y trilinoleína). Un aspecto sobresaliente de la guayaba rosada es el contenido carotenoides, en particular de licopeno, el cual se ha demostrado previene enfermedades como el cáncer de próstata (Giovannucci, 2002).

Los pocos estudios realizados sobre las propiedades nutracéuticas de la guayaba, se han centrado en la vitamina C y los carotenoides; resultados sugieren que la guayaba tiene propiedades antiespasmódicas y antimicrobianas útiles en el tratamiento de diarrea y disentería en regiones tropicales así como propiedades hipoglucemiantes en modelos biológicos (Sanjinez y col., 2005).

III. JUSTIFICACIÓN

De los diez factores de riesgo identificados como claves para el desarrollo de enfermedades, cinco están relacionados con la dieta y el estilo de vida. En nuestro país es significativo el peso económico y social que representa la incidencia de enfermedades crónico degenerativas asociadas al estrés oxidativo.

Se ha comprobado que la buena alimentación desempeña un papel fundamental para prevenir estas enfermedades y cada vez es más necesario mejorarla de forma que sea más sana y balanceada; esto se logra incluyendo en la dieta alimentos ricos en nutrientes y que contengan sustancias capaces de producir efectos benéficos en el organismo.

Fuentes de FD y compuestos antioxidantes de buena calidad no explotados actualmente de manera formal en nuestra región, como el subproducto de fruta para la elaboración de jugo, brindan una oportunidad para la industria alimentaria de aprovechar dichos residuos y usarlos para la elaboración de ingredientes bioactivos naturales, y con ello promover beneficios a la salud humana.

Dicho subproducto actualmente se destina como abono de tierras de cultivo; por lo tanto, brinda un beneficio el contar con una valoración del concentrado de fibra obtenido a partir del mismo como una opción actualmente no aprovechada por la industria de alimentos con potencial para el desarrollo de complementos alimenticios con valor para la prevención y tratamiento de enfermedades crónicas como la diabetes y la obesidad.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Evaluar los subproductos obtenidos en la elaboración de jugos de mango y guayaba como posibles fuentes de fibra antioxidante.

4.2 Objetivos Particulares

- Determinar las propiedades fisicoquímicas del subproducto de mango y guayaba:
 - Determinación de pH
 - Determinación de la capacidad de absorción en agua (CAA)
 - Determinación del índice de solubilidad en agua (ISA)
 - Determinación de la capacidad de absorción en aceite (CAa)
- Realizar un análisis proximal y de colorimetría de los subproductos.
- Cuantificar el contenido de fibra soluble, insoluble, compuestos fenólicos y carotenos en los subproductos.
- Cuantificar el contenido de polifenoles extraíbles (PE) y polifenoles no extraíbles (PNE) en los subproductos.
- Evaluar la capacidad antioxidante *in vitro* de los subproductos:
 - Evaluar la capacidad antioxidante por ABTS
 - Evaluar la capacidad antioxidante por DPPH
- Determinar la capacidad de los subproductos de atrapar glucosa utilizando un sistema de diálisis y cuantificar el efecto sobre la actividad *in vitro* de la enzima α -amilasa.

V. METODOLOGÍA

5.1 Materiales químicos

Se utilizaron los siguientes reactivos: alfa amilasa de ICN Biomedicals, membrana de celulosa para diálisis 100f-1 de Sigma Aldrich, los kits para la determinación de glucosa y fibra dietaria total de marca Randox. Se usaron además los reactivos DPPH⁺ (2,2-Difenil-1-picrilhidrazil), ABTS^{•+} (2,2'azinobis-(3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfónico)) y de Folin Ciocalteu marca Sigma Aldrich; como estándares Trolox (antioxidante sintético de referencia), ácido gálico y rutina marca Sigma Aldrich y β -caroteno marca Fluka. Todos los solventes y ácidos utilizados (metanol, etanol, acetona, butanol, hexano, ácido sulfúrico, ácido clorhídrico, acetonitrilo) fueron de la marca Aldrich y Sigma.

5.2 Materia prima

La materia prima empleada fueron los subproductos de desecho en la elaboración de jugos de mango (*Mangifera indica* L.) y guayaba (*Psidium spp.*) de la empresa mexicana Sociedad Cooperativa Trabajadores de Pascual, S.C.L., Planta San Juan del Río, Querétaro, México. Se hicieron dos tomas de subproducto para cada fruta de trabajo tomadas directamente del canal de salida de desecho orgánico que contiene la cáscara con remanentes de pulpa de la fruta. Una vez colectada la muestra ésta se transportó en cubetas cerradas y se guardó en refrigeración a 5 °C. Los residuos se secaron en secador de bandeja con circulación de aire caliente a 55 °C y luego se trituraron hasta tamaño de partícula de 40 micras. Los productos secos y pulverizados se almacenaron en recipientes de plástico cerrados y opacos en ambiente seco a 21 °C.

5.3 Análisis proximal

Por los métodos de la AOAC (1999), se cuantificaron las cenizas totales (940.26), humedad (925.09), lípidos (983.23), proteína (950.48) y fibra dietaria total (925.09).

5.4 Determinación de FDT por métodos enzimáticos

Se gelatinizó 1 g de muestra con alfa amilasa termoestable (A-3306, Sigma Chemical), a 100 °C, pH 6 por 15 min y luego se realizó la digestión enzimática con proteasa (P-5380, Sigma Chemical Co.) a 60 °C, pH 7.5, 30 min, la muestra se incubó en seguida con amiloglucosidasa (A-9268, Sigma Chemical Co.) a 60 °C, pH 4.5, 30 min, para eliminar las proteínas y almidón.

En seguida, la muestra se filtró y se lavó con agua, se secó y se pesó para determinar la fibra insoluble. Cuatro volúmenes de etanol al 95% (previamente calentado a 60 °C) se agregaron para el filtrado y los lavados de agua. A continuación, el precipitado se filtró y se lavó con etanol al 78%, y acetona al 95%. Después de esto, el residuo (FI) se secó y se pesó. La mitad de la muestra se analizó para proteínas y la otra mitad para ceniza. La FD total se determinó mediante la fórmula $FDT = \text{Peso residuo} - (\text{peso proteína} + \text{peso ceniza})$ (Prosky y col., 1998).

5.5 Propiedades funcionales de las muestras en polvo

5.5.1 pH

El pH del concentrado de subproducto en polvo se midió en una solución con agua destilada a una concentración del 10% y 1 % (p/v) de polvo, se filtró y se midió el pH en un potenciómetro marca Ohaus previamente calibrado con estándares a pH 4 y 7.

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

Para medir la capacidad de absorción de agua (CAA), se pesó un tubo de centrifuga, se le agregó 1 g de muestra con 10 mL de agua; se reposó 30 min con agitación cada 30 segundos, posteriormente se centrifugó a 2500 rpm por 10 min. Se desechó el sobrenadante y se pesó. El valor de CAA se calculó con la siguiente fórmula:

$$CAA = [(peso\ del\ tubo +\ sedimento) - (peso\ del\ tubo +\ peso\ de\ muestra)] / peso\ de\ muestra]$$

Para medir la capacidad de absorción de aceite (CAa) se midió igual que para la CAA, excepto que en el lugar de utilizarse agua se utilizó aceite de maíz comercial (Sathe y Salunkhe, 1981).

5.5.3 Índice de solubilidad en agua (ISA)

Este análisis permite cuantificar el porcentaje de sólidos solubles disueltos en agua a una temperatura de 37 °C. Cada muestra de polvo de 2.5 g en base seca se colocó en un tubo de propileno de 50 mL, previamente tarado y se adicionaron 40 mL de agua destilada. Los tubos se colocaron en un baño maría en agitación a 37 °C durante 30 min, posteriormente, los tubos se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 min. El sobrenadante se vertió cuidadosamente en vasos tarados para evaporarse en estufa a 105 °C durante 24 h y se pesó el residuo de evaporación. El índice de solubilidad en agua se calculó con la siguiente fórmula:

$$ISA = (Peso\ del\ residuo\ de\ evaporación / Peso\ de\ la\ muestra) * 100$$

(Anderson y col., 1969).

5.5.4 Análisis de color

Se prepararon las muestras en polvo en cajas Petri de vidrio colocando una capa uniforme. Se instaló el aparato Colorímetro marca Minolta CM508 y se realizaron tres mediciones para cada muestra de polvo por triplicado. Se registraron

las lecturas correspondientes al espacio CIELAB, que se representa en coordenadas rectangulares como claridad o luminosidad, L^* , y cromaticidad, a^* y b^* . Los componentes de cromaticidad presentan valores desde $(-a^*)$ a $(+a)$ y $(-b^*)$ a $(+b^*)$, donde a^* va de verde a rojo y b^* de azul a amarillo.

5.6 Compuestos fenólicos

5.6.1 Cuantificación espectrofotométrica de fenoles totales

Para la extracción de compuestos fenólicos totales se pesó 1 g de muestra en polvo y se hizo la extracción en ácido clorhídrico al 2% en metanol absoluto por 24 h en la oscuridad a temperatura ambiente (denominado extracto 1 de polifenoles extraíbles). Los extractos se diluyeron con los mismos solventes usados para la extracción en 100 mL y se filtraron alícuotas de 100 μ L transfiriéndose a tubos de ensayo, añadiendo 100 μ L de agua destilada, 1 mL del reactivo de Folin Ciocalteu y 0.8 mL de solución de carbonato de sodio (solución al 7.5%). Los tubos se agitaron y se dejaron en reposo por 2 h a temperatura ambiente. La absorbancia se determinó a 765 nm. La cuantificación se realizó por interpolación de los resultados en una curva estándar de ácido gálico (0 a 32 μ g), y se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (AG) por gramo de muestra (mg equivalentes AG/g de muestra) (Singleton y Rossi, 1999).

5.6.2 Cuantificación espectrofotométrica de flavonoides

Para la cuantificación de flavonoides se preparó una solución de 2-aminoetil-difenilborato pesando 0.01 g de sustancia y diluyendo en 20 mL de metanol grado analítico. Se realiza la reacción con 50 μ L del extracto previamente diluido, 150 μ L de metanol y 50 μ L de la solución previamente preparada. La lectura se realizó en espectrofotómetro a 404 nm y se obtuvieron las concentraciones de flavonoides con una curva estándar de rutina.

5.6.3 Cuantificación de fenoles extraíbles

Para la obtención del extracto 2 de polifenoles extraíbles, se pesó un gramo de cada muestra en polvo de subproducto y se agregaron 40 mL de una solución de metanol-agua (50:50 v/v) a pH 2, los tubos se agitaron a temperatura ambiente durante 1 hora. Posteriormente se centrifugaron las muestras a 1500 g por 10 minutos y se recuperó el sobrenadante (denominado Extracto A). A los residuos se les agregó nuevamente una mezcla de 40 mL de acetona:agua (70:30 v/v), que de igual forma se agitó a temperatura ambiente por una hora, y una vez terminado este lapso se centrifugaron los tubos a 1500 g por 10 minutos, se recuperaron los sobrenadantes (denominados Extractos B). Se mezclaron 7.5 mL del extracto A para cada fruta y 7.5 mL del extracto B correspondiente con 2.5 mL de metanol absoluto y a este extracto se le llamó extracto 2 de polifenoles extraíbles. Posteriormente se le realizó una determinación de fenoles totales correspondientes a la fracción de los extraíbles (Hassan y col., 2011).

Los residuos se recuperaron, se secaron y guardaron para las determinaciones de polifenoles no extraíbles.

5.6.4 Cuantificación de fenoles no extraíbles

a) Cuantificación de taninos condensados

La cuantificación de proantocianidinas no extraíbles o taninos condensados se realizó mediante la hidrólisis ácida con n-butanol del residuo del subproducto de mango descrito en la técnica anterior. Esta técnica se fundamenta en la liberación a partir de calor y un alcohol de las antocianidinas estables al calor a partir de los taninos condensados del subproducto, estas antocianidinas son pigmentos que generan un compuesto coloreado que se puede medir a una longitud de onda de 550 nm.

Las proantocianidinas presentes en el residuo se hidrolizaron de acuerdo al método descrito por Porter y col., en 1986. En un tubo con tapa de 10 mL, se

agregaron 6 mL de n-butanol/HCL (95:5), después se añadió 0.1 gr del residuo y 0.2 mL del reactivo metálico (i.e. 2% (p/v) sulfato de amonio férrico en una concentración 2 mol/L HCl), después de esto el contenido se mezcló en el vórtex. Se colocó a baño María a temperatura de ebullición durante 50 min. Después de esto se dejó enfriar el tubo, y se transfirió la solución a un matraz aforado ajustando el volumen a 25 mL, con el reactivo n-butanol/HCl antes preparado. La absorbancia se leyó a una longitud de onda de 550 nm. Los resultados se expresan en unidades de absorbancia por 1 mg de extracto (A550/mg) (Amarowicz y Pegg, 2006).

b) Cuantificación de taninos hidrolizables

El fundamento de esta técnica consiste en hidrolizar los taninos hidrolizables produciendo metil galato, el cual se hace reaccionar con KIO_3 con lo que se produce un compuesto coloreado que se lee a una longitud de onda de 525 nm.

