



# UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

*La Universidad Católica de Loja*

ÁREA BIOLÓGICA

TÍTULO DE BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

**Análisis de la actividad antioxidante de subproductos de naranja  
(*Citrus sinensis* L.) antes y después de la digestión gastrointestinal *in vitro*.**

TRABAJO DE TITULACIÓN

AUTOR: Muñoz, Orlando David

DIRECTOR: Figueroa Hurtado, Jorge Geovanny, Mg, Sc.

LOJA-ECUADOR

2016



*Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NY-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>*

Septiembre, 2016

## APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Mg. Sc.

Jorge Geovanny Figueroa Hurtado

DOCENTE DE TITULACIÓN

De mi consideración:

El presente trabajo de titulación: *“Análisis de la actividad antioxidante de subproductos de naranja (Citrus sinensis L.), antes y después de la digestión gastrointestinal in vitro.”* realizado por Muñoz Orlando David, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, y cumple con los requisitos establecidos en las normas generales para la graduación en la Universidad Técnica Particular de Loja por cuanto se aprueba la presentación del mismo.

Loja, Enero del 2016.

f).....

Mg. Sc. Jorge Geovanny Figueroa Hurtado

C. I: .....

## DECLARACIÓN DE AUTORIA Y CESIÓN DE DERECHOS

“Yo Muñoz Orlando David declaro ser autor del presente trabajo de titulación: Análisis de la actividad antioxidante de subproductos de naranja (*Citrus sinensis* L.), antes y después de la digestión gastrointestinal *in vitro* de la Titulación de Bioquímica y Farmacia, siendo Mg. Sc. Jorge Geovanny Figueroa Hurtado director del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 88 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: “Forman parte del patrimonio Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”.

Loja, Enero del 2016

F: .....

Orlando David Muñoz

C. I: 1127208446

## **DEDICATORIA**

Primeramente a Dios por guiarme, brindarme la fuerza y voluntad para la culminación de este trabajo.

A mi madre por el sacrificio y el apoyo en los momentos difíciles en el trascurso de mi vida.

## **AGRADECIMIENTO**

Primeramente agradezco a Dios por permitirme cumplir una de mis metas trazadas en mi vida.

Agradezco a la Universidad Técnica Particular de Loja por permitirme ser parte de ella para poder estudiar mi carrera y poder cumplir uno de mis sueños, así también a los docentes que formaron parte de este camino universitario que aportaron con sus conocimientos.

Agradezco también a mi director de tesis Mg. Sc. Jorge Geovanny Figueroa Hurtado por darme la oportunidad de recibir su experiencia, conocimiento científico y por su paciencia para guiarme durante todo el desarrollo de esta tesis.

A los docentes: Miguel Ángel Meneses y María Del Cisne que con su experiencia y sugerencias han guiado esta investigación, así también por su colaboración como miembros del jurado de tesis.

A mi familia y amigos que estuvieron en el trascurso de este camino.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

CARÁTULA.....	I
APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN .....	II
DECLARACIÓN DE AUTORIA Y CESIÓN DE DERECHOS.....	III
DEDICATORIA.....	IV
AGRADECIMIENTO.....	V
ÍNDICE DE CONTENIDOS .....	VI
ÍNDICE DE TABLAS .....	VII
LISTA DE ABREVIATURAS .....	IX
RESUMEN.....	1
ABSTRAC .....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
CAPÍTULO I .....	5
REVISIÓN DE LITERATURA .....	5
1.1. Importancia de los subproductos.....	6
1.1.1. Familias botánicas de cítricos.....	6
1.1.2. Anatomía y composición química de los cítricos.....	6
1.2. Naranja .....	7
1.3. Importancia de los cítricos en la salud.....	8
1.3.1 Radicales libres.....	8
1.4. Antioxidantes.....	8
1.4.1. Compuestos fenólicos .....	9
1.5. Digestión gastrointestinal in vitro .....	10
1.6. Determinación de la actividad antioxidante .....	11
1.6.1. ABTS.- .....	11
1.6.2. DPPH.- .....	11
1.6.3. FRAP.-.....	11
1.6.4. Contenido de fenoles totales.-.....	12
CAPÍTULO II .....	13
OBJETIVO DEL PROYECTO.....	13

1.7. General .....	14
1.8. Específico .....	14
<b>CAPÍTULO III .....</b>	<b>15</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>15</b>
3.1. Preparación de muestras .....	16
3.2. Digestión gastrointestinal in vitro .....	16
3.2.1. Capacidad secuestrante de radicales libres por el método ABTS. ....	19
3.2.2. Capacidad secuestrante de radicales libres por el método DPPH.....	20
3.3.3. Poder antioxidante de reducción férrica FRAP.....	21
3.3. Cálculo de estabilidad antioxidante .....	22
3.4. Diseño experimental.....	22
<b>CAPÍTULO VI.....</b>	<b>23</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIONES .....</b>	<b>23</b>
4.1. Análisis de la actividad antioxidante .....	24
4.1.1. Capacidad secuestrante de radicales libres método ABTS.....	24
4.1.2. Capacidad secuestrante de radicales libres por el método DPPH. ....	25
4.1.3. Poder antioxidante de reducción férrica FRAP. ....	27
4.1.4. Análisis de la estabilidad antioxidante de subproducto completo deshidratado.....	28
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>31</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>32</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>33</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>38</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Fuentes de antioxidantes presentes en algunos subproductos de frutas	<b>7</b>
<b>Tabla 2.</b> Contenido en flavonoides en diferentes jugos cítricos	<b>10</b>



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Procedimiento de la digestión gástrica DG y cálculo de cantidad de bicarbonato.	<b>17</b>
<b>Figura 2.</b> Procedimiento de la fase intestinal sin dializar FI-S y fase intestinal dializada FI-D	<b>18</b>
<b>Figura 3.</b> Determinación de la capacidad antioxidante mediante el método ABTS	<b>19</b>
<b>Figura 4.</b> Determinación de la capacidad antioxidante mediante el método DPPH	<b>20</b>
<b>Figura 5.</b> Determinación de la capacidad antioxidante mediante el método FRAP	<b>21</b>

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

<b>Gráfica 1.</b> Capacidad antioxidante durante las diferentes etapas de la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i> (GI) determinada mediante el método ABTS en subproductos frescos de naranja.	<b>25</b>
<b>Gráfica 2.</b> Capacidad antioxidante durante las diferentes etapas de la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i> (GI) determinada mediante el método DPPH en subproductos frescos de naranja.	<b>26</b>
<b>Gráfica 3.</b> Capacidad antioxidante durante las diferentes etapas de la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i> (GI) determinada mediante el método FRAP en subproductos frescos de naranja	<b>27</b>
<b>Gráfica 4.</b> Estabilidad antioxidante de la fase intestinal dializada (FI-D) fresca comparada con la fase intestinal dializada (FI-D) deshidratada mediante los métodos ABTS, DPPH y FRAP de subproducto completo de naranja	<b>29</b>

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Preparación de reactivos y enzimas digestivas	<b>39</b>
<b>Anexo 2.</b> Datos de cuantificación de ABTS	<b>41</b>
<b>Anexo 3.</b> Datos de cuantificación de DPPH	<b>48</b>
<b>Anexo 4.</b> Datos de cuantificación de FRAP	<b>55</b>
<b>Anexo 5.</b> Cálculos de estabilidad antioxidante de ABTS	<b>62</b>
<b>Anexo 6.</b> Cálculos de estabilidad antioxidante DPPH	<b>64</b>
<b>Anexo 7.</b> Cálculos de estabilidad antioxidante FRAP	<b>66</b>
<b>Anexo 8.</b> Resultados diseño experimental.	<b>68</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ABTS:</b>	2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolín-6-sulfónico)
<b>Conc:</b>	concentración
<b>DPPH:</b>	2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
<b>FRAP:</b>	capacidad de reducción férrica del ion
<b>FeCl<sub>3</sub>6H<sub>2</sub>O:</b>	cloruro férrico hexahidratado
<b>DG:</b>	digestión gástrica
<b>F-IN:</b>	fracción inicial
<b>FI-S:</b>	fase intestinal sin dializar
<b>FI-D:</b>	fase intestinal dializada
<b>g:</b>	gramo
<b>GI:</b>	digestión gastrointestinal <i>in vitro</i>
<b>HCl:</b>	ácido clorhídrico
<b>H<sub>2</sub>O:</b>	agua destilada
<b>h:</b>	hora
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:</b>	ácido sulfúrico
<b>K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>:</b>	persulfato de potasio
<b>EQ.Trolox/ g:</b>	micromoles equivalentes de trolox/ gramo de muestra
<b>min:</b>	minuto
<b>MeOH:</b>	metanol
<b>ml:</b>	mililitro
<b>nm:</b>	nanometros
<b>N:</b>	normal
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>:</b>	carbonato de sodio
<b>NaOH:</b>	hidróxido de sodio
<b>NaHCO<sub>3</sub>:</b>	bicarbonato de sodio
<b>rpm:</b>	revoluciones por minuto
<b>mg:</b>	miligramos
<b>Trolox:</b>	ácido 6- hidroxil-2, 5, 7, 8- tetrametilcromo- 2- ácido carboxílico
<b>TPTZ:</b>	2, 4, 6 - tripiridil-s-triazina
<b>SMT:</b>	solución madre trolox

**μmol:** micromoles  
**ul:** microlitros  
**λ:** absorbancia

## RESUMEN

En la presente investigación se evaluó la biodisponibilidad de los subproductos de naranja (*Citrus sinensis* L.), (albedo, flavedo, pulpa agotada y subproducto completo), luego de ser sometidos a digestión gastrointestinal *in vitro*. La capacidad antioxidante de los subproductos de naranja en las diferentes fases de la digestión, fue cuantificada a través de los métodos de ABTS DPPH y FRAP, los resultados obtenidos mostraron que los subproductos de mayor biodisponibilidad y estabilidad antioxidante fueron albedo, flavedo y subproducto completo, en cambio el subproducto de menor biodisponibilidad y estabilidad antioxidante fue pulpa agotada. El subproducto completo fresco en ABTS mostró mayor estabilidad antioxidante que el subproducto deshidratado. En DPPH la estabilidad antioxidante fue menor en el subproducto completo fresco, que en el subproducto deshidratado y finalmente en FRAP la estabilidad antioxidante se mantuvo igual para subproducto completo fresco y subproducto completo deshidratado.

**PALABRAS CLAVES:** subproducto de naranja, capacidad antioxidante, digestión gastrointestinal *in vitro*.

## **ABSTRAC**

The aim of this research was to evaluate the influence of in vitro gastrointestinal digestion on the stability of antioxidant capacity in orange byproducts (*Citrus sinensis* L.), (albedo, flavedo, pulp and complete byproduct). The antioxidant capacity was measured by methods of ABTS, DPPH and FRAP. The byproducts with the best antioxidant stability were albedo, flavedo and byproduct complete. On the other hand, the pulp was the byproduct with the lower antioxidant stability. The complete fresh byproduct showed higher antioxidant stability than the dehydrated byproduct, measured with ABTS method. In DPPH the antioxidant stability was lower in the complete fresh byproduct. Finally, in FRAP the antioxidant stability was similar in fresh and dehydrated byproduct.

**KEY WORDS:** orange byproduct, antioxidant capacity, in-vitro gastrointestinal digestion.

## INTRODUCCIÓN

El cultivo de cítricos es uno de los más importantes del mundo, el 98 % de estas frutas son industrializadas para la obtención de jugos, zumos, conservas y mermeladas, la naranja representa el 82 % de esta producción, este tipo de frutas tienen una particularidad, poseen proporciones comestibles pequeñas obteniéndose grandes cantidades de subproductos como cáscaras y semillas que son desperdiciadas, que representan el 50 % de la fruta total, estas pueden contener compuestos bioactivos similares o superiores que el producto final, la mayoría poseen ácido ascórbico y son considerados como una fuente de antioxidantes (flavonoides) (Fernández-López et al., 2004; Marín, Soler-Rivas., et al 2007; Ayala-Zavala et al., 2011).

En la actualidad la naranja es uno de los cítricos de mayor interés a nivel científico, debido a que tendrían la capacidad de eliminar radicales libres que serían los causantes de diversas enfermedades degenerativas y envejecimiento celular (Jeong et al., 2004). La industria de alimentos es una área que siempre se está innovando y buscando el mejoramiento en el procesamiento de alimentos para la obtención de productos más saludables que beneficien al consumidor (Fernández-López et al., 2004). Una de las maneras de evaluar un alimento funcional es la digestión gastrointestinal *in vitro*, que es uno de los métodos más utilizados en los estudios de sistemas alimentarios permitiendo el análisis de la actividad antioxidante de un alimento de origen vegetal o sintético, que reporta resultados próximos a una evaluación *in vivo*, la cual es más complicada de realizarse (Antolovich et al., 2002; Moyer, Hummer, Finn, Frei, & Wrolstad, 2002).

Estudios realizados en subproductos de naranja indican poseer compuestos fenólicos considerándolos como una fuente de antioxidantes (Bocco, Cuvelier, Richard, & Berset, 1998), similar a diferentes tipos de frutas que a través de la cuantificación de la actividad antioxidante por métodos como ABTS, DPPH y FRAP han demostrado tener una alta capacidad antioxidante (Vasco, Ruales, & Kamal-Eldin, 2008). Análisis en jugos de naranja también señalan que conservan compuestos fenólicos biodisponibles luego de la digestión gastrointestinal *in vitro*, que presentarían un efecto beneficioso para la salud (Erlund, Meririnne, Alfthan, & Aro, 2001).

La presente investigación busca analizar el efecto que causa la digestión gastrointestinal *in vitro*, en la capacidad antioxidante de los subproductos de naranja (*Citrus sinensis* L.), (albedo, flavedo, pulpa agotada, subproducto completo fresco y deshidratado), a través de métodos que se fundamentan en la capacidad de reducción

férrica (FRAP) y la reacción entre radicales con un antioxidante (ABTS y DPPH) detectando la ausencia o presencia de antioxidantes(Re et al., 1999; Saura-Calixto, 2007; Jha, Panda, Ramaiah, & Anbarasu, 2014).

**CAPÍTULO I**  
**REVISIÓN DE LITERATURA**



## 1.1. Importancia de los subproductos

A nivel mundial los cítricos son frutas ampliamente industrializadas, cuyos subproductos pueden estimarse en más de 15 millones de toneladas, (Marín., et al 2007), se consideraría como subproductos cítricos a la cáscara, subproducto completo, semillas y pulpa agotada de la fruta, como resultado final de la elaboración de jugos y néctares (Braddock, 1995; Krasodomska & Jungnickel, 2015), estos son desperdiciados y podrían poseer compuestos que actúen como antioxidantes naturales (Pérez-Nájera, Lugo-Cervantes, 2013) y también pueden ser aprovechados como fuente de fibra dietética total (Marín et al., 2007). En la Tabla 1 se muestran diferentes fuentes de antioxidantes encontrados en subproductos en diferentes frutas.

### 1.1.1. Familias botánicas de cítricos

Dentro de los árboles del género *Citrus* se encuentran las naranjas, limones, toronjas y mandarinas denominándolos comercialmente como cítricos.

#### Taxonomía de los cítricos comestibles:

**Reino:** Vegetal

**Orden:** Geraniales

**Familia:** Rutáceas

**Subfamilia:** Auratioideas

**Género:** Citrus L.

**Subgénero:** Citrus

### 1.1.2. Anatomía y composición química de los cítricos

El fruto de los cítricos es un tipo especial de bayas denominado hesperidio el cual está dividido en varias secciones; **exocarpo o flavedo** que es la parte más externa del fruto la cual está formada por una epidermis, cubierta por una cutícula, unidas a ellas varias capas de células que forman un parénquima, **mesocarpo o albedo** está formado por un tejido parenquimático de varias filas de células con grandes espacios intercelulares de aspecto esponjoso y **endocarpo o pulpa** que es la parte comestible del fruto, que está constituida por gajos, en cuyo interior se encuentran vesículas de jugos que están agrupados en segmentos (Agusti., 2003; Grupo Latito Editores S.A, 2004).

**Tabla 1.- Fuentes de antioxidantes presentes en algunos subproductos de frutas.**

Fruta	Subproducto	Compuesto	Referencia
<b>Limón</b>	Piel otros residuos sólidos	Hesperidina y eriocitrina	(Goñi, Isabel., Hervert-Hernandez, 2011)
<b>Manzana</b>	Piel otros residuos sólidos	Proantocianinas, flavonoides, ácido fenólico	(Goñi y Hervert-Hernández 2011)
<b>Uva</b>	Pulpa y pepas	Quercetina, compuestos fenólicos, antocianinas	(Goñi, Isabel., Hervert-Hernandez, 2011)
<b>Naranja agria</b>	Piel y otros residuos sólidos	Flavonoides, neoricitrin, naringina, neohesperidina	(Marín et al., 2007)
<b>Mandarina</b>	Piel	Flavonoides	(Marín et al., 2007)
<b>Toronja</b>	Pulpa	Naringina, hesperidina, neohesperidina, neohesperidina dihidrochalcona	(Mäkynen et al., 2013)

## 1.2. Naranja

La naranja (*Citrus sinensis* L.) es una especie originaria de regiones tropicales y subtropicales del sur este de Asia pertenece a la familia de las *rutáceas* (Lu, Zhou, & Xie, 2011; Jing et al., 2015), es una de las variedades de naranja más cultivadas del mundo (Xu et al., 2013). Los cultivos de naranja a nivel mundial son de 17 millones de toneladas (FAO, 2012), los países latinoamericanos con mayor producción de naranjas son Brasil y México (Liu, Heying, & Tanumihardjo, 2012). En Ecuador el crecimiento de cultivos de cítricos para el consumo fresco o producto elaborado se ha incrementado, debido a la demanda mundial especialmente en naranja de la especie (*Citrus sinensis* L.), el litoral ecuatoriano posee un excelente potencial para la producción de esta fruta, Manabí es una zona de clima tropical donde manejan un sistema frutícola existiendo unas 1500 hectáreas donde la actividad económica que predomina es la agropecuaria y el cultivo de cítricos como naranjas, mandarinas y toronjas (FAO, 2010).

A nivel nacional las áreas de mayor producción de cítricos son las provincias de Azuay, Santa Elena y Carchi (INEC, 2014). La naranja tradicional (*Citrus sinensis* L.), es una de las especies de cítricos que presenta una gran actividad de compuestos antioxidantes (Pretel, Botella, J., & Serrano, 2004).

### **1.3. Importancia de los cítricos en la salud**

Los cítricos presentan constituyentes bioactivos como vitamina C, flavonoides y  $\beta$ -carotenos, que pueden estar asociados a la prevención de enfermedades degenerativas, estos compuestos presentan también actividad antioxidante mostrando un efecto protector sobre biomoléculas del organismo como proteínas, lípidos y ADN (ácido desoxirribonucleico), neutralizando los radicales libres beneficiando al organismo contra el estrés oxidativo (Silalahi, 2002).

#### **1.3.1 Radicales libres**

Se definen como moléculas que tienen un electrón desapareado, son inestables y muy reactivas en orbitales atómicos (Fang, Yang, & Wu, 2002), este electrón desapareado genera un grado de reactividad a los radicales libres derivados del oxígeno los cuales representan la clase más importante de las especies de radicales generados en los seres vivos (Miller, Buettner, & Aust, 1990), estas moléculas en altas concentraciones pueden ser mediadores del daño de las estructuras celulares, ácidos nucleicos, lípidos y proteínas (Valko, Rhodes, Moncol, Izakovic, & Mazur, 2006).

### **1.4. Antioxidantes**

Un antioxidante se puede considerar a cualquier sustancia que reduce los radicales libres (ROS) mediante donación de electrones, inhibiendo la reacción en cadena y estabilizando el átomo del electrón desapareado, este mecanismo evita la oxidación de carbohidratos, proteínas y ADN (ácido desoxirribonucleico) (Alessio & Blasi., 1997; Evans & Halliwell, 2001), se podrían considerar también un sistema de defensa que limpian y minimizan la formación de especies reactivas del oxígeno (Halliwell, 2001).

También existen los antioxidantes sintéticos como butilo-hidroxitolueno (BHT) e hidroxianisol butilato (BHA) que son utilizados como aditivos, los cuales prolongan la vida útil de los alimentos previniendo su oxidación, existen estudios de estos antioxidantes sintéticos que demostrarían ser cancerígenos, a los cuales se los puede considerar una amenaza para la salud humana (EFSA, 2011; EFSA, 2012).

#### **1.4.1. Compuestos fenólicos**

Constituyen un amplio grupo de metabolitos secundarios de las plantas (Castillo., E, Martínez., 2007), que cada vez aumentan su interés en la industria alimentaria (Kähkönen et al., 1999). Compuestos fenólicos como los flavonoides son sustancias de origen natural los cuales no son sintetizados por los seres humanos, poseen algún tipo de efecto farmacológico que actúan sobre los organismos biológicos siendo beneficiosos para la salud humana (Peterson, Dwyer, Stern, England, & Mayer, 1998). Estos flavonoides se consumen en gran cantidad en la dieta humana regular, los cuales se encuentran en verduras, legumbres, frutas, jugos, té de hierbas entre otros productos (Lopes, Oliveira, Nagem, & Pinto, 2000). En la Tabla 2 se muestran flavonoides encontrados en jugos de diferentes frutos cítricos.

Dentro del grupo de los flavonoides se encuentran; las antocianinas que están presentes en frutas y flores que tienen compuestos como (cianidina, delphinidina y peonidina), las flavononas (hesperidina y naringenina) se encuentran presentes en las frutas cítricas, las flavonas (nobiletina, luteolina, tangeretina) presentes en verduras y frutas, los flavonoles (quercetina, rutina, mircetina) y los isoflavonoides que se encuentran casi exclusivamente el legumbres (genisteína, daidzein) (Peterson et al., 1998).

**Tabla 2.-Contenido de flavonoides en diferentes jugos cítricos.**

Cítrico	Compuestos	Referencias
<b>Limón</b>	Flavanonas (hesperidina, naringenina)	(Liu, et al., 2012 ; Grupo latito editores S.A. 2013)
	Flavonas (Apigenina, luteolina)	
	Flavonoles (Kaempferol, miricetina, quercetina)	
	Vitamina C	
<b>Mandarina</b>	Flavononas (Hesperidina, naringenina)	(Liu et al., 2012 ; Grupo latito editores S.A. 2013)
	Vitamina C	
<b>Toronja</b>	Flavononas (Hesperetina, naringenina)	(Liu et al., 2012 ; Grupo latito editores S.A. 2013)
	Vitamina C	
<b>Naranja</b>	Flavononas (Hesperetina, naringenina)	(Liu et al., 2012 ; Grupo latito editores S.A. 2013)

### 1.5. Digestión gastrointestinal *in vitro*

Una de las maneras de evaluar la actividad antioxidante y la eliminación de radicales libres, es la digestión *in vitro* (Aruoma, 2003), que simula las condiciones fisiológicas gastrointestinales, en la cual intervienen enzimas digestivas como pepsina, pancreatina y una membrana de diálisis que simula al intestino humano, que tiene como característica principal el de poseer una difusión pasiva de manera que toma en cuenta la solubilidad de los nutrientes digeridos (fracción sin dializar) y no digeridos (fracción dializada), detrás de un tiempo de incubación que mediante la regulación del pH, se pueden obtener un resultado cercano a la situación *in vivo*, entre los beneficios está la posibilidad de analizar la capacidad antioxidante del alimento (muestra) analizado en cada fase de la digestión *in vitro*, además se lo puede considerar un método de bajo costo y sencillo de realizar (Ekmekcioglu, 2002 ; Erejuwa, Sulaiman, & Ab Wahab, 2012).

## 1.6. Determinación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante total de una muestra está establecida por la formación de un conjugado y por interacciones sinérgicas de distintos compuestos lo correcto es combinar más de un método, los más utilizados son ABTS, DPPH y FRAP para la evaluación correcta de la actividad antioxidante en verduras y frutas (Saura-Calixto, 2007). Según Aruoma., (2003) para la evaluación de la capacidad antioxidante luego de la digestión gastrointestinal *in vitro* se puede emplear los métodos de ABTS, FRAP y DPPH que permite evaluar sustancias lipófilicas, compuestos como carotenoides, tocoferoles de preferencia son métodos empleados en la evaluación de componentes de antioxidantes polifenólicos dietéticos.

**1.6.1. ABTS.-** 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolín-6-sulfónico) método ampliamente utilizado para el análisis de la actividad antioxidante de materiales biológicos, compuestos puros o extractos de plantas por su capacidad lipofílica o hidrófilica (Kuskoski, Asuero, García-Parilla, Troncoso, & Fett, 2004) se fundamenta en la activación de metamioglobina con peróxido de hidrógeno en la presencia de ABTS•+ para producir el catión radical en la presencia o ausencia de antioxidante, se absorbe a una longitud de onda de 734 nm, (Re et al., 1999; Arnao et al., 2001).

**1.6.2. DPPH.-** (2,2- difenil-1-picrilhidrazilo) es un radical orgánico nitrogenado estable (Wu et al., 2004), en la presencia de un antioxidante se ve el grado en que es capturado el radical orgánico (Brand-Williams, Cuvelier, & Berset, 1995) en disolución metanólica presenta un color violeta intenso con absorción de 515 nm cuando la solución de DPPH• se mezcla con una sustancia que puede donar un átomo de hidrógeno (antioxidante), reduce al radical DPPH• con la pérdida del color violeta, tornándose de violeta a un amarillo pálido (Molyneux, 2004).

**1.6.3. FRAP.-** Poder antioxidante reductor del hierro que determina la actividad antioxidante total mediante una reacción basada en la reducción del complejo de la tripiridiltriazina férrica de color amarillo al complejo ferroso color azul por un antioxidante en un medio ácido (Benzie & Strain, 1996), puede ser monitoreado a una longitud de onda de 593 nm (Prior Guohua & Cao, 1999).

**1.6.4. Contenido de fenoles totales.-** La determinación de fenoles totales tras la digestión gastrointestinal *in vitro* no es muy factible debido a que el método puede sufrir alteraciones por compuestos no fenólicos como proteínas, aminoácidos, creatinina, ácido oleico, ácido úrico y xantinas entre otros compuestos, expresando resultados elevados y poco fiables (Prior, Wu, & Schaich, 2005).

**CAPÍTULO II**  
**OBJETIVO DEL PROYECTO**



### **1.7. General**

Evaluar la disponibilidad *in vitro* de los componentes fenólicos de subproductos de naranja (*Citrus Sinensis* L.).

### **1.8. Específico**

Analizar la actividad antioxidante de subproductos de naranja (*Citrus sinensis* L.), fresco y deshidratado mediante técnicas como ABTS, DPPH y FRAP antes y después de la digestión gastrointestinal *in vitro*.

**CAPÍTULO III**  
**MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.1. Preparación de muestras**

La materia prima empleada en el presente estudio se obtuvo a partir de la naranja (*Citrus sinensis*. L.), en donde los diferentes subproductos fueron obtenidos de la separación de pulpa agotada, albedo y flavedo que corresponden a la piel de la fruta y subproducto completo fresco que es la fruta desechada completa.

El subproducto completo fue deshidratado por 24 h a 60°C. Los subproductos frescos y subproducto completo deshidratado se sometieron a molienda obteniéndose un tamaño partícula menor o igual a 500 µm.