En esta técnica se usó de igual forma el residuo de la técnica de fenoles extraíbles descrita anteriormente. Se pesaron 20 mg de residuo y se añadieron 2 mL de metanol/ H_2SO_4 (90:10 v/v), los tubos se incubaron a 85 °C durante 20 horas. Después de este tiempo se centrifugaron a 3000 g y el sobrenadante se ajustó a 3 mL con agua destilada. Se añadieron 4 volúmenes de etanolamina comercial (50 μL), agitando entre cada adición. A cada muestra se le añadieron 500 μL de acetato de amonio 3.7 M y se ajustó el pH a 5.5 con etanolamina. Se aforó a 4 mL con agua destilada y se mezcló. Se transfieren 100 μL de la muestra en un tubo de 2 mL, se le agregan 350 μL de agua y 1000 μL de metanol y se mezcló. Los tubos se taparon y se colocaron en baño de agua a 30 °C. Para preparar el blanco se remplazaron los 350 μL de agua por HCl al 0.3 N. Se añadieron 40 μL de KIO_3 y se mezcló. Se regresó a baño maría a 30 °C durante 50 min. Se leyó la absorbancia a 525 nm, teniendo como blanco agua destilada (Hartzfeld y col., 2002).

5.6.5 Cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC-DAD

Los compuestos fenólicos contenidos en las muestras se separaron y cuantificaron usando una cromatografía líquida de alta resolución con una matriz de detectores de diodos (HPLC-DAD) (Agilent 1100 HPLC Control; República Checa) con inyección automática. Se empleó una columna con fase reversa (Zorbaxoctadecyl silace (ODS-C18) 15 x 4.6 mm). Para la fase móvil se usaron el solvente A: ácido acético/agua (2:98 v/v) y el solvente B: ácido acético/acetonitrilo/agua (2:30:68 v/v). Durante el análisis, el gradiente se programó desde 10 a 100% B en A con un flujo de 1.5 mL/min (Ramamurthy y col., 1992). El detector ultravioleta se fijó a una absorbancia de 280 nm. El HPLC se realizó empleando ácidos fenólicos puros: ácido gálico, ácido protocatecoico, ácido vanílico, ácido benzoico, ácido elágico, ácido siríngico, vainillina, resveratrol, catequina y epicatequina.

5.7 Determinación de carotenoides

5.7.1 Cuantificación espectrofotométrica

El procedimiento de extracción del pigmento se llevó a cabo bajo condiciones de obscuridad. Se pesaron 0.5 g de muestra y se adicionaron 20 mL de solución de extracción de acetona-etanol-hexano (1:1:2 v/v/v). Se agitaron los matraces por 15 min y se agregaron 3 mL de agua destilada. Se continuó con la agitación por 15 min y se dejó en reposo para permitir la separación de fases. Se separó la fase orgánica (superior) y se guardó protegida de la luz. Se agregaron nuevamente 20 mL de una solución de extracción y se repitió el proceso hasta la separación de fases. Se juntaron las fases orgánicas y se leyó a 503 nm.

La concentración se calculó utilizando el coeficiente de absortividad molar para β caroteno de 24686 ($M \cdot 1\text{cm}^{-1}$)

$$A = abc$$

A= absorbancia; a = coeficiente de extinción molar del compuesto; b = distancia recorrida por el rayo de luz (1 cm); c = concentración molar del cromóforo.

5.7.2 Cuantificación de β -caroteno por HPLC-DAD

La cuantificación de β -caroteno también se realizó usando una cromatografía líquida del alta resolución con una matriz de detectores de diodos (HPLC-DAD) (Agilent Technologies serie 1200.) con inyección automática. Para la fase móvil se preparó con acetonitrilo-diclorometano-metanol (70:20:10 v/v/v). Durante el análisis el gradiente se programó desde 10 a 100% B en A con un flujo de 1.5 mL/min (Ramamurthy y col., 1992). El detector ultravioleta se fijó a tres absorbancias: 450 nm, 470 nm y 503 nm. El HPLC se realizó empleando β -caroteno marca Fluka.

Para preparar las muestras se realizó una extracción con hexano, para lo cual se pesaron 0.5 g de muestra en polvo de cada subproducto y se adicionaron 20 mL de una solución de extracción de hexano/dietiléter (70:30 v/v), este proceso se realizó dos veces para obtener finalmente dos fases orgánicas, éstas se mezclaron y se les adicionó 0.1% de BHT en hexano. Estos son los extractos que se inyectaron al vial para proceder al análisis por cromatografía.

Para la fase móvil se aplicó un sistema isocrático con un flujo de 1 mL/min y un volumen de inyección de 20 μ L.

5.8 Índice de retardamiento de diálisis de glucosa (IRDG)

Se tomaron 0.2 g de muestra en polvo y se le adicionan 20 mL de solución de glucosa 50 mmol/L. Se dejó reposar de 30 a 45 min. En tubos de diálisis de 11 cm de longitud se colocaron 10 mL de la mezcla de muestra y solución de glucosa. Se cerraron ambos extremos se suspendieron verticalmente en 100 mL de agua destilada. Se colocaron las muestras a 37 °C en agitación constante por 4 h. Se tomaron alícuotas del dializado (exterior de la membrana) de 2 mL a los tiempos de

0, 10, 20, 30, 60, 120, 150, 180, 210 y 240 min. Se determinó el contenido de glucosa residual mediante el método de la glucosa oxidasa utilizando un kit SIGMA y se leyó la absorbancia a 500 nm. Las determinaciones se realizaron por triplicado. Un control del experimento se realizó sin la adición de muestra a la reacción.

Se calculó el índice de retardamiento de la difusión de la glucosa (IRDG) con la fórmula:

$$\text{IRDG} = 100 - \left[\frac{\text{contenido de glucosa en el dializado con la adición de la muestra de fibra}}{\text{contenido de glucosa en el dializado de la muestra control}} \times 100 \right]$$

(Adiotomre y col., 1990; Chau y col., 2004).

5.9 Inhibición de alfa amilasa *in vitro*

Se pesaron 40 g de almidón y se adicionaron a 900 mL de solución reguladora de fosfato a pH 6.0. Después se agitó a 65 °C por 30 min, el volumen total de la solución se llevó a 1 L para obtener una concentración de almidón de 4% (peso/volumen). El efecto de varios concentrados de fibra sobre la digestibilidad del almidón se determinó en función del tiempo en un sistema mezcla fibra-enzima-almidón. La mezcla de reacción contenía 0.2% de alfa amilasa y 1% de fibra en una solución de almidón al 4%. La mezcla se preparó combinando 0.25 g de fibra y 0.05 g de alfa amilasa en 25 mL de solución al 4% de almidón. La solución se mezcló a 37 °C por 1 h, 20 mL de NaOH 0.1 M se adicionaron y la solución se centrifugó a 2000 x g por 5 min. El contenido de glucosa en el sobrenadante se determinó usando un kit de ensayo de glucosa RANDOX. Un control del experimento se realizó sin la adición de fibra a la reacción.

5.10 Capacidad antioxidante

a. Ensayo ABTS. Se preparó una solución patrón mezclando 1:1 las siguientes soluciones de trabajo: ABTS 7 mM y persulfato de potasio 2.45 mM. Ambas soluciones se mezclaron y se dejaron reposar por 12 horas en oscuridad a temperatura ambiente. Luego la mezcla se diluyó tomando 1 mL al que se le

agregaron 60 mL de metanol absoluto en pequeñas cantidades hasta lograr una absorbancia de 0.706 ± 0.001 unidades a 734 nm.

Se prepararon las diluciones de los extractos por analizar y se procedió a realizar la reacción con 100 μ L de muestra y 100 μ L de solución con el radical la cual se agitó por 5 segundos en oscuridad. Luego se realizaron las lecturas a los 7 min a una longitud de onda de 734 nm. Se leyó un control con 100 μ L del radical y 100 μ L de metanol (Kuskoski y col., 2005).

El porcentaje de inhibición se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = \left[\frac{\text{Abs control} - \text{Abs muestra}}{\text{Abs control}} \right] * 100$$

b. Ensayo DPPH. Se preparó una solución de DPPH⁺ 125 μ L metanol/agua (80:20 v/v). La solución se preparó en el momento de usarse. Se prepararon las diluciones de los extractos por analizar y se procedió a realizar la reacción con 20 μ L de muestra y 200 μ L de solución con el radical. Las muestras se dejaron reposar en oscuridad por una hora y se realizó la lectura a 520 nm en espectrofotómetro. Se leyó un control con 200 μ L del radical. El porcentaje de capacidad antioxidante (AOX) se calculó con la fórmula:

$$\% \text{ AOX} = \left[\frac{\text{Abs radical} - \text{Abs muestra}}{\text{Abs radical}} \right] * 100$$

5.11 Análisis estadístico

En cada experimento se hicieron mediciones o lecturas por triplicado para posteriormente realizar una comparación de medias con la prueba de Tukey y un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia $p < 0.05$ usando el programa JMP 10.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1 Análisis fisicoquímico y proximal

Este trabajo evaluó el potencial como ingrediente funcional y fuente de fibra dietaria antioxidante del subproducto obtenido en la elaboración de jugos de mango (*Mangifera indica* L.) y guayaba (*Psidium spp.*). Las muestras se trabajaron secas y en polvo y, en el caso del mango, se separó el hueso antes de pulverizar.

Los resultados del análisis fisicoquímico de las fibras de mango y de guayaba analizadas se muestran en el Cuadro 6.1. Se obtuvo un pH de 4.84 para la fibra de mango que es menor que el observado de 5.22 para la guayaba; estos valores se obtuvieron en una solución de muestra en agua al 1%. Villalba (2005) trabajó con frutos enteros y reporta un pH de 4.13 para guayaba dulce, de 4.39 para mango de azúcar (*Mangifera indica* L.) y 4.21 para mango de clase (no identificado por el autor); clasificando a estos frutos como de pH medio bajo (entre 4.09 y 6.13). Marquina (2008) trabajó con guayaba (*Psidium guajava* L.) y reporta un pH de 4.1 en cáscara y de 3.9 en casco.

Cuadro 6.1. Análisis fisicoquímico de los subproductos de mango y guayaba.

Ensayo	Mango	Guayaba
pH (muestra al 1 %)	4.84 ± 0.03	5.22 ± 0.06
Capacidad de absorción de agua (CAA) en mL agua retenida /g de fibra	3.31 ± 0.42	2.03 ± 0.21
Índice de solubilidad en agua (ISA) en %	16.79 ± 0.13	7.46 ± 0.41
Capacidad de absorción de aceite (CAa) en mL aceite retenido /g de fibra	9.8 ± 0.06	12.5 ± 0.21

Los valores se expresan como promedio (n=3) ± desviación estándar.

El pH tiene un efecto en la estabilidad de la emulsión que se forme con las harinas; a pHs más alcalinos se favorece la exposición de grupos hidrófobos

presentes en la matriz del material, Ramírez y Pacheco (2009) encontraron que la guayaba presentó las mejores propiedades emulsificantes comparada con fibras de piña y guanábana.

Se obtuvo una capacidad de absorción de agua (CAA) de 3.31 mL/g en la muestra de mango y de 2.03 mL/g en la muestra de guayaba. La capacidad de absorción en agua está relacionada con la cantidad máxima de agua absorbida que permanece unida a la muestra hidratada luego de aplicar una fuerza externa (centrifugación); en el caso de las fibras, de esta propiedad depende en gran medida el nivel máximo de incorporación de la FD a un producto. La capacidad que tiene la fibra dietaria para retener agua es fisiológicamente importante porque la cantidad de agua retenida por la fibra incrementa la viscosidad del contenido intestinal disminuyendo la velocidad de mezclado y la absorción de los nutrientes en el intestino delgado (Rosado, 1995; Thibault y Renard, 1991). Ramírez y Pacheco (2009) reportan valores de CAA para harinas de diversas frutas que fueron lavadas y secadas obteniendo valores más altos de 5.25 mL/g para guayaba, 4.58 mL/g para piña y 4.57 mL/g para guanábana. Las muestras de mango y guayaba de este estudio presentaron valores menores de CAA que los reportados en estudios en fuentes de bagazo donde se obtuvieron los siguientes valores en mL/g: 6.63 para zanahoria, 6.04 para remolacha, 5.75 para nopal (Zaragoza y col., 2001), 15.50 – 16.70 en cáscara de naranja (Chau y Huang, 2003), 10.11 para mango (Vergara y col., 2006), 4.50 en manzana, 3.50 en guisantes, 3.80 en zanahoria, 10.10 en remolacha y 7.11 para coco (Raghavendra y col., 2006). Aún así Pacheco y Rivas (1992) indican que una CAA de 3.00 para arriba es favorable para introducir un ingrediente en productos de panadería por lo cual no se descarta el potencial de la muestra de mango de este estudio para ese fin.

Se obtuvo una capacidad de absorción de aceite (CAa) de 9.8 mL/g en la muestra de mango y de 12.5 mL/g en la muestra de guayaba. Teóricamente las partículas con gran superficie presentan mayor capacidad para absorber y atrapar componentes de naturaleza aceitosa; la grasa queda atrapada en la superficie de la fibra principalmente por medios mecánicos. Se ha observado que las fibras insolubles presentan mayores valores de absorción de lípidos que las fibras solubles,

sirviendo como emulsificante. La densidad de carga y la naturaleza hidrofóbica de las partículas son factores importantes para evaluar la incorporación de una fibra al alimento (López y col., 1997). Con respecto a otras fibras dietéticas, los valores de CAa de las fibras del estudio son semejantes a los reportados para mango por Vergara y col., (2006) de 9.2 – 13.8 mL/g y, aunque Ramírez y Pacheco (2009) reportan que la muestra de guayaba de su estudio obtuvo los valores más altos de CAa como en el caso de este estudio, ellas reportan una CAa de 1.95 mL/g para guayaba; mucho menor que el encontrado en la muestra de este estudio. Raghavendra y col. (2006) reportan valores de CAa en mL/g de 1.30 para manzana, 1.00 para guisantes y 1.30 para trigo. La absorción de aceite es importante en la tecnología de alimentos, en productos congelados precocidos listos para freír, en galletas y en algunos platos a base de cereal, por lo cual se puede sugerir el uso de las harinas de frutas en este tipo de productos.