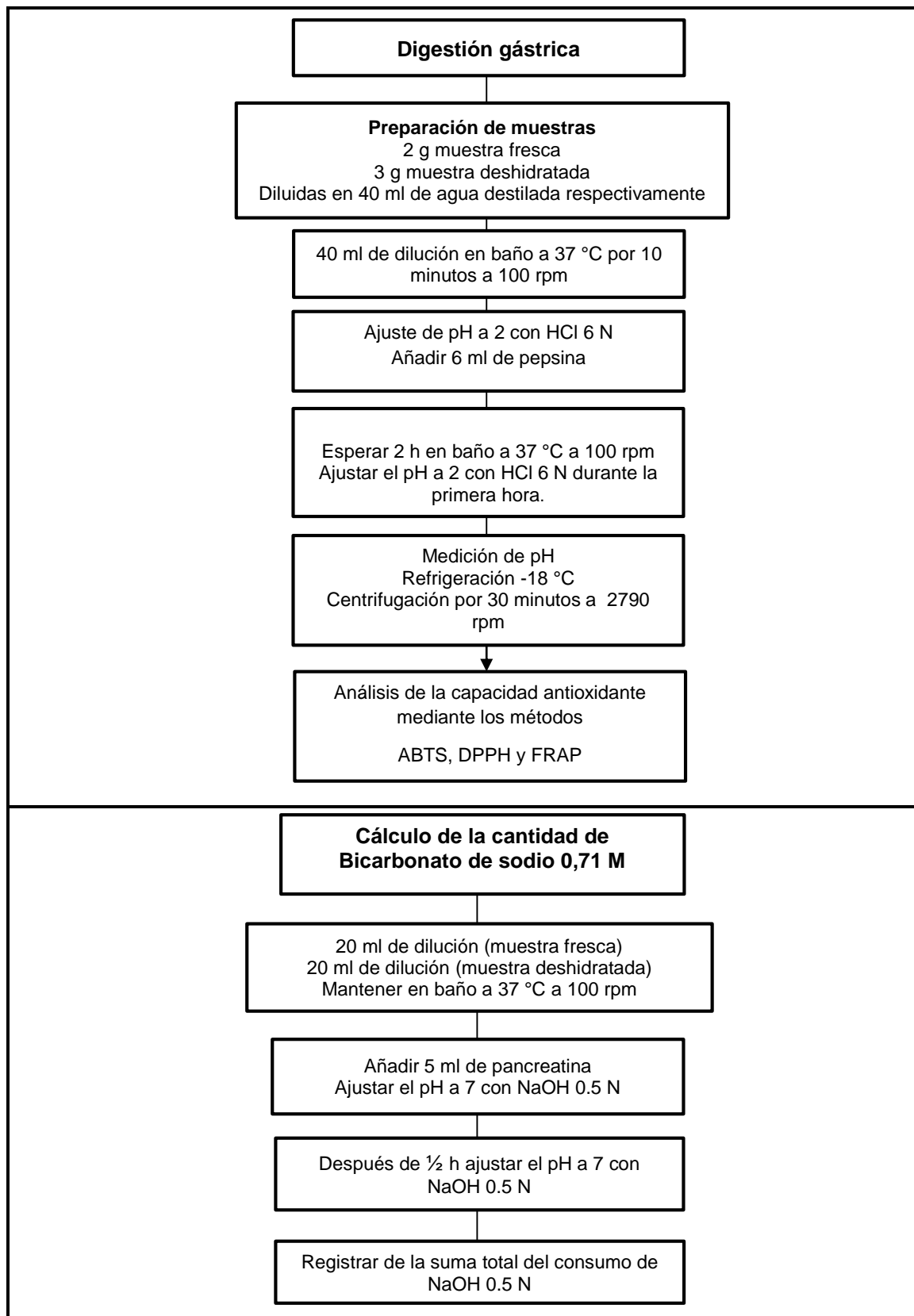
Posteriormente se diluyeron los subproductos, se utilizaron 3 g de subproducto fresco y 2 g de subproducto deshidratado, disueltos en 40 ml de agua destilada respectivamente.

### **3.2. Digestión gastrointestinal *in vitro***

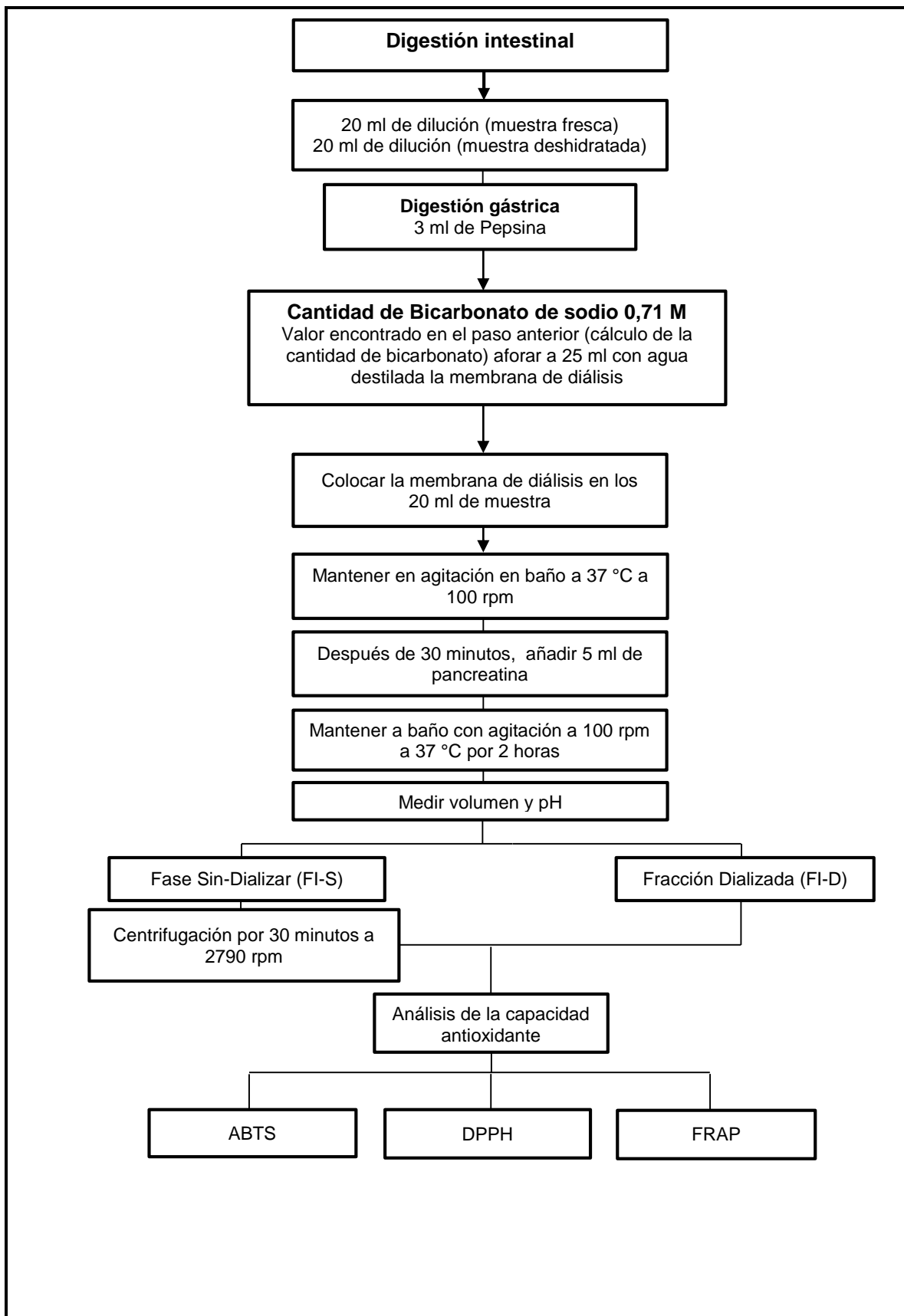
La metodología de la simulación gastrointestinal *in vitro*, se realizó según lo descrito por Miller, Schricker, Rasmussen, & Van Campen (1981) con algunas modificaciones efectuadas por Gil-Izquierdo, Zafrilla, & Tomás-Barberán, (2002).

Las enzimas digestivas fueron preparadas solamente en el momento de su utilización. El procedimiento de la digestión gástrica DG y cálculo de la cantidad de bicarbonato de sodio 0,71 M, se detalla en la Figura 1. El procedimiento de la fase intestinal se detalla en la Figura 2, posteriormente se procedió al análisis de la actividad antioxidante de la DG, fase intestinal sin dializar FI-S y fase intestinal dializada FI-D, empleando los métodos de ABTS, DPPH y FRAP procedimientos detallados en la Figura 3, 4 y 5 respectivamente.

Los datos y cálculos de la preparación de reactivos y de enzimas digestivas, se muestran en Anexo 1.



**Figura 1.-**Procedimiento de la digestión gástrica DG y cálculo de cantidad de bicarbonato.



**Figura 2.** Procedimiento de la fase intestinal sin dializar FI-S y fase intestinal dializada FI-D.

### 3.2.1. Capacidad secuestrante de radicales libres por el método ABTS.

La determinación de la capacidad antioxidante del método ABTS se realizó, siguiendo la metodología descrita por Arnao, et al. (2001) con ciertas modificaciones realizadas por Thaipong, et al. (2006). Los resultados son expresados en micromoles equivalentes a trolox por gramos de muestra ( $\mu\text{M TE/g}$ ). En la Figura 3 se detalla el procedimiento, los datos y cálculos correspondientes se especifican en el Anexo 2.

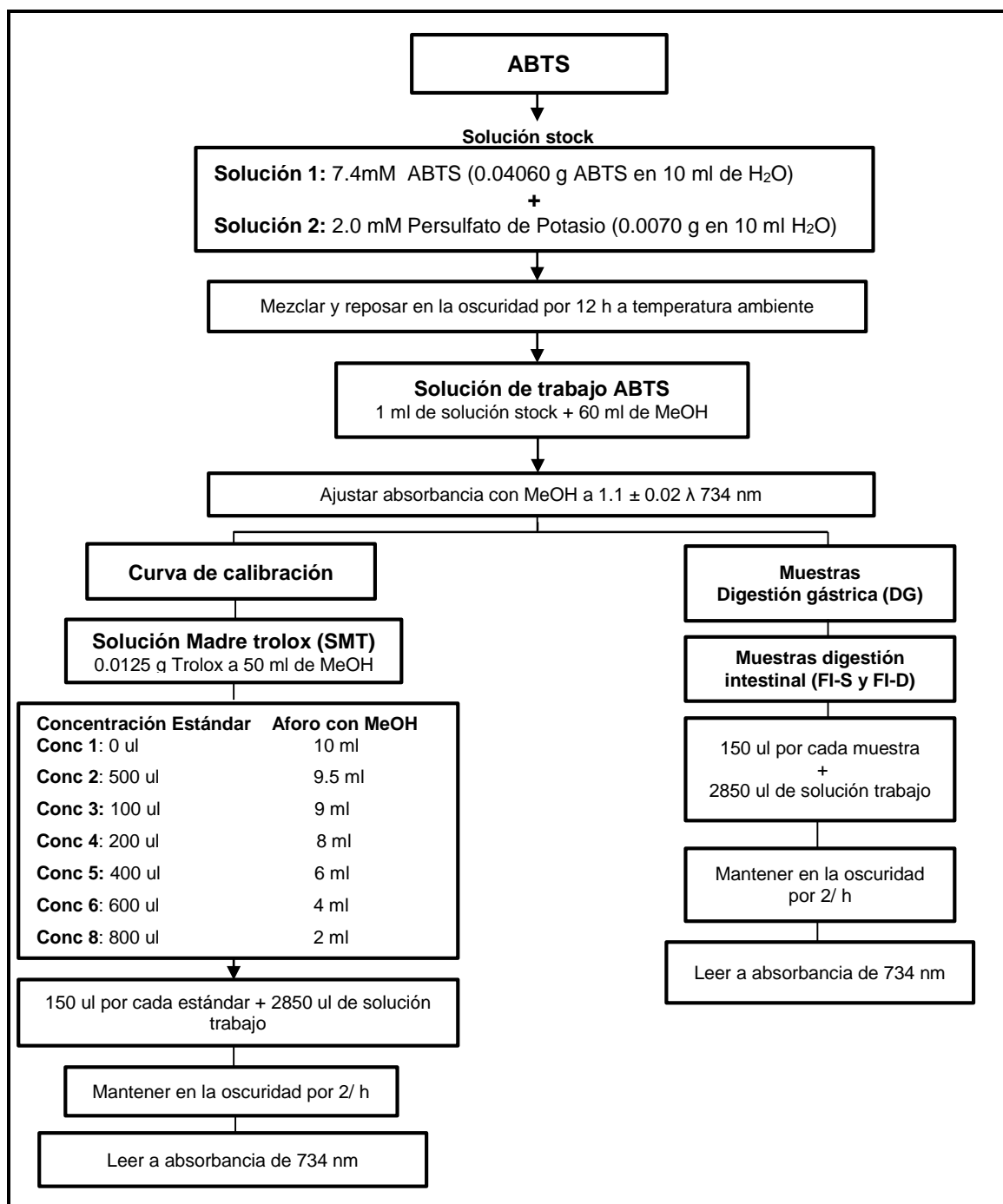


Figura 3. Determinación de la capacidad antioxidante mediante el método ABTS.

### 3.2.2. Capacidad secuestrante de radicales libres por el método DPPH.

La metodología aplicada se basa en lo descrito por Brand-Williams, et al. (1995) con algunas modificaciones de Thaipong, et al. (2006). Los resultados son expresados en micromoles equivalentes a trolox por gramos de muestra ( $\mu\text{M TE/g}$ ). En la Figura 4 se detalla el procedimiento. Los datos y cálculos correspondientes se especifican en el Anexo 3.