Cuadro 6.2. Análisis proximal de los subproductos de mango y guayaba.

Ensayo	Mango	Guayaba
Cenizas	6.44 ± 0.08	1.71 ± 0.19
Humedad	4.12 ± 0.06	6.48 ± 0.12
Lípidos	4.64 ± 0.23	9.64 ± 0.40
Proteína	4.91 ± 1.50	2.05 ± 0.70
FDT (Digestión Enzimática)	46.45 ± 0.18 ^a	69.24 ± 0.45 ^a
FDT (AOAC)	46.77 ± 0.39 ^a	77.59 ± 0.80 ^b
FS	8.66 ± 0.00	1.33 ± 0.00
FI	37.79 ± 0.75	67.91 ± 0.41

Los valores se expresan como promedio (n=3) ± desviación estándar. Superíndice diferente en cada columna significa diferencia estadística (Tukey, p<0.05).

FDT, fibra dietaria total, FS, fracción soluble, FI, fracción insoluble.

El índice de solubilidad en agua para el subproducto de mango encontrado fue de 16.79 % y para el de guayaba de 7.46 %. El Cuadro 6.2 muestra que el contenido de fibra cruda para el residuo de mango fue de 46.77 % y para el de guayaba de 77.59 %; siendo similar a lo reportado por Chávez-Zepeda y col., (2009) de 44.2% para subproducto de mango. El que el porcentaje de fibra cruda sea mayor en el subproducto de mango con respecto al encontrado en el subproducto de guayaba explica su menor índice de solubilidad en agua. Ramírez y Pacheco (2009) reportan los siguientes porcentajes de FDT y la proporción FI/FS correspondiente: piña 13.65 (6:1), guanábana 49.34 (5:1) y guayaba 65.64 (5:1).

El análisis proximal realizado al subproducto también se resume en el Cuadro 6.2; los porcentajes de cenizas y proteínas resultaron ser mayores para las muestras de mango (6.44 y 4.91 respectivamente) que los obtenidos para las muestras de guayaba (1.71 y 2.05 respectivamente). Los valores de cenizas se obtienen por incineración y reflejan el contenido de sustancias minerales del alimento con lo que se concluye que el subproducto del mango es además más rico en sustancias minerales que el de guayaba. García (2003) reporta un valor de 4.82 % de proteínas para residuo de mango criollo; debido a que la principal fuente de proteínas de un residuo fibroso son las glicoproteínas que están presentes en la pared celular primaria donde forman una red de microfibrillas con la celulosa (Carpita y Gibeaut, 1983) estos resultados hacen sentido por la naturaleza fibrosa del hueso en el subproducto de mango a diferencia de la semilla de guayaba.

En lo que se refiere a los porcentajes para humedad y lípidos se obtuvieron valores más altos para el subproducto de guayaba (6.48 y 9.64 respectivamente) comparado con el de mango (4.12 y 4.64 respectivamente), García (2003) reporta 1.98 % de lípidos en residuo de mango criollo.

En el análisis por digestión enzimática de los subproductos de mango y guayaba se obtuvieron valores similares que a los obtenidos por el método de la AOAC resultando porcentajes de fibra dietaria total de 46.45 % para el mango y 69.24 % para la guayaba. Se obtuvo además un 8.66 % de fibra soluble para mango y 1.33 % para la guayaba. Dado que se trabajó con muestras obtenidas directamente del canal de salida de la línea de procesado de la empresa, no

teniendo ningún tipo de control sobre las características del fruto original salvo por la especie; las diferencias observadas en los porcentajes de humedad y lípidos así como en el contenido de fibra se explican debido a que éstos dependen de la fuente, las condiciones de cultivo, el estado de madurez y el tratamiento recibido por la muestra durante la obtención del residuo fibroso (Cruz, 2002) y se espera podrían cambiar en muestreos futuros. Larrauri y col. (1996) reportan haber encontrado 28.1 % de FDT en cáscara de mango con una CAA de 11.4; Jiménez-Escrig y col. (2000) encontraron 48-49 % FDT en guayaba; Saura (1998) encontró 54.1-64.6 % en cáscara de uvas.

Así mismo, los porcentajes de fibra obtenidos pueden explicar la capacidad de absorción de aceite observada en las muestras ya que se ha demostrado que los concentrados con mayor cantidad de fibra dietaria insoluble presentan mayores valores de absorción de moléculas orgánicas que las fibras con mayor contenido de fibra dietaria soluble. Muestras con mayor concentración de fibra insoluble están relacionadas con reducción del riesgo del cáncer de colon y recto al aumentar el volumen de las heces y al aumentar su velocidad de eliminación porque mejora los movimientos intestinales. Por su parte, la fibra soluble ha estado asociada a favorecer la disminución de la absorción y el mayor aprovechamiento de la glucosa, colesterol y triglicéridos en el aparato digestivo, reduciendo así el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y diabetes (Cabré, 2004). En el intestino, por los resultados observados, la fibra de guayaba podría tener mayor capacidad de ligar sales biliares y colesterol, permitiendo su excreción por las heces (Villaruel y col., 2003); sin embargo, por los resultados observados en cuanto al análisis fisicoquímico, el subproducto de mango brinda mejor potencial para ser incorporado como ingrediente funcional en alimentos que requieran de hidratación y viscosidad.

El Cuadro 6.3 muestra los resultados del análisis de color para los subproductos de mango y de guayaba en un espacio CIELAB. Tanto el subproducto de mango como el de guayaba muestran valores cercanos de luminosidad L^* tendiendo al blanco, es decir, mayor claridad en ambos casos con 64.6 para el mango y 65.5 para la guayaba. En lo que respecta al parámetro a^* se observa que la muestra de guayaba tiene un valor mayor de 8.6 que indica un tono más rojizo que

la de mango con un valor de 4.4. El parámetro b^* también es mayor para la muestra de guayaba con un valor de 21.7 contra un valor de 16.0 para la de mango lo que indica que la muestra de guayaba es más amarilla que la de mango. Ya que el croma (C^*_{ab}) y hue (h_{ab}) son combinaciones de las coordenadas a^* y b^* , su comportamiento permite diferenciar más fácilmente el matiz (colorido) y el tono del color para cada fibra. Se observa que la muestra de guayaba tiene un valor mayor para el matiz (23.4) que la de mango (16.6), mientras que la muestra de mango presenta un resultado mayor para el tono (74.6 azul-verdoso) que la muestra de guayaba (68.4 amarillo-rojizo).

Cuadro 6.3. Análisis de color de los subproductos de mango y guayaba.

Parámetro	Mango	Guayaba
L^*	64.6 ± 0.01 ^a	65.5 ± 0.01 ^a
a^*	4.4 ± 0.01 ^b	8.6 ± 0.02 ^e
b^*	16.0 ± 0.01 ^c	21.7 ± 0.04 ^f
C^*	16.6 ± 0.01 ^c	23.4 ± 0.04 ^g
h^*	74.6 ± 0.04 ^d	68.4 ± 0.05 ^h

Los valores se expresan como promedio (n=3) ± desviación estándar. Superíndice diferente en cada columna o renglón significa diferencia estadística (Tukey, $p < 0.05$). L^* , claridad o luminosidad, a^* y b^* , cromaticidad, C^* y h^* representan el croma y el hue, ambos combinaciones de las coordenadas a^* y b^* .

El color que exhiben las frutas se atribuye a la presencia de pigmentos como carotenoides, antocianinas y clorofilas, entre otros, los cuales les confieren las tonalidades amarillas, anaranjadas, rojizas, violetas o verdes. Los carotenoides son los pigmentos naturales responsables de los colores amarillos, anaranjados y rojos en muchas frutas y vegetales, tales como mango, naranja, guayaba, tomate y zanahoria (Meléndez y col., 2007).

El Cuadro 6.4 muestra los valores obtenidos en la cuantificación de β -caroteno mediante espectrofotometría y HPLC con dos soluciones de extracción

diferentes y la Figura 6.1 muestra los cromatogramas obtenidos por HPLC. Se obtuvieron concentraciones de 1.25 – 1.75 mg/g de muestra de β caroteno en el subproducto de mango y de 0.39 – 1.06 mg/g de muestra para las muestras de subproducto de guayaba. Robles y col. (2007) reporta 6.8 mg/100g cuantificado en cubos de pulpa de mango en condiciones de almacenamiento y González (2010) reporta 3.7 mg/g a 11.9 mg/g para fruto de guayaba cuantificado por HPLC.

La concentración obtenida para beta caroteno en el subproducto fue similar con ambas metodologías, sin embargo, en la muestra de guayaba se obtuvo mayor concentración por espectrofotometría, esto puede deberse a que el pigmento sea más susceptible a la degradación en este ensayo químico.

Algunos factores que afectan la composición de carotenoides en frutas están relacionados con la zona de cultivo, la variedad, el estado de madurez, las condiciones de cosecha y de almacenamiento. Uno de los factores que afectan mas la composición de los carotenoides es el estado de madurez; generalmente las frutas inmaduras y maduras se diferencian por los carotenoides presentes y sus concentraciones, los cuales aumentan considerablemente con la maduración.

Cuadro 6.4. Cuantificación de β -caroteno en el subproducto de mango y de guayaba.

β -caroteno mg/g de muestra	Mango	Guayaba
Solución de extracción ¹ Acetona/Etanol/Hexano v/v/v (1:1:2)	1.75 ± 0.11 ^a	1.06 ± 0.12 ^b
Solución de extracción ² Hexano/Etil éter v/v (70:30)	1.25 ± 0.46 ^{ab}	0.39 ± 0.03 ^c

¹Cuantificación por espectrofotometría. ²Cuantificación por HPLC.
Los valores se expresan como promedio (n=3) ± desviación estándar.
Superíndice diferente significa diferencia estadística (Tukey, p<0.05).

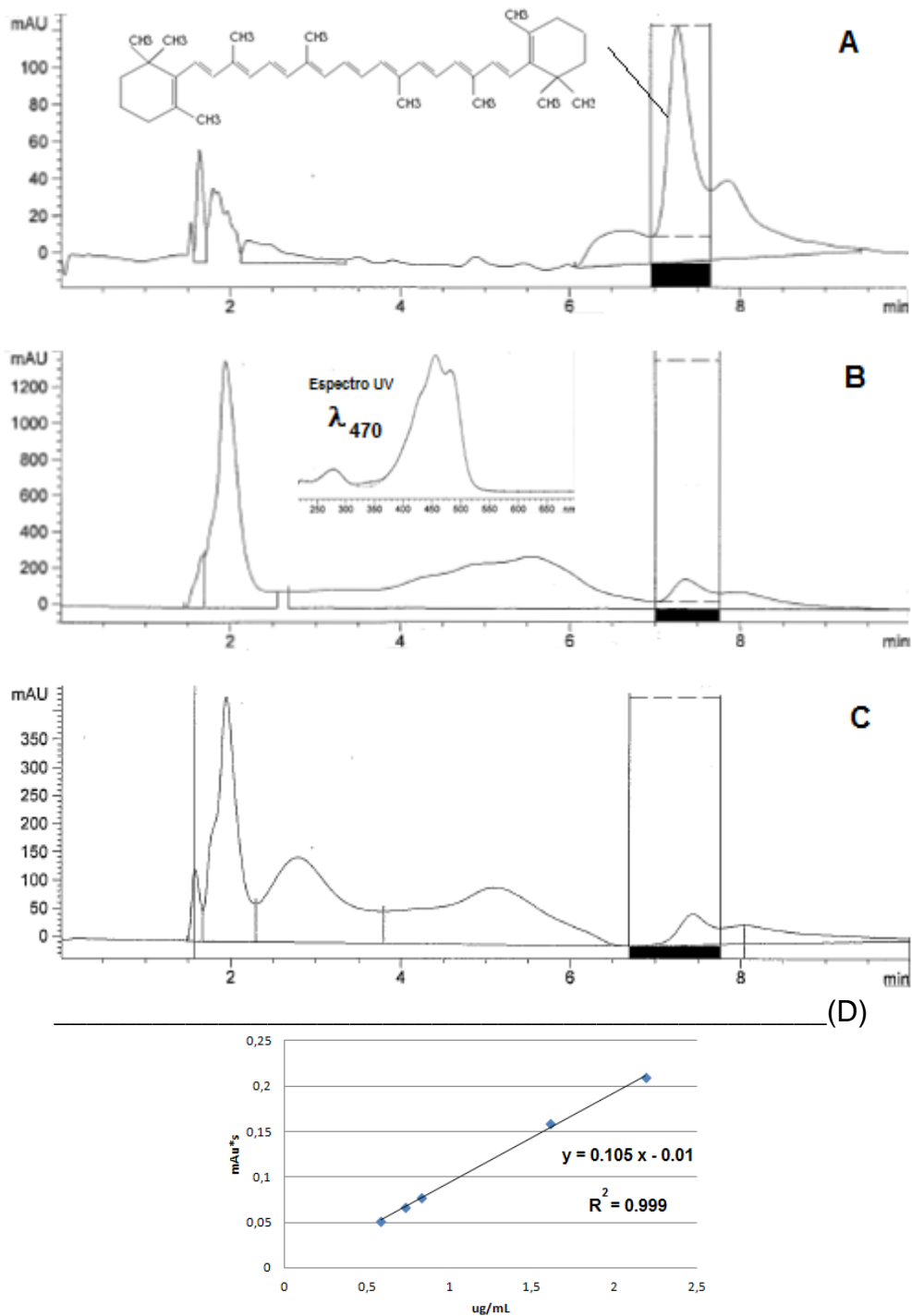


Figura 6.1. β -caroteno identificado y cuantificado por HPLC. Solución estándar de β -caroteno (A), muestra de subproducto de mango (B) y de guayaba (C) detectado a λ_{\max} 470 nm. Curva estándar usada para β -caroteno (D)

La solución de extracción fue Hexano:Éter etílico (70:30 v/v) con 10% BTH.

6.2 Análisis de compuestos polifenólicos

Los compuestos polifenólicos presentes en alimentos se extraen generalmente con disolventes acuoso-orgánicos. La extracción dependerá de la naturaleza química y del grado de polimerización de los propios compuestos, del método de extracción (polaridad de los solventes), del tamaño de partícula de la muestra y de las sustancias que pueden ejercer un efecto de interferencia. Además de los disolventes, también el tiempo de extracción es determinante en la extracción, se han reportado tiempos de extracción desde 1 minuto a 24 horas (Price y col., 1978; Cork y Krockengerg, 1991; Burns, 1971; Maxsón y Rooney, 1972).

En el caso de los resultados de este estudio se encontró que la mayor concentración de fenoles y flavonoides se obtuvo utilizando metanol acidificado, seguido de metanol/agua (50:50 v/v) y finalmente con acetona/agua (70:30 v/v), estos resultados sugieren que los PE son más afines al metanol. Así mismo, el subproducto de mango mostró valores mayores para polifenoles extraíbles que los extractos de guayaba sugiriendo mayor contenido de flavonoides y fenoles hidrolizables en este residuo (Cuadro 6.5)

La mayor parte de PE presentes en alimentos forma parte del grupo de los flavonoides (principalmente flavanoles, flavonoles, flavanonas y antiocianidinas). En los extractos de algunos alimentos (frutas, frutos secos y legumbres) se han determinados compuestos de alto peso molecular procedentes de la polimerización de flavanoles, llamadas proantocianidinas extraíbles (PAE) cuyo grado de polimerización habitualmente se encuentra entre 2 y 10 mayoritariamente. Por otro lado la condensación de algunos ácidos benzoicos (gálico o elágico) produce la formación de taninos hidrolizables extraíbles (galotaninos y elagitaninos dependiendo si proceden de la condensación de gálico o elágico respectivamente) (Pérez-Jiménez, 2005).

Cuadro 6.5. Concentración de compuestos fenólicos y flavonoides en los extractos acuoso-orgánicos de las muestras de subproducto de mango y de guayaba.

Extracto	Mango		Guayaba	
	Fenoles (mg eq. AG/g)	Flavonoides (mg eq. Rutina/g)	Fenoles (mg eq. AG/g)	Flavonoides (mg eq. Rutina/g)
Polifenoles Extraíbles				
Extracto 1	256.2 ± 32.9 ^{aa}	41.2 ± 5.9 ^{ab}	19.4 ± 5.5 ^{bc}	23.4 ± 5.8 ^{ad}
Extracto 2 (A+B)	120.76 ± 13.9 ^{da}	15.1 ± 1.9 ^{bb}	10.5 ± 2.6 ^{dc}	12.2 ± 3.2 ^{bc}
Sobrenadante A	191.39 ± 42.6 ^{ea}	36.5 ± 25.5 ^{cb}	18.7 ± 9.4 ^{ec}	18.4 ± 6.3 ^{cc}
Sobrenadante B	45.27 ± 14.7 ^{da}	16.6 ± 3.0 ^{bb}	7.7 ± 3.2 ^{dc}	14.3 ± 6.0 ^{bb}

Los valores se expresan como promedio (n=3) ± desviación estándar. Primer superíndice diferente en cada columna significa diferencia estadística (Tukey, p<0.05). Segundo superíndice diferente en cada renglón significa diferencia estadística (Tukey, p<0.05). AG: ácido gálico. Extracto 1 (metanol absoluto con HCl 2%), Extracto 2 (metanol/agua 50:50 v/v y después acetona/agua 70:30 v/v), Sobrenadante A del Extracto 2 (metanol/agua 50:50 v/v), Sobrenadante B del extracto 2 (acetona/agua 70:30 v/v).

Las metodologías anteriormente mencionadas son usualmente utilizadas para la cuantificación de compuestos polifenólicos presentes en extractos acuoso-orgánicos de alimentos sólidos o bebidas. Sin embargo, la cuantificación de taninos condensados o proantocianidinas de alto peso molecular, principales compuestos polifenólicos presentes en los residuos de extracción, se ha basado hasta ahora en la utilización de hidrólisis ácidas. Así, los polifenoles hidrolizables extraídos por metanólisis son cuantificados por Folin-Ciocalteu a 750 nm utilizando curvas de calibrado de ácido gálico, cafeico o algún ácido benzoico similar dependiendo de la muestra (Hartzfeld y col., 2002) y las proantocianidinas de alto peso molecular son depolimerizadas por hidrólisis con butanol/HCl transformándose en cationes flavilium dando una solución coloreada (roja) que puede medirse a 554 nm utilizando estándares de flavanoles o antocianidinas conocidos (Porter y col., 1986).

Utilizando estas metodologías se analizaron las muestras de este estudio y los resultados se muestran en el Cuadro 6.6, con respecto a los taninos condensados la concentración es muy similar entre mango y guayaba, sin embargo, para taninos hidrolizables el mango presenta 14 veces más concentración.

Para corroborar estos resultados se realizó una cuantificación de los diferentes compuestos fenólicos utilizando cromatografía de líquidos, los extractos fueron analizados a diferentes longitudes de onda 260 nm, 280 nm y 320 nm. Estos resultados se muestran en las Figuras 6.2, 6.3, 6.4 y 6.5 y se resumen en el Cuadro 6.7.

Se observa que la concentración de ácido gálico, protocatecoico, siríngico y elágico, así como, catequina fue mayor en la muestra de mango que de guayaba y vainillina, benzoico, resveratrol y epicatequina fueron los componentes mayoritarios en las muestras de guayaba. Los resultados también permiten corroborar que para ambas muestras hay menor concentración de taninos hidrolizables comparado con los taninos condensados.

Cuadro 6.6. Concentración de polifenoles no extraíbles en los extractos acuoso-orgánicos del subproducto de mango y de guayaba.

Fruta	Extracto de la hidrólisis con butanol acidificado para taninos condensados	Extracto de la hidrólisis con metanol acidificado para taninos hidrolizables
	Absorbancia a 550 nm, pH=5.5±0.1	Concentración de metil galato en mg/g de muestra
Mango	0.630 ± 0.27	8.33 ± 0.70
Guayaba	0.691 ± 0.34	0.60 ± 0.66

Los valores se expresan como promedio (n=3) ± desviación estándar.

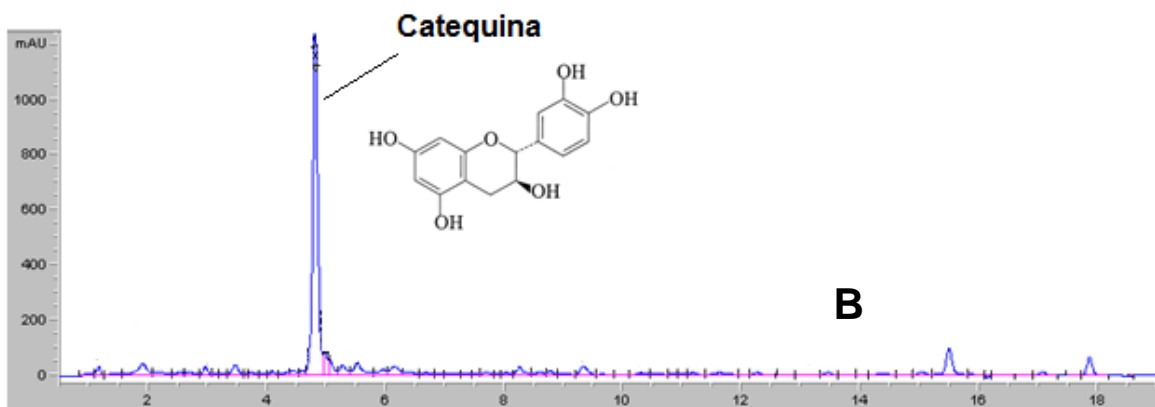
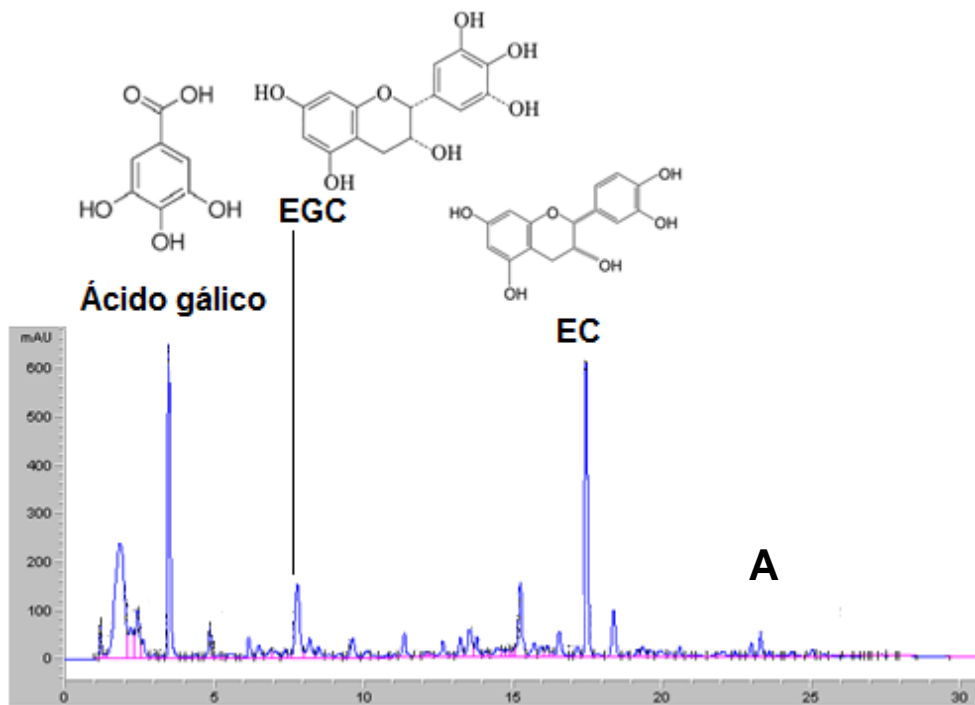


Figura 6.2. Compuestos fenólicos identificados en el extracto de polifenoles extraíbles de subproducto de mango (A) y subproducto de guayaba (B) detectados a λ_{max} 280 nm.

El solvente utilizado para la extracción fue metanol-agua (70:30 v/v) y se identificaron: ácido gálico (3.284), epicatequina (EGC) (7.82), epicatequina (EC) (18.47) y catequina (5.2).