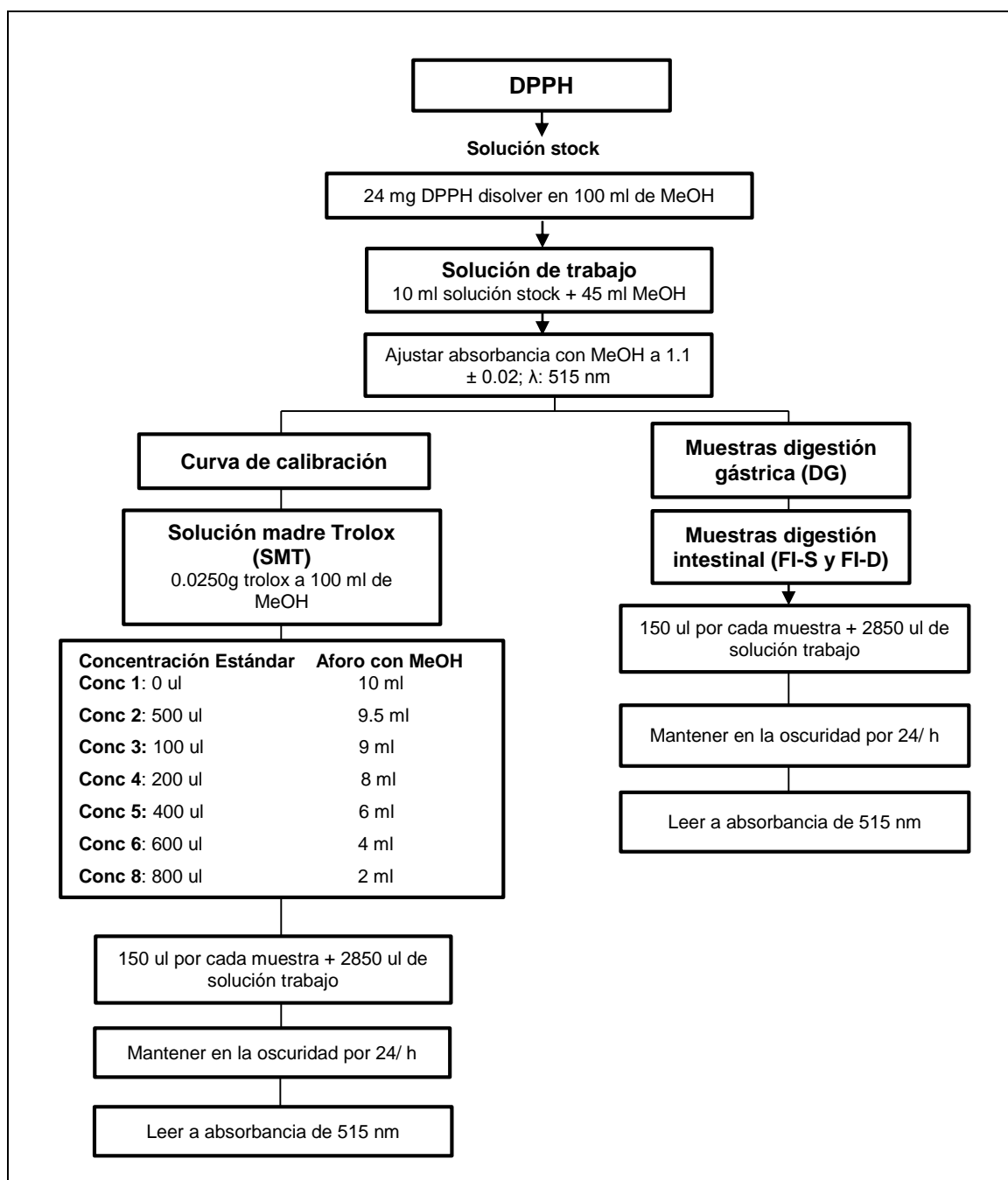
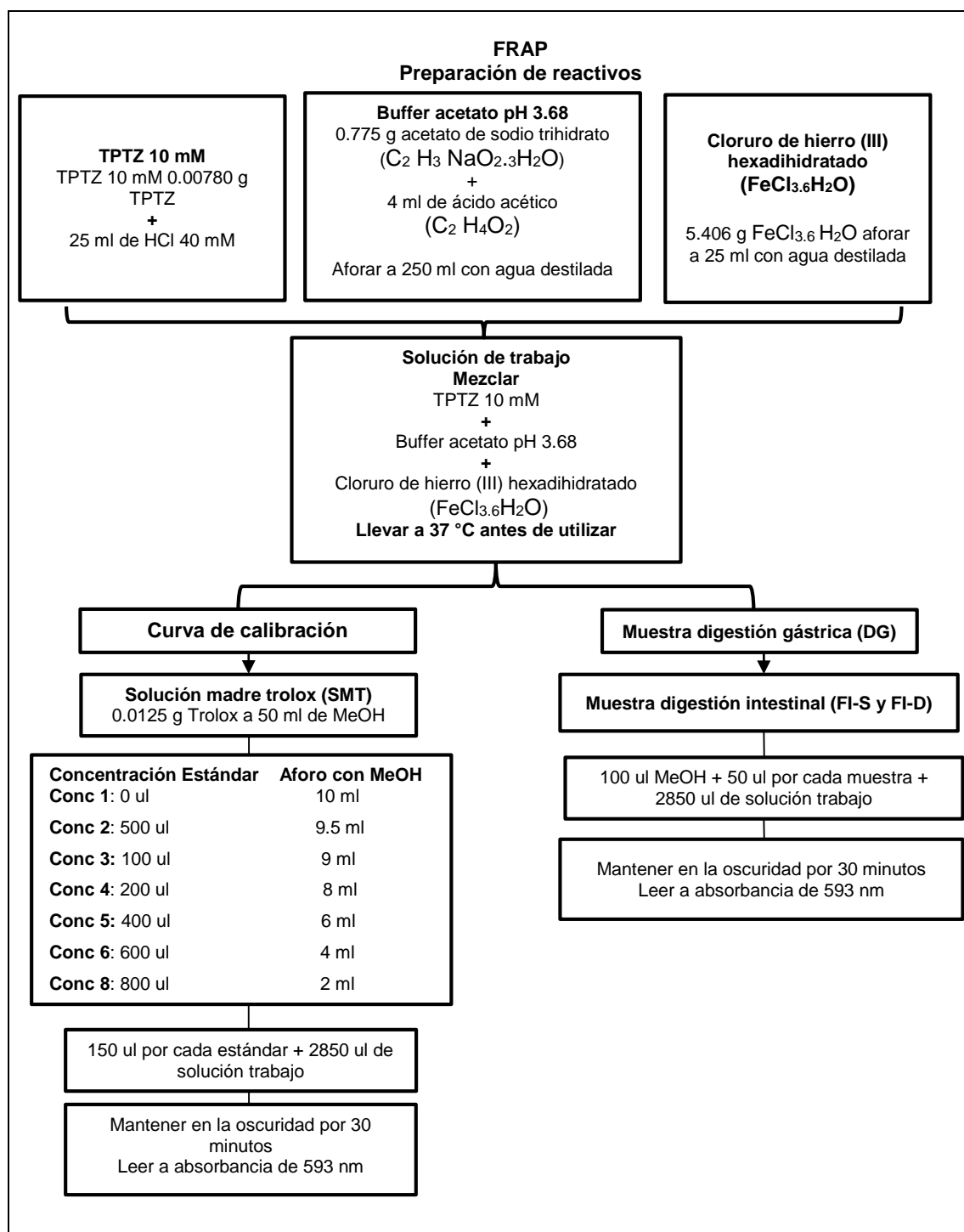


Figura 4. Determinación de la capacidad antioxidante mediante el método DPPH.

### 3.3.3. Poder antioxidante de reducción férrica FRAP.

El análisis de FRAP se realizó con la metodología de Benzie & Strain, (1996) adaptado y realizada con algunas modificaciones por Thaipong, et al. (2006). Los resultados son expresados en micromoles equivalentes a trolox por gramos de muestra ( $\mu\text{M TE/g}$ ). En la Figura 5, se detalla el procedimiento. Los datos y cálculos correspondientes se especifican en el Anexo 4.



**Figura 5 .** Determinación de la capacidad antioxidante mediante el método FRAP.



### 3.3. Cálculo de estabilidad antioxidante

La estabilidad antioxidante de los subproductos de naranja (*Citrus Sinensis* L.), fue calculada mediante el valor de la capacidad antioxidante en cada una de las etapas de digestión: fase gástrica, fase intestinal sin dializar y fase intestinal dializada.

La capacidad antioxidante inicial de los subproductos fue considerada como el 100 % de estabilidad, procedimiento detallado en la siguiente fórmula:

$$\text{Estabilidad \%} = \frac{\text{Capacidad antioxidante fases de la digestion} \times 100}{\text{Capacidad antioxidante inicial}}$$

### 3.4. Diseño experimental

Los análisis estadísticos y la comparación de medias de los subproductos por triplicado se evaluaron por medio del paquete estadístico Minitab 16. Los datos recogidos fueron analizados mediante análisis de varianza (ANOVA). Se realizó la prueba de Tukey para las comparaciones de la capacidad antioxidante de los subproductos en las diferentes fases de la digestión; las diferencias se consideraron significativas con  $p < 0,05$ . Los resultados se muestran en el Anexo 8.

**CAPÍTULO VI**  
**RESULTADOS Y DISCUSIONES**

#### **4.1. Análisis de la actividad antioxidante**

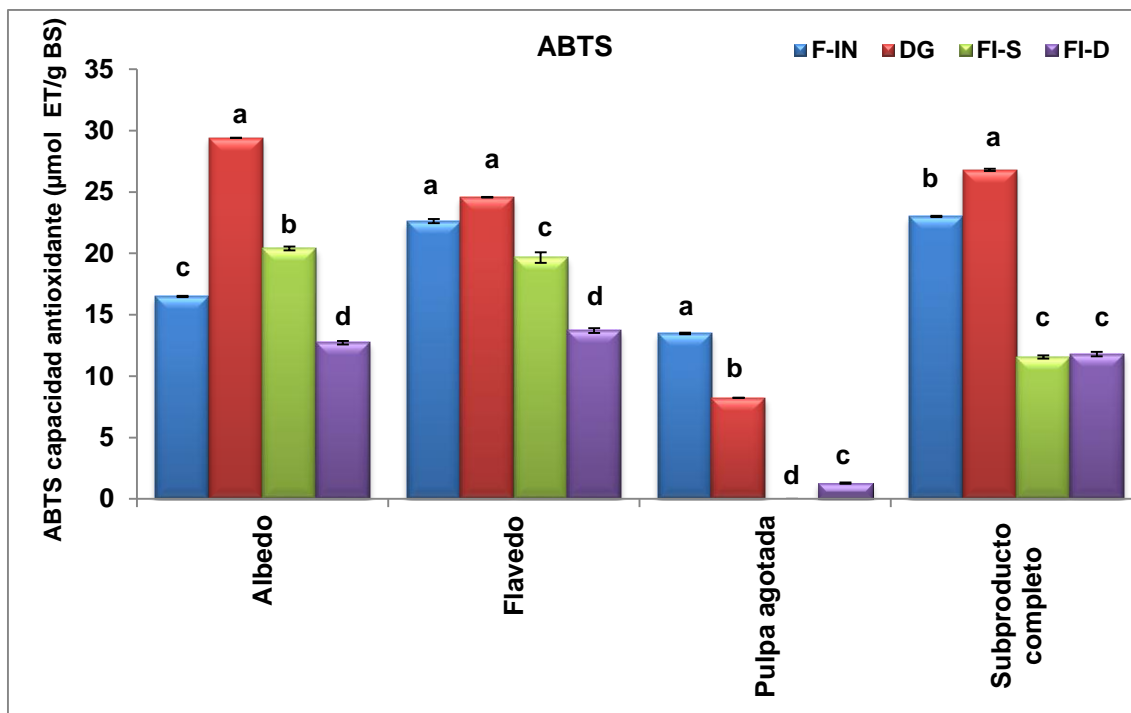
En el presente estudio se analizó la capacidad de los antioxidantes presentes en los subproductos frescos (albedo, flavedo, pulpa agotada y subproducto completo), y el efecto de la deshidratación del subproducto completo de naranja (*Citrus sinensis* L.).

La cuantificación de ABTS, DPPH y FRAP se detallan en los Anexos 2, 3 y 4 y los cálculos de estabilidad antioxidante de ABTS, DPPH y FRAP se muestran en los Anexos 5, 6 y 7.

##### **4.1.1. Capacidad secuestrante de radicales libres método ABTS.**

La Gráfica 1, muestra la capacidad antioxidante en cada fase de la digestión gastrointestinal *in vitro*. La DG en los subproductos causó un incremento en la estabilidad antioxidante en las siguientes fracciones; albedo, subproducto completo y flavedo en un 78 %, 17 % y 9 % respectivamente en relación a la concentración inicial. Estos valores fueron superiores al 104 % encontrado por Bouayed., et al (2011) en el análisis de compuestos fenólicos después de la digestión gastrointestinal *in vitro* en la variedad de manzana Jonagold mediante el ensayo ABTS. En cambio en la pulpa agotada la estabilidad disminuyó a un 61,1 %. En el análisis de compuestos fenólicos, vitamina C y carotenoides mediante la digestión gastrointestinal *in vitro* en una mezcla de jugo de frutas (naranja, kiwi y piña), hubo un incremento de la concentración de compuestos fenólicos durante la DG, como naringenina, p-cumarina, y ácido cafeico que se mantuvo estable (Rodríguez-Roque, Rojas-Graü, Elez-Martínez, & Martín-Belloso, 2013), estos compuestos también fueron encontrados en subproductos como piel, fruta entera y semillas de cítricos como naranja dulce *Citrus sinensis* Biondo comune, naranja agria *Citrus aurantium* y naranja *Citrus unshiu* Marc (Bocco, Cuvelier, Richard, & Berset, 1998; Peterson et al., 2006; Marín et al., 2007; Ma, Chen, Liu, & Ye, 2009), cuyos compuestos también podrían estar presentes en las fracciones de albedo, subproducto completo y flavedo lo que explicaría el incremento de la capacidad antioxidante durante la DG.