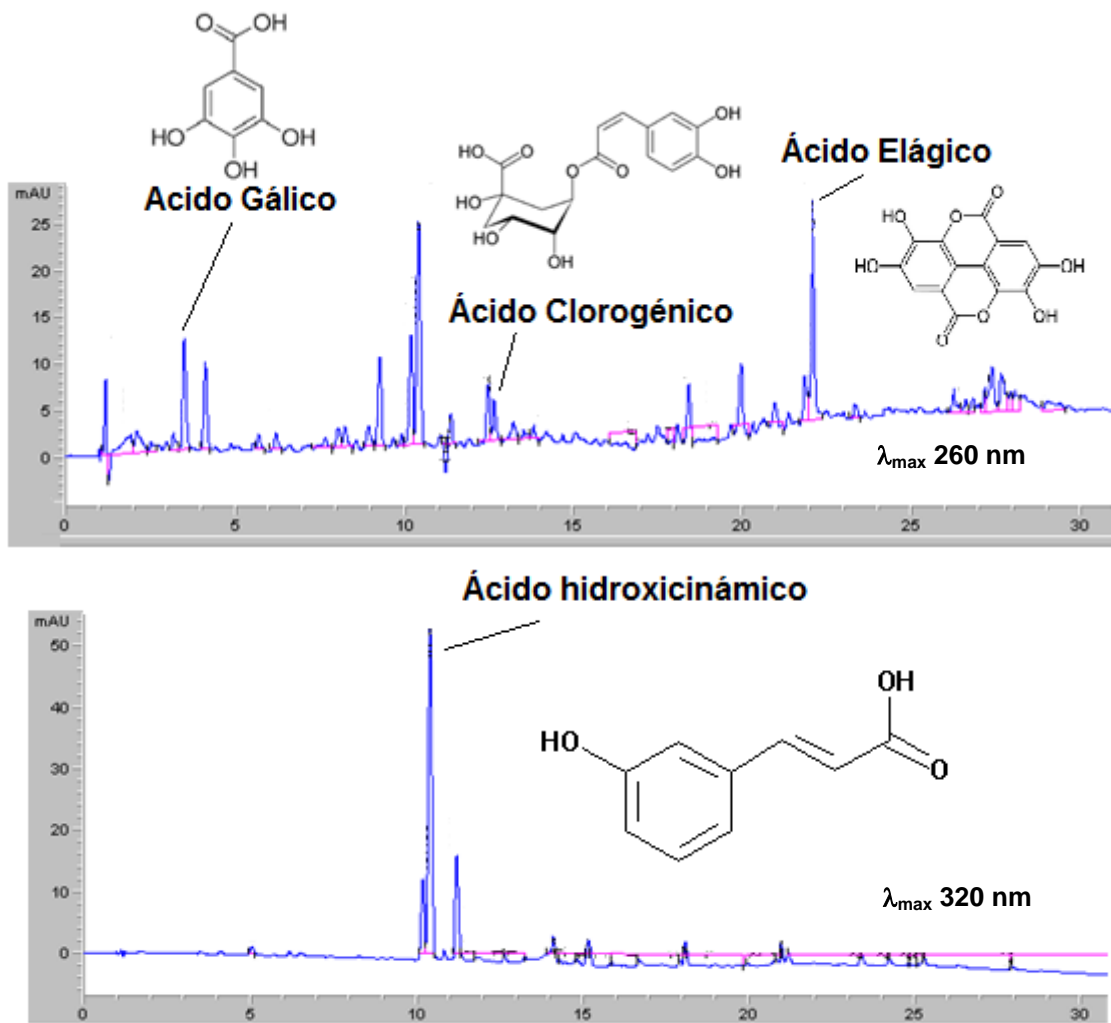


Figura 6.3. Compuestos fenólicos identificados en el extracto de taninos hidrolizables de guayaba detectados a λ_{\max} 260 nm (A) y 320 nm (B).

El solvente utilizado para la extracción fue metanol-agua (70:30 v/v) y se identificaron: ácido gálico (3.284), ácido clorogénico (12.8), ácido elágico (21.9) y a λ_{\max} 320 nm: ácido hidroxicinámico (10.5).

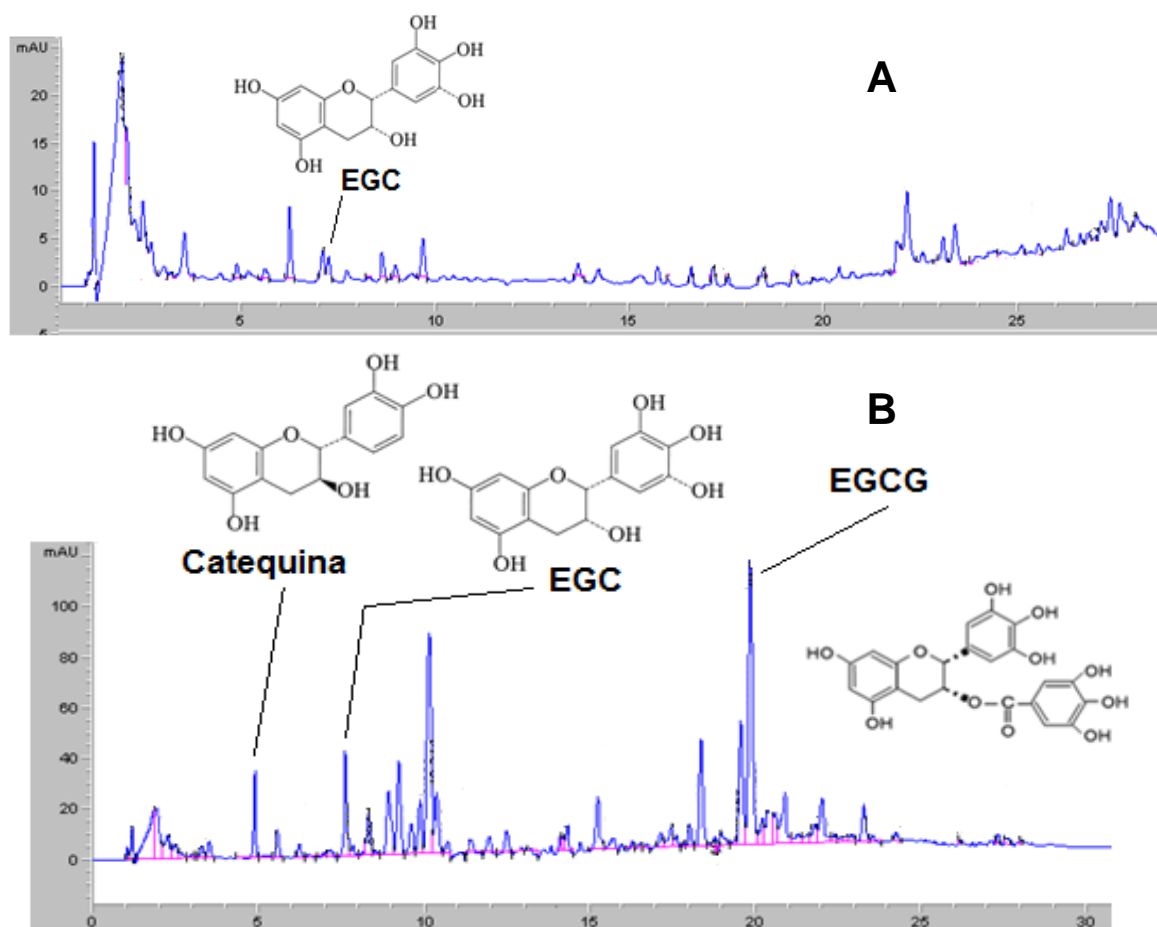


Figura 6.4. Compuestos fenólicos identificados en el extracto de taninos condensados de mango (A) y guayaba (B) detectados a λ_{\max} 260 nm.

El solvente utilizado para la extracción fue metanol-agua (70:30 v/v) y se identificaron; epicatequina (EGC) (7.82), catequina (5.2), epicatequina (EGC)(7.82), epigallocatequingalato (EGCG) (20.0).

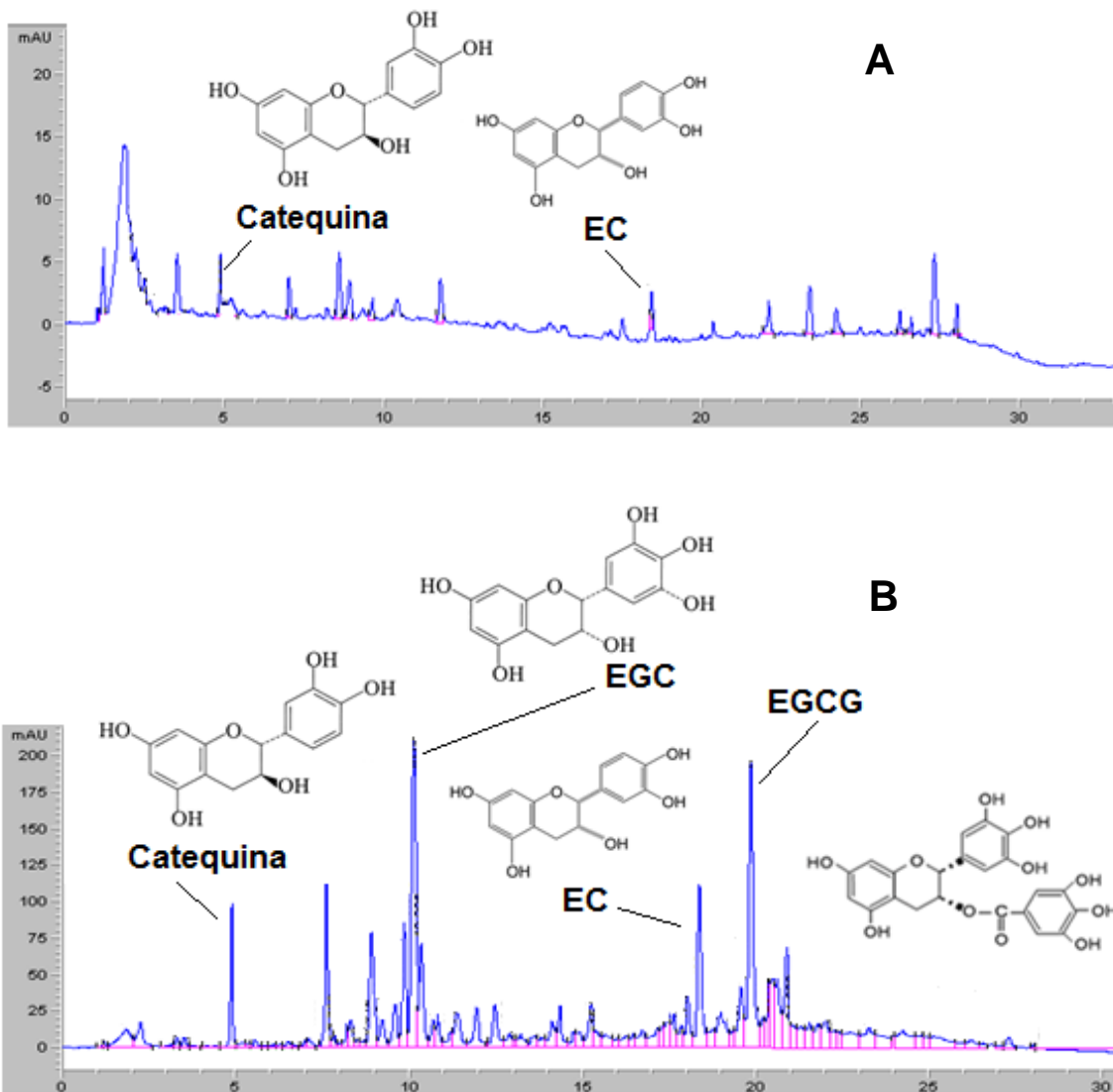


Figura 6.5. Compuestos fenólicos identificados en el extracto de taninos condensados de mango (A) y guayaba (B) detectados a λ_{\max} 280 nm.

El solvente utilizado para la extracción fue metanol-agua (70:30 v/v) y se identificaron: catequina (5.2), epigalocatequina (EGC) (10.31), epicatequina (EC) (18.47), epigalocatequinagalato (EGCG) (20.0).

Cuadro 6.7. Concentración de compuestos fenólicos identificados por HPLC en los extractos acuoso-orgánicos de subproducto de mango y de guayaba.

Compuesto bioactivo	Mango µg / g muestra			Guayaba µg / g muestra		
	PE (Extracto 2)	PNE (Extracto 3)	PNE (Extracto 4)	PE (Extracto 2)	PNE (Extracto 3)	PNE (Extracto 4)
Gálico	791.6 ± 11.2	Nd	184.7 ± 0.9	308.8 ± 18.5	115.4 ± 0.1	34.9 ± 0.7
Vanílico	Nd	Nd	183.6 ± 2.0	Nd	Nd	103.7 ± 1.0
Protocatecoico	1305.9 ± 21.4	Nd	Nd	354.0 ± 21.9	Nd	Nd
Siringico	1793.9 ± 12.0	Nd	180.7 ± 0.8	284.2 ± 6.1	Nd	258.0 ± 2.4
Catequina	Nd	40.9 ± 0.4	7.60 ± 0.2	Nd	8.00 ± 0.6	Nd
Epigallocate-quin galato (EGCG)	Nd	44.5 ± 0.3	278.4 ± 1.2	343.1 ± 34.2	58.4 ± 2.9	22.1 ± 0.2
Epicatequina (EGC)	Nd	Nd	451.7 ± 2.6	242.3 ± 3.3	Nd	1302.3 ± 2.0
Benzoico	Nd	Nd	98.2 ± 0.3	68.4 ± 4.9	211.0 ± 0.1	274.4 ± 1.8
Elágico	832.5 ± 31.9	Nd	Nd	128.0 ± 5.9	Nd	Nd
Vainillina	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	424.4 ± 3.9
Resveratrol	Nd	Nd	17.8 ± 0.3	Nd	171.6 ± 0.8	268.8 ± 1.4

Los valores se expresan como promedio (n=3) ± desviación estándar. Nd No detectado. PE = polifenoles extraíbles, PNE = polifenoles no extraíbles, Extracto 2 (metanol/agua 50:50 v/v y después acetona/agua 70:30 v/v), Extracto 3 (Hidrólisis en metanol acidificado para determinar Taninos hidrolizables), Extracto 4 (Hidrólisis en butanol acidificado para determinar Taninos condensados –proantocianidinas-).

Jiménez-Escrig y col. (2001) valoraron extractos de cáscara de guayaba y de pulpa de guayaba como potenciales fibras dietarias antioxidantes encontrando valores más altos de polifenoles totales (en mg eq. AG/g) que los encontrados en los extractos de este estudio; 58.7 para la cáscara y de 26.3 para la pulpa de guayaba. Por su parte, Vergara-Valencia y col. (2006) caracterizaron fibras de mango no maduro para valorar su posible aplicación como ingrediente en productos de panadería; estos autores reportan un valor mucho menor de polifenoles extraíbles de 16.14 mg/g con respecto a los encontrados en las muestras de este estudio.