En la FI-S la capacidad antioxidante de todos los subproductos disminuyó, albedo fue la fracción de mayor estabilidad antioxidante con el 24 %, más respecto a la concentración inicial, en cambio la fracción de pulpa agotada no presentó capacidad antioxidante, estos valores son inferiores al 125 % encontrado por Bouayed, et al. (2011) en la variedad de manzana Jonagold.



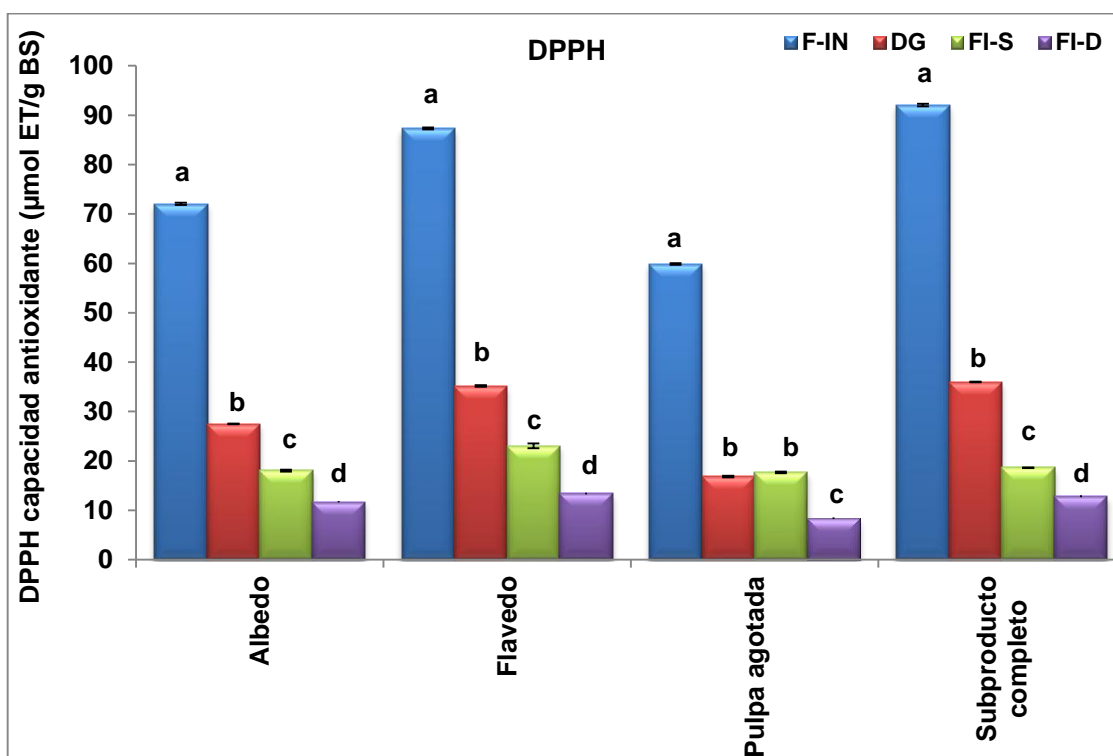
**Gráfica 1.** Capacidad antioxidante durante las diferentes etapas de la digestión gastrointestinal *in vitro* (GI) determinada mediante el método ABTS en subproductos frescos de naranja (*Citrus sinensis* L.). Se presenta una fase inicial (F-IN), una fase después de la digestión gástrica (DG), una fase intestinal sin dializar (FI-S) y una fase intestinal dializada (FI-D). Las letras diferentes muestran diferencia significativa de la estabilidad de la capacidad antioxidante entre las diferentes etapas de la digestión.

Finalmente en la FI-D la fracción de mayor estabilidad antioxidante fue albedo que presento un valor de 77 %, valor superior al 68 % encontrado por Bouayed, et al. (2011) en la variedad de manzana Jonagold, valores inferiores presentaron las fracciones de flavedo seguido de subproducto completo y pulpa agotada. La transición de la DG a la fase intestinal seria la causante de la disminución de la capacidad antioxidante de la FI-S y FI-D la cual produciría la reducción de polifenoles y flavonoides (Tagliazucchi, Verzelloni, Bertolini, & Conte, 2010).

#### 4.1.2. Capacidad secuestrante de radicales libres por el método DPPH.

En la Gráfica 2, se muestra la capacidad antioxidante de los subproductos, los cuales mostraron una pérdida importante de la capacidad antioxidante durante la DG, la fracción de mayor estabilidad antioxidante en esta fase fue flavedo el valor encontrado fue de 40 %, valor inferior al 73 % encontrado por Kamiloglu & Capanoglu, (2013) en el estudio de la bioaccesibilidad *in vitro* de polifenoles en higos frescos color amarillo *Ficus carica* L, mediante el ensayo DPPH. En la FI-S las fracciones de flavedo y pulpa

agotada fueron las de mayor estabilidad antioxidante los valores encontrados fueron de 26 % y 29 % respectivamente, valores inferiores al 36 % encontrado por Kamiloglu & Capanoglu, (2013) en higos frescos color amarillo. Finalmente la capacidad antioxidante en la FI-D fue reducida en todos los subproductos, las fracciones de mayor estabilidad antioxidante de esta fase fueron albedo y flavedo, los valores encontrados fueron de 16 % y 15 % respectivamente, valores superiores al 9 % encontrado por Kamiloglu & Capanoglu, (2013) en higos frescos color amarillos.



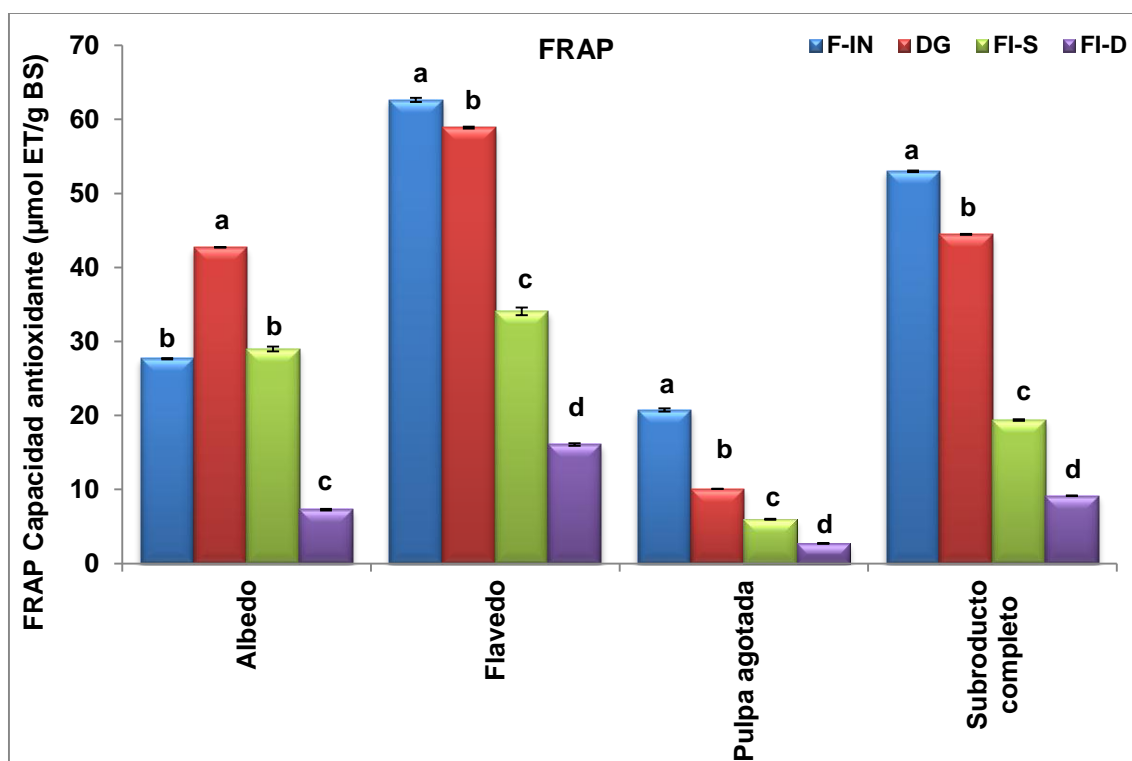
**Gráfica 2.** Capacidad antioxidante durante las diferentes etapas de la digestión gastrointestinal *in vitro* (GI) determinada mediante el método DPPH en subproductos frescos de naranja (*Citrus sinensis* L.). Se presenta una fase inicial (F-IN), una fase después de la digestión gástrica (DG), una fase intestinal sin dializar (FI-S) y una fase intestinal dializada (FI-D). Las letras diferentes muestran diferencia significativa de la estabilidad de la capacidad antioxidante entre las diferentes etapas de la digestión.

Los resultados del efecto que causó la GI en la estabilidad antioxidante en los subproductos frescos, muestran un comportamiento similar al encontrado por Kamiloglu & Capanoglu, (2013) en el análisis de la bioaccesibilidad *in vitro* de polifenoles en higos frescos color amarillos *Ficus carica* L. mediante el ensayo DPPH, donde el efecto en la capacidad antioxidante de la F-IN fue significativamente mayor a la DG, seguida de la FI-S y FI-D, explicando que este efecto se produciría por una

descomposición o una liberación insuficiente de compuestos fenólicos presentes en los subproductos estudiados.

#### 4.1.3. Poder antioxidante de reducción férrica FRAP.

Durante la DG no se observó un efecto considerable sobre la capacidad antioxidante de los subproductos, resultados mostrados en la Gráfica 3. La fracción de mayor estabilidad antioxidante durante esta fase fue albedo, que se incrementó en un 54 % respecto a la concentración inicial, valor superior al 116 % encontrado por Bouayed, et al. (2011) en el análisis de compuestos fenólicos después de la simulación gastrointestinal *in vitro* en la variedad de manzana Jonagold mediante del ensayo FRAP. La FI-S mostró un efecto de reducción de la capacidad antioxidante en todos los subproductos, la fracción de mayor estabilidad antioxidante en esta fase también fue albedo que se mantuvo estable respecto al valor inicial, cantidad superior al 59 % encontrado por Bouayed, et al. (2011) en la variedad de manzana Jonagold.



**Gráfica 3.** Capacidad antioxidante durante las diferentes etapas de la digestión gastrointestinal *in vitro* (GI) determinada mediante el método FRAP en subproductos frescos de naranja (*Citrus sinensis* L.). Se presenta una fase inicial (F-IN), una fase después de la digestión gástrica (DG), una fase intestinal sin dializar (FI-S) y una fase intestinal dializada (FI-D). Las letras diferentes muestran diferencia significativa de la estabilidad de la capacidad antioxidante entre las diferentes etapas de la digestión.

Finalmente en la FI-D las fracciones de mayor estabilidad antioxidante fueron albedo y flavedo ambas fracciones presentaron un valor del 26 %, valor inferior al 39 % encontrado por Bouayed, et al. (2011) en la variedad de manzana Jonagold.

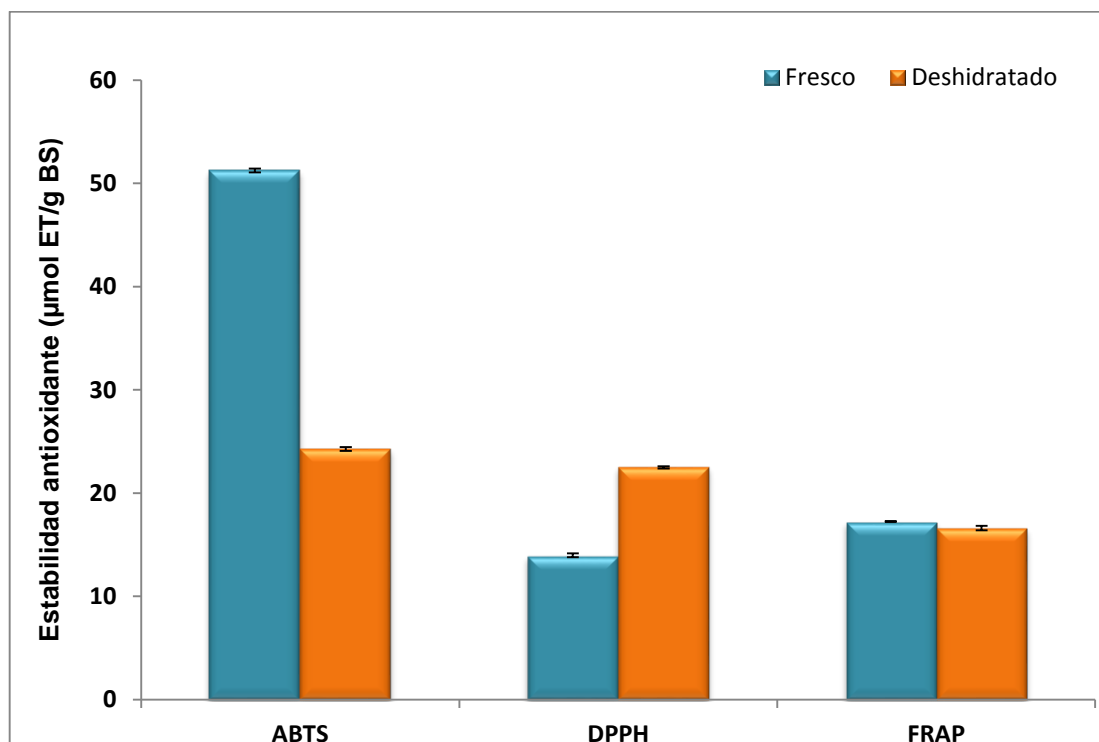
La capacidad antioxidante de las fracciones de albedo y flavedo durante la FI-D puede ser ocasionada por compuestos fenólicos que se mantienen estables durante esta fase como ácido cafeíco, ácido p-cumarico y hesperidina los cuales fueron localizados en la piel de la naranja dulce *Citrus sinensis* Biondo comuna y Osbeck (Bocco et al. 1998; Di Mauro, Fallico, Passerini, Rapisarda, & Maccarone, 1999), estos componentes fenólicos también fueron encontrados durante la FI-D en el análisis de fruta fresca chokeberries negros y en la variedad de manzana malinowka (Tarko, Duda-Chodak, & Tuszyński, 2009). La hesperidina fue encontrada en la FI-D en la evaluación de jugo de naranja *Citrus sinensis* (Gil-Izquierdo, Zafrilla, & Tomás-Barberán, 2002) en jugo de naranja doméstico, industrial y pasteurizado (Gil-Izquierdo, Gil, Tomás-Barberán, & Ferreres, 2003), lo que advertiría que estos compuestos no son degradados durante las diferentes fases de la GI y estarían presentes en fracciones como albedo y flavedo.

#### **4.1.4. Análisis de la estabilidad antioxidante de subproducto completo deshidratado.**

El subproducto completo deshidratado mostró un efecto de reducción en la estabilidad antioxidante durante la DG, la cual fue menor en la FI-S y FI-D. Para la comparación del efecto de la GI de la estabilidad antioxidante de subproducto completo fresco y subproducto completo deshidratado únicamente se tomó en cuenta las fracciones dializadas (FI-D). En la Gráfica 4, se muestra la estabilidad antioxidante de la fase intestinal dializada (FI-D) del subproducto completo de naranja (*Citrus sinensis* L.) fresco y deshidratado mediante los métodos de ABTS, DPPH y FRAP.

En el ensayo ABTS el valor encontrado de estabilidad antioxidante en la FI-D del subproducto completo deshidratado fue de 24 %, valor inferior al 33 % encontrado por Kamiloglu & Capanoglu, (2013) en el estudio de la bioaccesibilidad *in vitro* de polifenoles en higos deshidratados color amarillo (*Ficus carica* L.), mediante el ensayo ABTS. En la FI-D el valor de estabilidad antioxidante de subproducto completo deshidratado mediante el ensayo DPPH fue de 22 %, valor superior al encontrado por Kamiloglu & Capanoglu, (2013) en higos deshidratados color púrpura, el cual no presentó actividad antioxidante. Finalmente el valor encontrado de estabilidad antioxidante del subproducto completo deshidratado en la FI-D mediante el ensayo

FRAP fue de 17 %, valor inferior al 40 % al encontrado por Kamiloglu & Capanoglu, (2013) en higos deshidratados color púrpura.



**Gráfica 4.** Estabilidad antioxidante de la fase intestinal dializada (FI-D) fresca comparada con la fase intestinal dializada (FI-D) deshidratada mediante los métodos ABTS, DPPH y FRAP de subproducto completo de naranja (*Citrus sinensis* L.).

En el método ABTS la capacidad antioxidante del subproducto completo fresco fue mayor al subproducto deshidratado. La reducción de la estabilidad antioxidante del dializado deshidratado, frente al dializado fresco podría atribuirse a que según Wojdyło, Figiel, & Oszmiański, (2009) describe que la deshidratación produciría una reducción de la actividad antioxidante de algunos compuestos fenólicos, que explicaría que los resultados obtenidos en este estudio seguirían esta tendencia, que los subproductos frescos poseen mayor capacidad antioxidante que los subproductos deshidratados. Esto coincidiría con lo reportado por Kamiloglu & Capanoglu, (2013) en la investigación de la bioaccesibilidad *in vitro* de polifenoles e higos deshidratados y frescos *Ficus carica* L. donde explica que el secado previo a que fueron sometidos los frutos puede ser el causante de la reducción de la capacidad antioxidante de algunos compuestos fenólicos como la rutina, también encontrada en la piel de diferentes tipos de naranja *Citrus sinensis* L. (Wang, Chuang, & Hsu, 2008).



El dializado deshidratado presentó mayor estabilidad antioxidante que el dializado fresco en el método DPPH, pese a que el subproducto completo deshidratado tuvo menor capacidad antioxidante que el subproducto completo fresco. En el método FRAP la capacidad antioxidante del subproducto completo deshidratado también fue menor al subproducto completo fresco, pero la estabilidad antioxidante se mantuvo igual en el dializado fresco y dializado deshidratado. Una explicación de estos resultados podrían ser a que el subproducto completo deshidratado presentaría compuestos fenólicos que aumentarían o serían resistentes a la temperatura de la deshidratación (Wojdyło et al., 2009), que coincidiría con lo reportado por Kamiloglu & Capanoglu, (2013) en la investigación de la bioaccesibilidad *in vitro* de polifenoles higos deshidratados y frescos (*Ficus carica* L.), donde menciona que el efecto del secado tuvo un impacto positivo en la bioaccesibilidad de ácidos fenólicos como el ácido clorogénico, encontrado en el análisis de compuestos fenólicos orgánicos y capacidad antioxidante del jugo de naranja y vino de naranja (Kelebek, Selli, Canbas, & Cabaroglu, 2009).

## CONCLUSIONES

- Los resultados obtenidos en el presente estudio del efecto de la digestión gastrointestinal *in vitro*, en la actividad antioxidante de los subproductos frescos de naranja (*Citrus sinensis* L.), demostró que albedo, flavedo y subproducto completo fueron los subproductos de mayor biodisponibilidad durante la digestión, en cambio el de menor biodisponibilidad fue pulpa agotada.
- En albedo la digestión *in vitro* redujo la capacidad antioxidante en DPPH en un 84 %, ABTS en un 23% y FRAP en un 74 %. En flavedo también causó una disminución de la capacidad antioxidante en ABTS del 40 %, DPPH del 85 % y FRAP del 74 %.
- En el subproducto completo la digestión *in vitro* produjo una reducción de la capacidad antioxidante en ABTS del 90 %, DPPH del 86 % y FRAP del 87 % y finalmente en pulpa agotada causó una disminución de la capacidad antioxidante en ABTS del 49 %, DPPH del 86 % y FRAP del 83 %.
- El subproducto completo deshidratado en DPPH mostró mayor biodisponibilidad que el subproducto completo fresco. La biodisponibilidad de en FRAP se mantuvo igual en subproducto completo fresco y deshidratado, en ABTS la biodisponibilidad del subproducto completo fresco fue mayor al subproducto completo deshidratado.
- Los subproductos de naranja podrían ser considerados como una fuente de compuestos bioactivos.

## RECOMENDACIONES

- Se recomendaría realizar un análisis cromatográfico de HPLC de una manera individual en los subproductos de naranja, para evaluar el efecto que causaría la digestión gastrointestinal *in vitro*, en los diferentes compuestos fenólicos que serían liberados o degradados durante la digestión.

## BIBLIOGRAFÍA

- Agusti., M. (2003). Citricultura. In *Ediciones-Mundi-Prensa* (segunda ed, pp. 85–86–87). Barcelona-España.
- Alessio, H. M., & Blasi, E. R. (1997). Physical Activity as a Natural Antioxidant Booster and its Effect on a Healthy Life Span. *Research Quarterly for Exercise and Sport*, 68(4), 292–302. <http://doi.org/10.1080/02701367.1997.10608010>
- Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., & Robards, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *The Analyst*, 127(1), 183–198. <http://doi.org/10.1039/b009171p>
- Arnao, M. B., Cano, A., & Acosta, M. (2001). The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry*, 73(2), 239–244. [http://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00324-1](http://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00324-1)
- Aruoma, O. I. (2003). Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 523-524, 9–20. [http://doi.org/10.1016/S0027-5107\(02\)00317-2](http://doi.org/10.1016/S0027-5107(02)00317-2)
- Ayala-Zavala, J. F., Vega-Vega, V., Rosas-Domínguez, C., Palafox-Carlos, H., Villa-Rodriguez, J. a., Siddiqui, M. W., ... González-Aguilar, G. a. (2011). Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Research International*, 44(7), 1866–1874. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.021>
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <http://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Bocco, A., Cuvelier, M., Richard, H., & Berset, C. (1998). Antioxidant Activity and Phenolic Composition of Citrus Peel and Seed Extracts. *J Agric Food Chem.*, 46(12), 2123–2129.
- Bouayed, J., Hoffmann, L., & Bohn, T. (2011). Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chemistry*, 128(1), 14–21. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.052>
- Braddock, R. J. (1995). By-products of citrus fruits. *Food Technology*, 49, 74–77. Retrieved from <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=3662621>
- Brand-Williams, Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 28, S. 25–30.
- Castillo., E, Martínez., I. (2007). Manual de fitoterapia. In *Elsevier Masson* (p. 33). Barcelona-España.
- Di Mauro, A., Fallico, B., Passerini, A., Rapisarda, P., & Maccarone, E. (1999). Recovery of hesperidin from orange peel by concentration of extracts on styrene-divinylbenzene resin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4391–4397. <http://doi.org/10.1021/jf990038z>
- EFSA. (2011). Panel on food additives and nutrient sources added to food (ANS); scientific opinion on the reevaluation of butylated hydroxytoluene BHT (E 321) as a food additive.

- EFSA J.9(10),2392.doi:10.2903/j.efsa.2011.2392, 2015–12–11. Retrieved from Available from:<<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2392.pdf>>.
- EFSA. (2012). Panel on food additives and nutrient sources added to food (ANS); scientific opinion on the reevaluation of butylated hydroxytoluene BHT (E 321) as a food additive. *EFSA J.* 10(3),2588.doi:10.2903/j.efsa.2012.2588., 2015–12–11. Retrieved from Available from:<<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2588.pdf>>.
- Ekmekcioglu, C. (2002). A physiological approach for preparing and conducting intestinal bioavailability studies using experimental systems, 76, 225–230.
- Erejuwa, O. O., Sulaiman, S. a., & Ab Wahab, M. S. (2012). Honey: A novel antioxidant. *Molecules*, 17(4), 4400–4423. <http://doi.org/10.3390/molecules17044400>
- Erlund, I., Meririnne, E., Alfthan, G., & Aro, a. (2001). Plasma kinetics and urinary excretion of the flavanones naringenin and hesperetin in humans after ingestion of orange juice and grapefruit juice. *The Journal of Nutrition*, 131(2), 235–241.
- Evans, P., & Halliwell, B. (2001). Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *British Journal of Nutrition*, 85(S2), S67. <http://doi.org/10.1049/BJN2000296>
- Fang, Y.-Z., Yang, S., & Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 18(10), 872–879. [http://doi.org/10.1016/S0899-9007\(02\)00916-4](http://doi.org/10.1016/S0899-9007(02)00916-4)
- FAO. (2010). “Manejo integral de la Cuenca del Chone, 2015–11–17. Retrieved from <http://www.fao.org/climatechange/29160-04ae09ff2bd186fd2c99d144d32aa13c.pdf>
- FAO. (2012). Frutos citricos - estadísticas anuales 2012, 2015–11–23. Retrieved from , from <http://www.fao.org/economic/est/est-commodities/citricos/es/>
- Fernández-López, J., Fernández-Ginés, J. M., Aleson-Carbonell, L., Sendra, E., Sayas-Barberá, E., & Pérez-Alvarez, J. a. (2004). Application of functional citrus by-products to meat products. *Trends in Food Science & Technology*, 15(3-4), 176–185. <http://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.08.007>
- Gil-Izquierdo, A., Gil, M. I. M. I., Tomas-Barberan, F. A., & Ferreres, F. (2003). Influence of industrial processing on orange juice flavanone solubility and transformation to chalcones under gastrointestinal conditions. *J Agric Food Chem.*, 51(10), 3024–3028. <http://doi.org/10.1021/jf020986r>
- Gil-Izquierdo, A., Zafrilla, P., & Tomás-Barberán, F. a. (2002). An in vitro method to simulate phenolic compound release from the food matrix in the gastrointestinal tract. *European Food Research and Technology*, 214(2), 155–159. <http://doi.org/10.1007/s00217-001-0428-3>
- Goñi, Isabel., Hervert-Hernandez, D. (2011). By products from plant foods are source of dietary fibre and antioxidants. *Phytochemicals-Bioactives and Impact on Health*, 95-116. Retrieved from <http://www.intechopen.com/books/phytochemicals-bioactivities-and-impact-on-health/by-products-from-plant-foods-are-sources-of-dietary-fibre-and-antioxidants>
- Grupo Latito Editores S.A. (2004). Cultivo y explotación de cítricos. In *Editorial Grupo Latino* (pp. 27–28–29–30). Colombia.
- Halliwell, B. (2001). Free radicals and other reactive species in disease. *Encyclopedia of Life Sciences*, 1–7. <http://doi.org/10.1038/npg.els.0003913>