Además de considerarse que las muestras de este estudio son residuos obtenidos después de un proceso de despulpado y lavado que ha recibido la fruta, las variaciones en el contenido total de polifenoles pueden deberse a distintos factores: diferencias en el potencial genético de cada cultivar en cuanto a la biosíntesis de polifenoles, madurez del fruto, estación del año, fertilizantes utilizados, tipo de suelo, condiciones de transporte y almacenamiento y cantidad de luz recibida por los frutos (Al-Farsi y col., 2007).

6.3 Análisis de capacidad antioxidante

Los extractos de polifenoles extraíbles (PE) usando como solvente de extracción metanol absoluto con ácido clorhídrico al 2% (E1) y el extracto con metanol/agua (50:50 v/v) y en seguida con acetona/agua (70:30 v/v) (E2) se usaron para evaluar la capacidad antioxidante de las muestras de subproducto de este estudio y los resultados se presentan en el Cuadro 6.8 encontrándose una mayor capacidad antioxidante para la guayaba que para el mango en ambos ensayos (ABTS y DPPH) y para ambos extractos (E1 y E2). El ensayo con DPPH muestra valores más altos que con ABTS; esto es un indicativo de la posible acción de compuestos fenólicos más hidrofílicos en los extractos. En relación con valores de capacidad antioxidante de otras frutas y vegetales se tiene que el encontrado por ABTS en la muestra de este estudio para guayaba (39.37 μM eq. Trolox / g) es menor que los reportados por Bensadón y col. (2010) para cladodios de nopal (52.37 y 57.55 μM eq. Trolox / g), mientras que los encontrados para mango (81.56, 87.45 y 88.05 μM eq. Trolox / g) son mayores que para guayaba, nopal y tuna verde (66.33 μM eq. Trolox / g) también reportados por Bensadón y col. (2010).

Se realizaron ensayos con distintas concentraciones de los extractos para determinar el IC_{50} obteniéndose valores más altos para las muestras de mango que se muestran en las Figuras 6.6 y 6.7. Esto indica que se requiere de mayor cantidad de esta muestra para obtener el equivalente al 50% de la inhibición del radical con respecto a lo obtenido mediante el uso del estándar Trolox; esta fibra presenta

menor potencial antioxidante a pesar de presentar mayor concentración de compuestos fenólicos lo cual es un indicativo de que estos compuestos pueden estar enlazados a componentes que les impiden el atrapamiento de radicales libres.

Debido a que la capacidad antioxidante se determinó en los extractos totales de las muestras de subproducto de mango y guayaba en estos resultados no se puede diferenciar la contribución particular de polifenoles u otros compuestos como ácido ascórbico o carotenos. Palafox-Carlos (2012) reporta que los ácidos fenólicos presentes en mango Ataulfo pueden interactuar de manera sinérgica o inhibitoria y que esta interacción afecta los valores de capacidad antioxidante en un extracto. Por otro lado González-Aguilar (2007) reporta que el contenido de β -caroteno y ácido ascórbico no tuvieron una influencia significativa en la capacidad antioxidante de mango fresco en rebanadas sometido a radiaciones UV-C.

Cuadro 6.8. Capacidad antioxidante (ABTS y DPPH) en extractos de polifenoles extraíbles del subproducto de mango y de guayaba.

	ABTS TEAC (μM eq. Trolox / g)	ABTS (IC₅₀)	DPPH TEAC (μM eq. Trolox / g)	DPPH (IC₅₀)
Extracto 1				
Mango	88.05 \pm 0.4 ^a	1.96	96.15 \pm 1.2 ^d	5.81
Guayaba	81.56 \pm 1.7 ^b	1.76	95.69 \pm 2.6 ^d	4.82
Extracto 2				
Mango	87.45 \pm 2.9 ^a	2.55	91.70 \pm 3.2 ^{ea}	4.94
Guayaba	39.37 \pm 3.6 ^c	2.13	78.54 \pm 0.3 ^f	3.58

Cada valor se expresa como el promedio (n=3) \pm la desviación estándar. Superíndice diferente significa diferencia estadística (Tukey, p<0.05).

Estudios realizados en residuos de otras frutas reportados por Djilas (2009) obtuvieron valores de IC₅₀ de 6.3 a 12.2 para especies de manzana y de 5.5 a 6.8 para residuos de uva la cual ha sido correlacionada con la presencia de catequina y epicatequina en semilla y con rutina y resveratrol en cáscara de los cuales el

extracto de guayaba mostró valores más altos que el de mango. Para el caso de los extractos de este estudio se detectaron mayores concentraciones de epigallocatequingalato y epicatequina en guayaba que en mango lo que puede deberse a que el primero contiene mayor proporción de semilla en el subproducto con respecto a la cantidad de pulpa o cáscara.

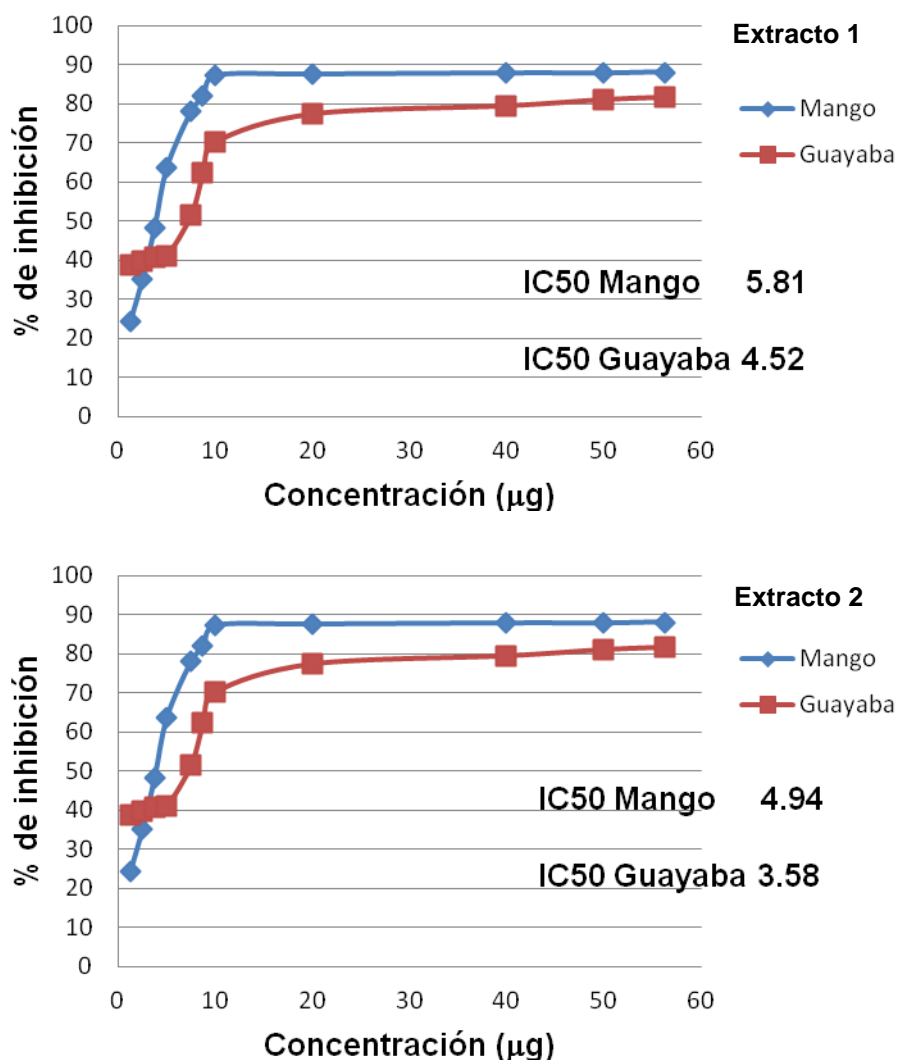


Figura 6.6. Capacidad antioxidante mediante el ensayo DPPH de diferentes extractos del subproducto de mango y guayaba. Extracto 1 (metanol absoluto con HCl 2%) y Extracto 2 (metanol/agua 50:50 v/v y después acetona/agua 70:30 v/v). IC₅₀ representa la concentración de muestra necesaria para lograr el 50% de inhibición.

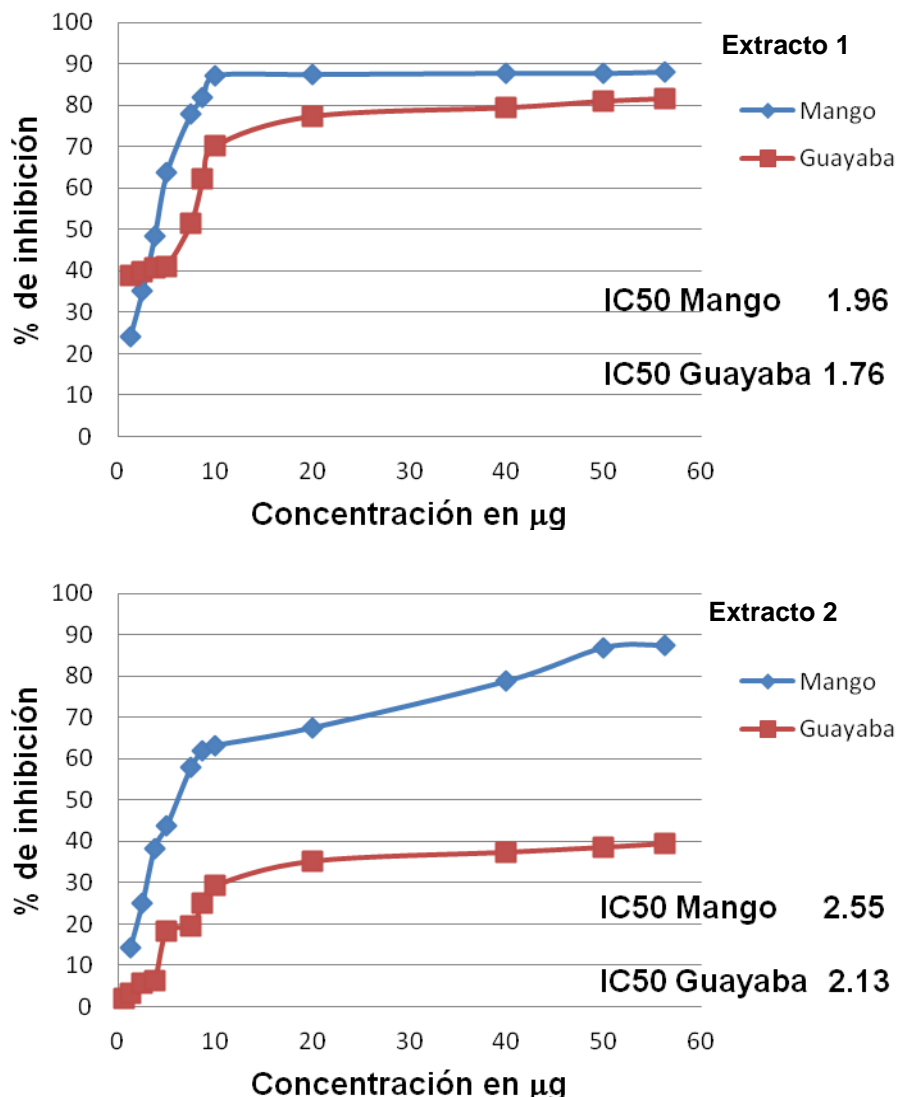


Figura 6.7. Capacidad antioxidante en ensayo ABTS en extractos diferentes. Extracto 1 (metanol absoluto con HCl 2%) y Extracto 2 (metanol/agua 50:50 v/v y después acetona/agua 70:30 v/v) de las muestras de mango y de guayaba. IC₅₀ representa la concentración de muestra para lograr el 50% de inhibición.

La diferencia en porcentajes de FI para las muestras de mango y guayaba (siendo en esta mayor) es un factor adicional que puede contribuir a las diferencias en capacidad antioxidante observadas debido a las distintas interacciones entre los polifenoles de alto peso molecular con la matriz de fibra de la muestra.

6.4 Índice de retardamiento de difusión de glucosa

Con el fin de determinar el valor funcional de las muestras de subproducto de este estudio como fibras hipoglucemiantes se realizó un ensayo *in vitro* para evaluar su capacidad de inhibir el paso de glucosa a través de una membrana en un sistema de diálisis. Este sistema permite evaluar la capacidad de la muestra de retardar la difusión de glucosa posprandial simulando el transporte a través de las paredes del intestino delgado; la Figura 6.8 muestra el comportamiento de las concentraciones de glucosa en el dializado en distintos tiempos observando que la muestra de subproducto de mango es la que reduce más la difusión de la glucosa en el medio observándose mayor porcentaje de glucosa en el dializado (20.21), mientras que la muestra de subproducto de guayaba no impide la difusión de glucosa mostrando un menor porcentaje de la misma en el dializado (7.85) con lo que se comporta de manera muy similar al control (sistema sin fibra). Se calcularon las velocidades máximas ($V_{m\acute{a}x}$) generando un modelo matemático polinomial de segundo grado para los datos experimentales quedando: $Y = ax^2 + bx + c$, donde Y es el contenido de glucosa (μmol); x es el tiempo (min); y a , b , c son los coeficientes de la ecuación. La velocidad de difusión es la derivada de la parábola (Y') en un tiempo dado y se calculó con la ecuación $Y' = 2ax + b$. Cuando x es cercano a cero $Y' = V_{m\acute{a}x} = b$.