- INEC. (2014). Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC) - 2014, 2015–12–08. <http://doi.org/10.4206/agrosur.1974.v2n2-09>
- Jeong, S.-M., Kim, S.-Y., Kim, D.-R., Jo, S.-C., Nam, K. C., Ahn, D. U., & Lee, S.-C. (2004). Effect of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(11), 3389–3393. <http://doi.org/10.1021/jf049899k>
- Jha, D. K., Panda, L., Ramaiah, S., & Anbarasu, A. (2014). Evaluation and Comparison of Radical Scavenging Properties of Solvent Extracts from *Justicia adhatoda* Leaf Using DPPH Assay. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 174(7), 2413–25. <http://doi.org/10.1007/s12010-014-1164-z>
- Jing, L., Lei, Z., Zhang, G., Pilon, A. C., Huhman, D. V., Xie, R., ... Sumner, L. W. (2015). Metabolite profiles of essential oils in citrus peels and their taxonomic implications. *Metabolomics*, 952–963. <http://doi.org/10.1007/s11306-014-0751-x>
- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J.-P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., & Heinonen, M. (1999). Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 3954–3962. <http://doi.org/10.1021/jf990146l>
- Kamiloglu, S., & Capanoglu, E. (2013). Investigating the in vitro bioaccessibility of polyphenols in fresh and sun-dried figs (*Ficus carica* L.). *International Journal of Food Science and Technology*, 48(12), 2621–2629. <http://doi.org/10.1111/ijfs.12258>
- Kelebek, H., Selli, S., Canbas, A., & Cabaroğlu, T. (2009). HPLC determination of organic acids, sugars, phenolic compositions and antioxidant capacity of orange juice and orange wine made from a Turkish cv. Kozan. *Microchemical Journal*, 91(2), 187–192. <http://doi.org/10.1016/j.microc.2008.10.008>
- Krasodomska, O., & Jungnickel, C. (2015). Viability of fruit seed oil O/W emulsions in personal care products. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 481, 468–475. <http://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2015.06.022>
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., García-Parilla, M. C., Troncoso, A. M., & Fett, R. (2004). Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. *Ciência E Tecnologia de Alimentos*, 24(4), 691–693. <http://doi.org/10.1590/S0101-20612004000400036>
- Liu, Y., Heying, E., & Tanumihardjo, S. a. (2012). History, Global Distribution, and Nutritional Importance of Citrus Fruits. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(6), 530–545. <http://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2012.00201.x>
- Lopes, R., Oliveira, T. T. De, Nagem, T. J., & Pinto, A. D. S. (2000). Farmacologia de flavonóides no controle hiperlipidêmico em animais experimentais. *Bioteχνologia Ciência & Desenvolvimento*, (3), 18–22.
- Lu, Z. H., Zhou, Z. Q., & Xie, R. J. (2011). Molecular Phylogeny of the “True Citrus Fruit Trees” Group (Aurantioideae, Rutaceae) as Inferred from Chloroplast DNA Sequence. *Agricultural Sciences in China*, 10(1), 49–57. [http://doi.org/10.1016/S1671-2927\(11\)60306-4](http://doi.org/10.1016/S1671-2927(11)60306-4)
- Ma, Y., Chen, J., Liu, D., & Ye, X. (2009). Simultaneous extraction of phenolic compounds of citrus peel extracts: Effect of ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 16(1), 57–62. <http://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2008.04.012>
- Mäkynen, K., Jitsaardkul, S., Tachasamran, P., Sakai, N., Puranachoti, S., Nirojsinlapachai, N., ... Adisakwattana, S. (2013). Cultivar variations in antioxidant and antihyperlipidemic

- properties of pomelo pulp (*Citrus grandis* [L.] Osbeck) in Thailand. *Food Chemistry*, 139(1-4), 735–743. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.017>
- Marín, F. R., Soler-Rivas, C., Benavente-García, O., Castillo, J., & Pérez-Alvarez, J. a. (2007). By-products from different citrus processes as a source of customized functional fibres. *Food Chemistry*, 100(2), 736–741. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.040>
- Miller, Buettner, G. R., & Aust, S. D. (1990). Transitions metals as catalysis of “ autoxidation” reactions, 8(4), 95–108.
- Miller, D. D., Schrickler, B. R., Rasmussen, R. R., & Van Campen, D. (1981). An in vitro method for estimation of iron availability from meals. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 34(10), 2248–2256.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(December 2003), 211–219. <http://doi.org/10.1287/isre.6.2.144>
- Moyer, R. a., Hummer, K. E., Finn, C. E., Frei, B., & Wrolstad, R. E. (2002). Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus*, and *Ribes*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(3), 519–525. <http://doi.org/10.1021/jf011062r>
- Pérez-Nájera, Lugo-Cervantes, G.-L. y D.-T.-S. \*. (2013). Extracción de compuestos fenólicos de la cáscara de lima ( *Citrus limetta* Risso ) y detreminación de su actividad antioxidante. *Revista de Ciencias Biológicas Y de La Salud*, 3(18-22 (2013)), 18–22.
- Peterson, Dwyer, J., Stern, F., England, N., & Mayer, J. (1998). Pi1 so271-5317(98)00169-9. *Science*, 18(12), 1995–2018.
- Peterson, J. J., Dwyer, J. T., Beecher, G. R., Bhagwat, S. a., Gebhardt, S. E., Haytowitz, D. B., & Holden, J. M. (2006). Flavanones in oranges, tangerines (mandarins), tangors, and tangelos: a compilation and review of the data from the analytical literature. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, S66–S73. <http://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.12.006>
- Pretel, M. T., Botella, M. a., J., Z. A. A. P., & Serrano, M. (2004). Antioxidative activity and general fruit characteristics in different traditional orange [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] varieties. *European Food Research and Technology*, 219(5), 474–478. <http://doi.org/10.1007/s00217-004-0942-1>
- Prior Guohua & Cao, R. L. (1999). Forum : Oxidative Stress Status In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Science*, 27(99), 1173–1181.
- Prior, R., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 4290–4302.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231–1237. [http://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](http://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rodríguez-Roque, M. J., Rojas-Graü, M. A., Elez-Martínez, P., & Martín-Belloso, O. (2013). Changes in vitamin C, phenolic, and carotenoid profiles throughout in vitro gastrointestinal digestion of a blended fruit juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(8), 1859–1867. <http://doi.org/10.1021/jf3044204>

- Saura-Calixto, F. (2007). Methodology for the evaluation of antioxidant. *Departemento de Metabolismo Y Nutrición, Instituto Del Frío, CSIC, S8-0131*, 1150–1153.
- Silalahi, J. (2002). Anticancer and health protective properties of citrus fruit components. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 11(1), 79–84. <http://doi.org/10.1046/j.1440-6047.2002.00271.x>
- Tagliazucchi, D., Verzelloni, E., Bertolini, D., & Conte, A. (2010). In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chemistry*, 120(2), 599–606. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.030>
- Tarko, T., Duda-Chodak, a, & Tuszyński, T. (2009). Simulation of Phenolic Compounds Transformations and Interactions in an in Vitro Model of the Human Alimentary Tract. *Food Science and Technology International*, 9862(4), 1082013209339861–. <http://doi.org/10.1177/1082013209339861>
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Hawkins Byrne, D. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 669–675. <http://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003>
- Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), 1–40. <http://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.12.009>
- Vasco, C., Ruales, J., & Kamal-Eldin, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, 111(4), 816–823. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.054>
- Wang, Y.-C., Chuang, Y.-C., & Hsu, H.-W. (2008). The flavonoid, carotenoid and pectin content in peels of citrus cultivated in Taiwan. *Food Chemistry*, 106(1), 277–284. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.05.086>
- Wojdyło, A., Figiel, A., & Oszmiański, J. (2009). Effect of drying methods with the application of vacuum microwaves on the bioactive compounds, color, and antioxidant activity of strawberry fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(4), 1337–1343. <http://doi.org/10.1021/jf802507j>
- Wu, X., Beecher, G. R., Holden, J. M., Haytowitz, D. B., Gebhardt, S. E., & Prior, R. L. (2004). Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(12), 4026–4037. <http://doi.org/10.1021/jf049696w>
- Xu, Q., Chen, L. L., Ruan, X., Chen, D., Zhu, a, Chen, C., ... Ruan, Y. (2013). The draft genome of sweet orange (*Citrus sinensis*). *Nature Genetics*, 45(1), 59–66. <http://doi.org/10.1038/ng.2472>



## **ANEXOS**

## Anexo 1. Preparación de reactivos y enzimas digestivas

### Ácido Clorhídrico HCl 0.1 N 100 ml

36,45 g HCl.....1 N

X= **3,64 g HCl** 0,1 N

3,64 g HCl.....1000 ml

X= **0,36 g HCl** 100 ml

0,36 g HCl.....32 %

X= **1,12 g HCl** 100 %

$$D = \frac{m}{v}$$

$$x = \frac{1.12 \text{ g}}{1.19 \text{ g/ml}} = \mathbf{0,94 \text{ ml HCl}}$$

### Ácido Clorhídrico HCl 6 M 100 ml

36,45 g HCl.....1 N

X= **218,7 g HCl** 6 N

218,7 g HCl.....1000 ml

X= **21,87 g HCl** 100 ml

21,87 g HCl.....32 %

X= **68,34 g HCl** 100 %

$$D = \frac{m}{v}$$

$$x = \frac{68.34 \text{ g}}{1.19 \text{ g/ml}} = \mathbf{57,42 \text{ ml HCl}}$$

### Hidróxido de Sodio (NaOH 0,5 N) 100 ml

40 g NaOH.....1 N

X= **20 g NaOH** 0,5 N

20 g NaOH.....1000 ml

X= **2 g NaOH** 100 ml

### Bicarbonato de Sodio (NaHCO<sub>3</sub> 0,71 M) 100 ml

84 g NaOH.....1 M

X= **59,64 g NaHCO<sub>3</sub>** 0,71 M

59,64 g NaOH.....1000 ml

X= **5,96 g NaHCO<sub>3</sub>** 100 ml

### **Preparación de enzimas digestivas**

#### **Cálculo de Pepsina**

25 g pepsina.....100 ml

X= **11,25 g pepsina** 45 ml

#### **Cálculo de Pancreatina**

Cálculo de Bicarbonato de sodio

0,84 g NaHCO<sub>3</sub>.....100 ml

X= **0,44 g NaHCO<sub>3</sub>** 55 ml

Cálculo sales biliares

2,5 sales biliares.....100 ml

X= **1,37 g sales biliares** 55 ml

Cálculo de pancreatina

0,4 pancreatina.....100 ml

X= **0,22 g pancreatina** 55 ml

**Anexo 2. Datos de cuantificación de ABTS**

**Digestión gástrica**

**Subproductos frescos**

<b>Muestras</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Co (umol/l)</b>	<b>W de muestra (g)</b>	<b>V (ml)</b>	<b>Cf (umol/g)</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación</b>	<b>%CV</b>
Albedo 1	0,293	<b>581,86</b>	3	46	<b>8,92</b>	8,93	0,01	0,09
Albedo 2	0,293	581,86	3	46	8,92			
Albedo 3	0,292	582,76	3	46	8,94			
Flavedo 1	0,447	442,68	3	46	6,79	6,77	0,02	0,31
Flavedo 2	0,450	439,97	3	46	6,75			
Flavedo 3	0,448	441,78	3	46	6,77			
Subproducto completo 1	0,513	383,04	3	46	5,87	5,92	0,09	1,56
Subproducto completo 2	0,502	392,98	3	46	6,03			
Subproducto completo 3	0,514	382,13	3	46	5,86			
Pulpa agotada 1	0,728	188,73	3	46	2,89	2,91	0,01	0,48
Pulpa agotada 2	0,727	189,63	3	46	2,91			
Pulpa agotada 3	0,726	190,54	3	46	2,92			

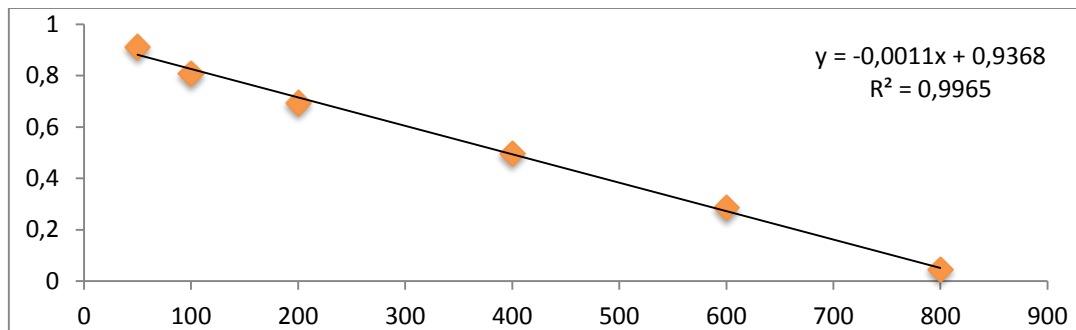
**Subproducto completo deshidratado**

<b>Muestras</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Co (umol/l)</b>	<b>W de muestra (g)</b>	<b>V (ml)</b>	<b>Cf (umol/g)</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación</b>	<b>%CV</b>
Subproducto completo 1	0,198	667,72	2	46	<b>15,36</b>	15,41	0,08	0,51
Subproducto completo 2	0,197	668,62	2	46	15,38			
Subproducto completo 3	0,191	674,04	2	46	15,50			

### Curva de calibración ABTS digestión gástrica

Estándar	Alícuota (ml )	Aforo (mL)	Concentración (µM)	Absorbancia
Et 1	0.500	9.5	50	0,911
Et 2	1	9	100	0,808
Et 3	2	8	200	0,693
Et 4	4	6	400	0,498
Et 5	6	4	600	0,286
Et 6	8	2	800	0,046

### Gráfica curva de calibración con Trolox



<b>Pendiente</b>	<b>-0,001106503</b>
<b>Intersección</b>	<b>0,936830349</b>
<b>R</b>	<b>-0,998226667</b>
<b>R²</b>	<b>0,9965</b>