El efecto de una fibra sobre la difusión de glucosa está estrechamente relacionado a la viscosidad que se genera en el medio por efecto de la fibra; factores como la capacidad de absorción de agua influyen en este comportamiento y fibras con mayor CAA y mayor porcentaje de fibra soluble contribuyen a aumentar la viscosidad del medio como es el caso de las muestras de subproducto de mango. Otro factor que afecta la difusión de glucosa en un medio es la capacidad de la fibra de ligarse a la misma, Ou (2001) reporta que este fenómeno ocurre a ciertas concentraciones de glucosa en el medio y los resultados observados para la muestra de guayaba pueden indicar que esta fibra no solamente no contribuye a generar un medio viscoso sino que además no muestra afinidad por la glucosa. Finalmente, el

tercer factor asociado a este fenómeno tiene que ver con la inhibición de la enzima α -amilasa que se discute en la siguiente sección.

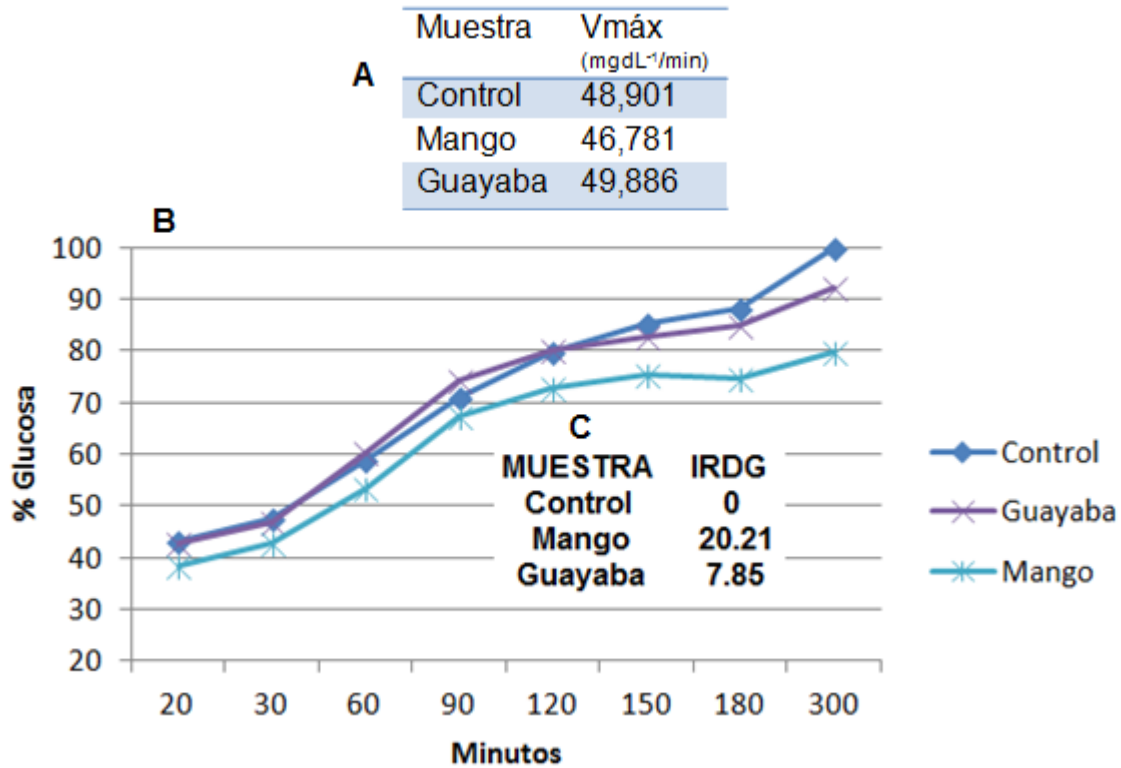


Figura 6.8. Sistema de diálisis del subproducto de mango y de guayaba: A) V_{máx}; B) Gráficos de porcentaje de glucosa en el dializado; C) Índice de retardamiento de difusión de glucosa. La muestra control consistió de una solución de glucosa sin subproducto, las muestras de estudio consistieron de solución de glucosa y subproducto de mango y de guayaba respectivamente.

6.5 Porcentaje de inhibición de la enzima α -amilasa

El almidón es el ingrediente predominante en los alimentos y se degrada a maltosa rápidamente en el tracto gastrointestinal por efecto de las enzimas salivales e intestinales; entre ellas la enzima alfa-amilasa. La maltosa se rompe en moléculas de glucosa las cuales se absorben a través de las paredes del intestino delgado y pasan a la sangre. En pacientes diabéticos la hiperglicemia y consecuentemente la hiperinsulinemia son efectos no deseados. Una estrategia para el control de la concentración de glucosa posprandial y por tanto para el control de la Diabetes Tipo 2 es la inhibición de las enzimas digestivas, entre ellas la α -amilasa, sin embargo, la excesiva inhibición por medicamentos conlleva a efectos colaterales como distensión abdominal, flatulencia y posible diarrea como resultado de una fermentación anormal de los carbohidratos no digeridos en el colon (Horri y col., 19987).

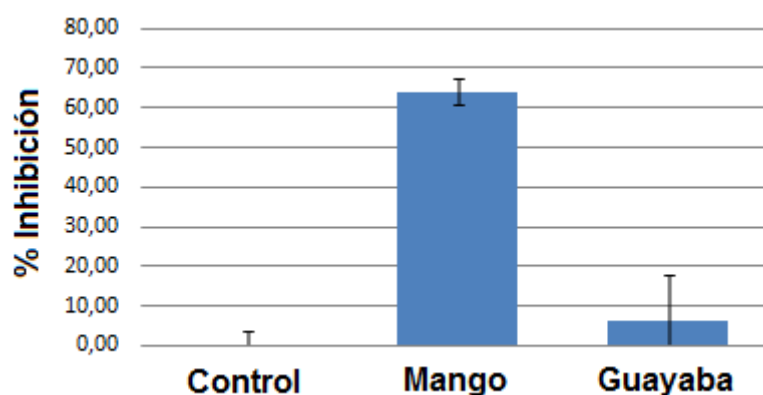


Figura 6.9. Porcentaje de inhibición de la enzima α amilasa en un sistema de diálisis. La muestra control consistió de solución de almidón y enzima sin subproducto, las muestras de estudio consistieron de solución de almidón con la enzima y subproducto de mango y de guayaba respectivamente.

Es así como el uso de inhibidores naturales con suave actividad inhibitoria en comparación con el uso de fármacos se vuelve una opción deseable contra la hiperglicemia posprandial con reducidos efectos colaterales (Kwon y col., 2007, Apostolidis y col., 2006).

El ensayo de inhibición de la enzima α -amilasa se realizó para evaluar la capacidad de las fibras del estudio para inhibir la acción de la enzima en el proceso digestivo de los alimentos. Se encontró que la muestra de subproducto de mango presenta un 64.06 % de inhibición de la acción de la enzima y que la muestra de subproducto de guayaba no disminuye la capacidad de dicha enzima (Figura 6.9).

El contenido de polifenoles en un extracto está asociado a la capacidad inhibitoria de las enzimas digestivas del mismo. Se ha reportado que las enzimas digestivas, entre ellas la α -amilasa sufren un efecto inhibitorio causado por taninos los cuales reducen la digestibilidad de las proteínas (Kumar, 2010). En el caso de las fibras de este estudio se encontró que la de mango presenta notablemente mayor cantidad de taninos (expresada en mg de metil galato, en Cuadro 6.6) que la de guayaba (8.33 contra 0.60 mg/g) lo que podría explicar la incapacidad de esta última de inhibir la acción de la enzima.

VII. CONCLUSIONES

- Las muestras de subproducto de mango presentaron mejores propiedades fisicoquímicas y mayor cantidad de fibra soluble.
- Respecto a los fitoquímicos, el mango presentó mayor concentración de beta caroteno, fenoles extraíbles, flavonoides y taninos hidrolizables, este resultado fue confirmado por HPLC.
- A pesar de la menor concentración de fitoquímicos totales en el subproducto de guayaba, esta presentó mayor capacidad antioxidante (ABTS y DPPH), por lo tanto, esto pudiera estar relacionado con su perfil de fenoles, siendo abundante en ácido benzoico, resveratrol, epicatequina y vainillina.
- El subproducto de mango presentó una mejor capacidad de atrapamiento de glucosa y de inhibición de la enzima α -amilasa *in vitro*, por lo tanto, podría disminuir los niveles de glucosa sanguínea.
- Los subproductos de mango y guayaba pueden ser considerados como una alternativa para ser utilizados como fibra antioxidante.

VIII. LITERATURA CITADA

- Adiotomre, J.; Eastwood, M. A.; Edwards, C. A.; Brydon, W. G. 1990. Dietary fiber: in vitro methods that anticipate nutrition and metabolic activity in human. *A. J. Clin. Nutr.* 52: 128-134.
- Al-Farsi, M. y col. 2007. Compositional and functional characteristics of dates, syrups and their by-productcs. *Food Chem.* 104:943-947.
- Amarowicz, R.; Pegg, R. B. 2006. Content of proanthocyanidins in selected plant as determined via n-butanol/HCl hydrolysis in a colorimetric assay or by HPLC. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 15(3): 319-322.
- Ames, B. 1995. An antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer, a hypothesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 78(11): 6858-6862.
- Anderson, R. A.; Conway, V. F.; Pfeifer, V. F.; Griffin, E.L. 1969. Gelatinization of corn grits by roll – and extrusion – cooking. *Cereal Science Today.* 4: 4-12.
- AOAC International. 1999. Official Methods of Analysis of AOAC International. Association of official agriculture chemists.
- Arranz, S. 2010. Compuestos polifenólicos (extraíbles y no extraíbles) en alimentos de la dieta española: metodología para su determinación e identificación. ISBN: 978-84.
- Antolovich, M.; Prenzler, P.; Robards, K.; Ryan, D. 2000. Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruits. *Analyst.* 125(5): 989-1009.
- Apostolidis, E. y col. 2006. Potential of select yogurts for Diabetes and Hypertension Management. *J. of Food Bioq.* 30:699-717.
- Barragán, H. 2008. Aplicaciones biotecnológicas de microorganismos halófilos. *Rev. Sist. Amb.* 2(1): 44-50.
- Belitz, H.; Grosh, W. Química de los Alimentos. Acribia. Zaragoza. p. 659-669.
- Bennami, N.; Fadhil, H.; Cherrah, Y.; Bouayadi, F. E.; Kohel, L.; Marquie, G. 2000. Therapeutic effect *Olea europea* var. Oleaster leaves on lipid and carbohydrate metabolism in obese and prediabetic sand rats (*Psammomys obesus*). *Ann. Pharm. Fr.* 58: 4271-4277.

- Bensadón, S. y col. 2010. By-Products of *Opuntia ficus-indica* as a Source of Antioxidant Dietary Fiber. *Plant Foods Hum. Nutr.* 65:210-216.
- Boots, A. W.; Drent, M.; Boer, V. C.; Bast, A.; Haenen, G. R. 2011. Quercetin reduces markers of oxidative stress and inflammation in sarcoidosis. *Clin. Nutr.* 30(4): 506-12.
- Burns, R. E. 1971. Methods for estimation of tannin in grain sorghum. *Agronomy Journal.* 63: 511-512.
- Cabré, E. 2004. Fiber supplementation of General formula diets: A look to the evidence. *Clin. Nutr. Suppl.* 1: 63-71.
- Carpita, N.; Gibeaut, D.M. 1993. Structural models of primary cell walls of flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *Plant Journal.* 3: 1-30
- Cerdá, B.; Periago, P.; Espín, J. C.; Barberán, F. A. 2005. Identification of urolithin A as a metabolite produced by human colon microflora from ellagic acid and related compounds. *J. of Agric. and Food Chem.* 53(14): 5571-5576.
- Chau, C. F.; Chen, C. H.; Lin, C. Y. 2004. Insoluble fiber-rich fractions derived from *Averrhoa carambola*: hypoglycemic effects determined by in vitro methods. *Food Sci. and Technol.* 37: 331-335.
- Chau, C. y Huang, Y. 2003. Comparison of the chemical composition and physicochemical properties of different fibers prepared from the peel of *Citrus sinensis* L. cv. Liucheng. *J. Agric. Food Chem.* 51: 2615-2618.
- Chávez-Zepeda. L. P. y col. 2009. Utilización de subproductos agroindustriales como Fuente de fibra para productos cárnicos. *NACAMEH.* 3(2): 71-82.
- Córdoba-Villalobos, J. A. 2009. Sobrepeso y obesidad, problemas de salud pública en México. *Cirugía y Cirujanos.* 77(6): 421-422.
- Cork, S. J.; Krockenberger, A. K. 1991. Methods and pitfalls of extracting condensed tannins and other phenolics from plants: Insights from investigations on *Eucalyptus* leaves. *J. of Chem. Ecol.* 17(1): 123-134.
- Cruz, M. 2002. Caracterización fisicoquímica, fisiológica y funcional de residuos fibrosos de cáscara de maracuyá (*Pasiflora edulis*). México. Facultad de Ingeniería Química. Universidad Autónoma de Yucatán. p.156.

- D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., Masella, R. 2007. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist Super Sanità.* 4:348-361.
- Djilas, S. 2009. By-products of fruit processing as a source of phytochemicals. *Chem. Ind. & Chem. Eng. Qrt.* 15(4) 191-202.
- Dobroslawa, B.; Kasimsetty, S. G.; Khan, S.I.; Daneel, F. 2009. Urolithins, intestinal microbial metabolites of pomegranate-ellagitannins, exhibit potent antioxidant activity in a cell-based assay. *J. of Agric. and Food Chem.* 57(21): 10181-10186.
- Fennema, O. 1993. Química de los alimentos. Acribia, Zaragoza, España. p. 582.
- FMD. Federación Mexicana de Diabetes. Consultada el 22-06-2011. Disponible en: <http://www.fmdiabetes.org>.
- Giovannucci, E. 2002. Modifiable risk factors for colon cancer. *Gastroenterol Clin. North Am.* 31: 925–43.
- González-Aguilar, G.A., y col. 2007. Irradiación (UV-C) de mango fresco cortado y su efecto en la capacidad antioxidante. Disponible en: <http://www.horticom.com/pd/imagenes/65/983/65983.pdf>
- González, I. 2010. Caracterización química del color de diferentes variedades de guayaba (*Psidium guajava* L.) colombiana. Universidad Nacional de Colombia. p. 16.
- Goñi, I.; Diaz, M. E.; Pérez, J.; Saura, F. D. 2009. Towards an updated methodology for measurement of dietary fiber including associated polyphenols in food and beverages. *Food Res. Int.* 42: 840-846.
- Gross, J. 1987. Pigments in fruits. Academic Press, London. p. 303.
- Hassan, F. A.; Ismail, A.; Abdulhamid, A.; Azlan, A. 2011. Identification and Quantification of Phenolic Compounds in Bambang (Mangifera pajang Kort.) Peels and Their Free Radical Scavenging Activity. *J. Agric. Food Chem.* 59: 9102–9111.
- Halliwell, B.; Whiteman, M. 2004. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture. *Br. J. Pharmacol.* 142: 231-255.

- Hartzfeld, P. W.; Forkner, R.; Hunter, M. D.; Hagerman, A. E. 2002. Determination of hydrolyzable tannins (gallotannins and ellagitannins) after reaction with potassium iodate. *J. of Agr. and Food Chem.* 50(7): 1785-1790.
- Holst, B.; Williamson, G. 2008. Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. *Current opinion in biotechnology.* 19(2): 73-82.
- Jiménez-Escrig, A., y Sánchez-Muñiz, F. J. 2000. Dietary fibre from edible seaweeds: chemical structure, physicochemical properties and effects on cholesterol metabolism. *Nut. Resch.* 20:585-598.
- Kim, H.; Kim, O.; Sung, M. 2003. Effects of phenol-depleted and phenol-rich diets on blood markers of oxidative stress, and urinary excretion of quercetin and kaempferol in healthy volunteers. *Journal of the American College of Nutrition.* 22(3): 217-223.
- Kumar, D. S. 2010. Inhibitory effects of ethanolic extract of *Piper trioicum* on amylase, lipase and α -glucosidase. *Der Pharmacia Lettre.* 2(1): 237-244.
- Kuskoski, E., y col. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar capacidad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, ISSN 0101-2061.
- Kritchevsky, D. 1997. Dietary Fiber in Health and Disease. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, Plenum Press. Volumen 427.
- Kwon, Y. E., y col. 2007. Evaluation of pepper (*Capsicum Annum*) for management of diabetes and hypertension. *J. of Food Bioq.* 31:370-385.
- Lafrance, L.; Raabasa, R.; Poisson, D.; Ducros, F.; Chiasson, J. L. 1988. Effects of different glycemic index foods and dietary fiber intake on glycemic control in type 1 diabetic patients on intensive insulin therapy. *Diabetes Med.* 15: 972-978.
- Larrauri, J. A.; Cerezal, P.; Batista, A. R.; López, B. A. 1994. Caracterización de residuos de tomate, pimiento y guayaba. *Alimentaria.* 94: 81-85.
- Larrauri, J. A., y col. 1996. Mango peels as a new tropical fibre: preparation and characterization. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 29:729-733.

- López, R. J.; Martínez, A. B.; Luque A.; Pons, J. A.; Vargas A.; Iglesias, J. R.; Hernández M.; Villegas J. A. 2008. Efecto de la ingesta de un preparado lácteo con fibra dietética sobre el estreñimiento crónico primario idiopático. *Nutrición Hospitalaria*. 23(1): 12-19.
- Manach, C.; Donovan, J. L., 2004. Pharmacokinetics and metabolism of dietary flavonoids in humans. *Free Radical Research*. 38(8), 771-785.
- Martínez, H. E.; Corte, L. Y.; Ortiz, R. 2008. Efecto del consumo de la fibra dietética en la expresión cuantitativa del receptor de butirato GPR43 en colon de ratas. *Nutrición Hospitalaria*. 26: 1052-1058.
- Marquina, V.; Araujo, L.; Ruiz, J.; Rodríguez, A. 2008. Composición química y capacidad antioxidante en fruta, pulpa y mermelada de guayaba (*Psidium guajava* L.). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición, ALAN*. 58(1): 1-10.
- Marrugat, J., Covas, M.I., Fito, M., Schroder, H., Miro-Casas, E., Gimeno, E., Lopez-Sabater, M.C., de la Torre, R., Farre, M., 2004. Effects of differing phenolic content in dietary olive oils on lipids and LDL oxidation - a randomized controlled trial. *Eur J Nutr*. 43:140-7.
- Maxsón, E. D.; Rooney, L. W. 1972. Evaluation of methods for tannin Analysis in Sorghum Grain. *Cereal Chemistry*. 49: 719-729.
- Meléndez, A. J.; Vicario, I. M.; Heredia, F. J. 2007. Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición, ALAN*. 57(2).
- Ou, S.; Kwok, K. C.; Li, Y.; Fu, L. 2001. In Vitro Study of Possible Role of Dietary Fiber in Lowering Postprandial Serum Glucose. *J. of Agri. and Food Chem*. 49(2): 1026-1029.
- Pacheco, E., y Rivas, N. 1992. Efecto de la hidrólisis con tripsina y pepsina sobre las propiedades funcionales de la harina de ajonjolí. *Rev. Fac. Agron. (Maracay)*. 18: 107-117.
- Palafox-Carlos, H., y col. 2012. Antioxidant Interactions between Major Phenolic Compounds Found in 'Ataulfo' Mango Pulp: Chlorogenic, Gallic, Protocatechuic and Vanillic Acids. *Molecules*. 17:12657-12664.

- Pérez-Jiménez, J., Lluís-Torres, J. 2011. Analysis of Nonextractable Phenolic Compounds in Foods: The current state of the art. *J. of Agri. And Food Chem.* 59:12713-12724.
- Perez, J.; Saura, F. 2005. Literature data may underestimate the actual antioxidant capacity of cereals. *J. of Agric. and Food Chem.* 53(12): 5036-5040.
- Porter, L. J.; Hrstich, L. N.; Chan, B. G. 1986. The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochem.* 25: 223-30.
- Price, M. L.; Van, S.; Butler, L.G. 1978. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *Agric. Food Chem.* 26(5): 1214-1218.
- Prosky, L.; Asp, N. G.; Scheweizer, T.; Furda, I.; Devries, J. W. 1998. Determination of Insoluble, Soluble, and Total Dietary Fiber in Food and Products: Interlaboratory study. *J. Assoc. Anal. Chem.* 71: 1018-23.
- Raghavendra S., y col. 2006. Grinding characteristics and hydration properties of coconut residue: A source od dietary fiber. *J. Food Eng.* 72: 281-286.
- Ramamurthy, M. S.; Maiti, B.; Thomas, P.; Nair, M. P. 1992. High -Performance Liquid Chromatography Determination of Phenolic Acidsin Potato Tubers (*solanum tuberosum*) during Wound Healing. *J. Agric. Food Chem.* 40: 569-572.
- Ramírez, N. 2008. Optimización del proceso de elaboración de pulpa de tomate de árbol (*Solanum betaceum Cav*), maximizando la retención de ácido ascórbico. Ecuador. Escuela de Ingeniería en Industrias Agropecuarias. Universidad Técnica Particular de Loja. [Tesis previa a la obtención de título de ingeniería en Industrias Agropecuarias]. p.119.
- Ramírez, A. y Pacheco, E., 2009. Propiedades funcionales de harinas altas en fibra dietética obtenidas de piña, guayaba y guanábana. *Interciencia.* 34(4): 293-298.
- Rechner, A. R.; Smith, M. A.; Kuhnle, G.; Gibson, G. R.; Debnam, E. S.; Srai, S. K.; Moore, K. P.; Rice, C. A. 2004. Colonic metabolism of dietary polyphenols: Influence of structure on microbial fermentation products. *Free Radical Biology and Medicine.* 36(2): 212-225.

- Rosado, J.; Díaz, M. 1995. Propiedades fisicoquímicas relacionadas con función gastrointestinal de seis fuentes de fibra dietética. *Rev. Invest. Clin.* 47(4): 283-289.
- Robles, M.; Gorinstein, S.; Belloso, O.; Astiazaran, H.; Gonzalez, G.; Cruz, R. 2007. Frutos tropicales mínimamente procesados: potencial antioxidante y su impacto en la salud. *Interciencia.* 32(4): 227-232.
- Rodríguez-Amaya, D. B. 2001. A Guide to Carotenoid Analysis in Foods. ILSI PRESS International Life Sciences Institute. United States of America. 5-6.
- Sanjinez, E. J.; Cunha, R. L.; Menegalli, F. C.; Hubinger, M. D. 2005. Evaluation of total carotenoids and ascorbic acid in osmotic pretreated guavas during convective drying. *Italian J. of Food Sci.* 17(3): 305-314.
- Sathe, S. K.; Salunkhe, D. K. 1981. Isolation, partial characterization and modification of the great northern bean (*Phaseolus vulgaris*) starch. *J. of Food Sci.* 46(4): 617-621.
- Saura, F. 1998. Antioxidant dietary fiber product: A new concept and a potential food ingredient. *J. of Agric. and Food Chem.* 46:4303-4306.
- Saura, F. 2011. Dietary Fiber as a Carrier of Dietary Antioxidants: An Essential Physiological Function. *J. of Agric. and Food Chem.* 59:43-49.
- Saura, F.; Serrano, J.; Goñi, I. 2007. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chemistry.* 101: 492-501.
- Secretaría de Salud. Consultada el 12-07-2011. Disponible en: <http://portal.salud.gob.mx/>.
- Singleton, V. L.; Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticulture.* 16: 144-158.
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Remesy, C., Jimenez, L. 2005. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit. Rev. Food Sci Nutr.* 45:287-306
- Schneeman, B. O. 1986. Physical and chemical properties, methods of analysis, and physiological effects. *Food Technol.* 2:104-110.

- Shahidi, F., Naczki, M., Pegg, R. B., & Synowiecki, J. (2004). Chemical composition and nutritional value of processing discards of cod (*Gadus morhua*). *Food Chemistry*, 42(2), 145-151.
- Thibault, J. F.; Renard, C. M. 1991. Composition and physico-chemical properties of apple fibers from fresh fruits and industrial products. *Lebensmittel-Wissenschaft Technol.* 24(6): 525-527.
- Tsang, C.; Auger, C.; Mullen, W.; Bornet, A.; Rouanet, J. M.; Crozier, A.; Teissere, P. L. 2005. The absorption, metabolism and excretion of flavan-3-ols and procyanidins following the ingestion of a grape seed extract by rats. *British Journal of Nutrition.* 94(2): 170-181.
- Vergara, N., y col. 2006. Fibre concentrate from mango fruit: Characterization, associated antioxidant capacity and application as a bakery product ingredient. *LTW-Food Sci. Technol.* 40: 722-729.
- Villalba, M.; Yepes, I. M.; Arrázola, I. G. 2006. Caracterización fisicoquímica de frutas de la zona del Sinu para su agroindustrialización. *Temas Agrarios.* 11(1): 15-23.
- Villarreal, M.; Acevedo, C.; Yáñez, E.; Biolley, E. 2003. Propiedades funcionales de la fibra del musgo *Sphagnum magellanicum* y su utilización en la formulación de productos de panadería. *Arch. Lat. Nutr.* 53: 1-15.
- Wang, C. J.; Wang, J. M.; Lin, W. L.; Chu, C. Y.; Chou, F. P.; Tseng, T. H. 2000. Protective effect of Hibiscus anthocyanins against tert-butyl hydroperoxide-induced hepatic toxicity in rats. *Food Chem. Toxicol.* 38: 411-416.
- Willem, J.; Jones, J.; MacClearly, B.; Topping, D. 2010. Dietary Fibre: New Frontiers for Food and Health. Wageningen Academic Publishers: Wageningen. p.:25-28.
- Yepes, S. M.; Montoya, L. J.; Orozco, F. 2008. Valorización de residuos agroindustriales-frutas en Medellín y el sur del valle del Aburrá, Colombia. *Rev. Fac. Nac. de Agron.* 61(1): 4422-4431.
- Zaragoza, M., y col. 2001. Propiedades funcionales y metodología para su evaluación en fibra dietética. En: *Fibra dietética en Iberoamérica: tecnología y*

salud: obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicaciones en alimentos. Capítulo 14. Varela. Sao Paulo. Brasil. p.: 195-209.