### Ejemplo: cálculo de la actividad antioxidante digestión gástrica ABTS

#### Albedo muestra fresca

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Abs} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

$$C_o = \frac{0,293 - 0,936830349}{-0,001106503} = 581,86 \mu\text{mol/l}$$

$$581,86 \mu\text{mol} \dots\dots\dots 1000 \text{ ml}$$

$$X = 26,76 \mu\text{mol/l} \quad 46 \text{ ml}$$

$$26,76 \mu\text{mol/l} \dots\dots\dots 3 \text{ g}$$

$$X = 8,92 \mu\text{mol/g} \quad 1 \text{ g}$$

**Ejemplo: cálculo de la actividad antioxidante de digestión gástrica ABTS**

**Muestra subproducto deshidratado**

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Abs} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

$$Co = \frac{0,198 - 0,936830349}{-0,001106503} = 667,71 \mu\text{mol/l}$$

667,71  $\mu\text{mol/l}$ .....1000 ml

X= **30,71  $\mu\text{mol/l}$**                       46 ml

30,71  $\mu\text{mol/l}$ .....2 g

X= **15,36  $\mu\text{mol/g}$**                       1 g

**ANEXO 2. Datos de la determinación de ABTS digestión intestinal**

**Muestra Fresca-Sin dializar**

<b>Muestras</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Co (umol/l)</b>	<b>W de muestra (g)</b>	<b>V (ml)</b>	<b>Cf (umol/g)</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación</b>	<b>%CV</b>
Albedo 1	0,236	686	3	27	<b>6,17</b>	6,19	0,16	3
Albedo 2	0,225	697	3	26	6,04			
Albedo 3	0,216	706	3	27	6,35			
Flavedo 1	0,343	579	3	29	5,59	5,42	0,43	8
Flavedo 2	0,385	537	3	32	5,72			
Flavedo 3	0,374	548	3	27	4,93			
Subproducto completo 1	0,621	300	3	25	2,50	2,55	0,12	5
Subproducto completo 2	0,598	323	3	25	2,69			
Subproducto completo 3	0,625	296	3	25	2,47			
Pulpa agotada 1	0,950	0	3	27	0	0	0	0
Pulpa agotada 2	0,938	0	3	27	0			
Pulpa agotada 3	0,958	0	3	28	0			

**Muestra Fresca-Dializada**

<b>Muestras</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Co (umol/l)</b>	<b>W de muestra (g)</b>	<b>V (ml)</b>	<b>Cf (umol/g)</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación</b>	<b>%CV</b>
Albedo 1	0,349	573	3	21	4,01	3,86	0,14	4
Albedo 2	0,345	577	3	20	3,84			
Albedo 3	0,362	560	3	20	3,73			
Flavedo 1	0,320	602	3	20	4,01	3,78	0,20	5
Flavedo 2	0,343	579	3	19	3,67			
Flavedo 3	0,372	550	3	20	3,66			
Subproducto completo 1	0,580	341	3	21	2,39	2,60	0,19	7
Subproducto completo 2	0,530	391	3	21	2,74			
Subproducto completo 3	0,555	366	3	22	2,68			
Pulpa agotada 1	0,850	70	3	21	0,49	0,45	0,05	10
Pulpa agotada 2	0,863	57	3	21	0,40			
Pulpa agotada 3	0,854	66	3	21	0,46			

**ANEXO 2. Datos de la determinación de ABTS digestión intestinal**

**Subproducto completo deshidratado-Sin dializar**

<b>Muestras</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Co (umol/l)</b>	<b>W de muestra (g)</b>	<b>V (ml)</b>	<b>Cf (umol/g)</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación</b>	<b>%CV</b>
Subproducto completo 1	0,410	512	2	27	6,91	6,54	0,33	5
Subproducto completo 2	0,443	478	2	27	6,46			
Subproducto completo 3	0,457	464	2	27	6,27			

**Subproducto completo deshidratado- Dializado**

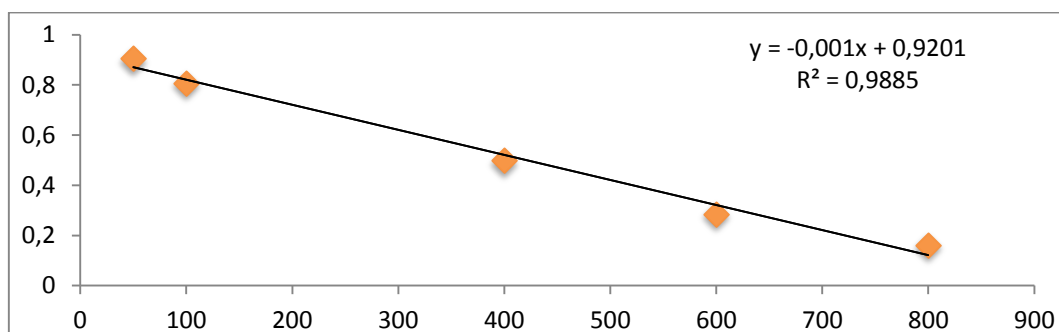
<b>Muestras</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Co (umol/l)</b>	<b>W de muestra (g)</b>	<b>V (ml)</b>	<b>Cf (umol/g)</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación</b>	<b>%CV</b>
Subproducto completo 1	0,191	731	2	21	<b>7,68</b>	7,82	0,19	2
Subproducto completo 2	0,192	730	2	22	8,03			
Subproducto completo 3	0,218	704	2	22	7,74			



### Curva de calibración ABTS fase intestinal

Estándar	Alícuota (ml )	Aforo (mL)	Concentración (µM)	Absorbancia
Et 1	0.500	9.5	50	0,905
Et 2	1	9	100	0,807
Et 3	4	6	400	0,498
Et 4	6	4	600	0,285
Et 5	8	2	800	0,161

### Gráfica curva de calibración con Trolox



<b>Pendiente</b>	<b>-0,0009973</b>
<b>Intersección</b>	<b>0,92014927</b>
<b>R</b>	<b>-0,9942256</b>
<b>R<sup>2</sup></b>	<b>0,9885</b>

### Ejemplo: cálculo de la actividad antioxidante ABTS digestión intestinal

#### Muestra albedo fresco sin dializar

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Abs} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

$$C_o = \frac{0,236 - 0,92014927}{-0,00099731} = 686,96 \mu\text{mol/l}$$

686,96 µmol/l.....1000 ml

X= **18.54 µmol/l**                      27 ml

18,54  $\mu\text{mol/l}$ .....3g

X= **6.17  $\mu\text{mol/g}$**             1 g

**Ejemplo: cálculo de la actividad antioxidante en ABTS digestión intestinal**

**Muestra subproducto completo deshidratado dializado**

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Abs} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

$$C_o = \frac{0,191 - 0,92014927}{-0,00099731} = 731 \mu\text{mol/l}$$

731  $\mu\text{mol/l}$ .....1000 ml

X= **15.84  $\mu\text{mol/l}$**             21 ml

15,35  $\mu\text{mol/l}$ .....2 g

X= **7.68  $\mu\text{mol/g}$**             1 g

**Anexo 3. Datos de cuantificación de DPPH**

**Digestión gástrica**

**Muestras frescas**

Muestras	Absorbancia	Co (umol/l)	W de muestra (g)	V (ml)	Cf (umol/g)	Promedio	Desviación	%CV
Albedo 1	0,450	541,37	3	46	<b>8,30</b>	8,34	0,07	0,82
Albedo 2	0,450	541,37	3	46	8,30			
Albedo 3	0,442	549,08	3	46	8,42			
Flavedo 1	0,342	645,41	3	46	9,90	9,69	0,17	1,81
Flavedo 2	0,363	625,18	3	46	9,59			
Flavedo 3	0,362	626,15	3	46	9,60			
Subproducto completo 1	0,472	520,18	3	46	7,98	7,94	0,07	0,92
Subproducto completo 2	0,48	512,47	3	46	7,86			
Subproducto completo 3	0,471	521,14	3	46	7,99			
Pulpa 1	0,601	395,90	3	46	6,07	5,95	0,16	2,77
Pulpa 2	0,605	392,05	3	46	6,01			
Pulpa 3	0,622	375,67	3	46	5,76			

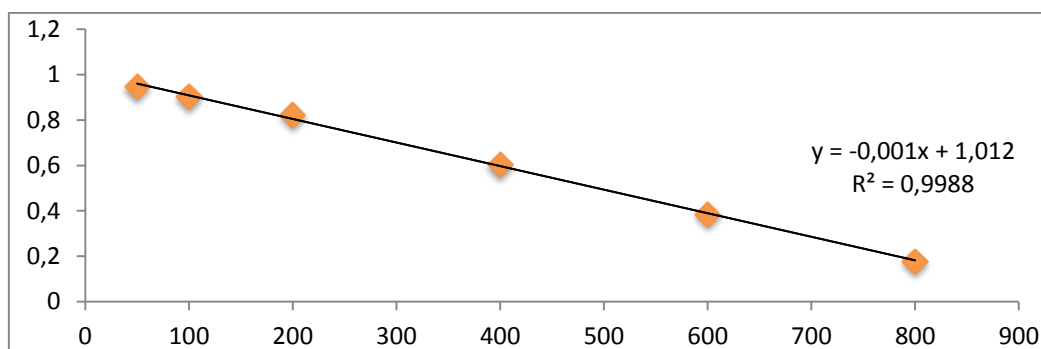
**Subproducto completo deshidratado**

Muestras	Absorbancia	Co (umol/l)	W de muestra (g)	V (ml)	Cf (umol/g)	Promedio	Desviación	%CV
Flavedo 3	0,213	769,69	2	46	17,70	15,44	0,25	1,63
Subproducto completo 1	0,307	679,13	2	46	<b>15,62</b>			
Subproducto completo 2	0,328	658,90	2	46	15,15			
Subproducto completo 3	0,31	676,24	2	46	15,55			

### Curva de calibración DPPH digestión gástrica

Estándar	Alícuota (ml)	Aforo (mL)	Concentración (µM)	Absorbancia
Et 1	0.500	9.5	50	0,948
Et 2	1	9	100	0,903
Et 3	2	8	200	0,822
Et 4	4	6	400	0,604
Et 5	6	4	600	0,385
Et 6	8	2	800	0,178

### Gráfica curva de calibración con Trolox



Pendiente	-0,00103804
Intersección	1,011964185
R	-0,999406819
R <sup>2</sup>	0,9988

### Ejemplo: cálculo de la actividad antioxidante digestión gástrica DPPH

#### Albedo muestra fresca

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Abs} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

$$C_o = \frac{0,450 - 1,011964185}{-0,00103804} = 541,37 \mu\text{mol/l}$$

$$541,37 \mu\text{mol/l} \dots\dots\dots 1000 \text{ ml}$$

$$X = 24,90 \mu\text{mol/l} \quad 46 \text{ ml}$$

$$24,90 \mu\text{mol/l} \dots\dots\dots 3 \text{ g}$$

$$X = 8,30 \mu\text{mol/g} \quad 1 \text{ g}$$

**Ejemplo: cálculo de la actividad antioxidante digestión gástrica DPPH**

**Subproducto completo deshidratado**

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Abs} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

$$C_0 = \frac{0,307 - 1,01196418}{-0,00103804} = \mu\text{mol/l}$$

$$679,13 \mu\text{mol/l} \dots\dots\dots 1000 \text{ ml}$$

$$X = 31,23 \mu\text{mol/l} \quad 46 \text{ ml}$$

$$31,46 \mu\text{mol/l} \dots\dots\dots 2 \text{ g}$$

$$X = 15,62 \mu\text{mol/g} \quad 1 \text{ g}$$

**ANEXO 3. Datos de la determinación de DPPH digestión intestinal**

**Muestras Frescas-Sin dializar**

<b>Muestras</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Co (umol/l)</b>	<b>W de muestra (g)</b>	<b>V (ml)</b>	<b>Cf (umol/g)</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación</b>	<b>%CV</b>
Albedo 1	0,302	631	3	27	<b>5,68</b>	5,48	0,19	4
Albedo 2	0,302	631	3	26	5,47			
Albedo 3	0,349	588	3	27	5,29			
Flavedo 1	0,297	636	3	29	6,15	6,35	0,52	8
Flavedo 2	0,281	651	3	32	6,94			
Flavedo 3	0,267	663	3	27	5,97			
Subproducto completo 1	0,448	497	3	25	4,14	4,11	0,09	2
Subproducto completo 2	0,465	481	3	25	4,01			
Subproducto completo 3	0,443	502	3	25	4,18			
Pulpa 1	0,224	703	3	27	6,33	6,23	0,15	2
Pulpa 2	0,256	674	3	27	6,06			
Pulpa 3	0,254	675	3	28	6,30			

**Muestras Frescas-Dializadas**

<b>Muestras</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Co (umol/l)</b>	<b>W de muestra (g)</b>	<b>V (ml)</b>	<b>Cf (umol/g)</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación</b>	<b>%CV</b>
Albedo 1	0,410	532	3	21	3,72	3,56	0,14	4
Albedo 2	0,421	522	3	20	3,48			
Albedo 3	0,420	523	3	20	3,49			
Flavedo 1	0,377	562	3	20	3,75	3,70	0,16	4
Flavedo 2	0,385	555	3	19	3,51			
Flavedo 3	0,365	573	3	20	3,82			
Subproducto completo 1	0,517	434	3	21	3,04	2,84	0,19	7
Subproducto completo 2	0,577	378	3	21	2,65			
Subproducto completo 3	0,568	387	3	22	2,84			
Pulpa 1	0,541	412	3	21	2,88	2,97	0,16	5
Pulpa 2	0,543	410	3	21	2,87			
Pulpa 3	0,499	450	3	21	3,15			

**ANEXO 3. Datos de la determinación de DPPH digestión intestinal**

**Subproducto completo deshidratado-Sin dializar**

<b>Muestras</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Co (umol/l)</b>	<b>W de muestra (g)</b>	<b>V (ml)</b>	<b>Cf (umol/g)</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación</b>	<b>%CV</b>
Subproducto completo 1	0,270	661	2	27	8,92	8,65	0,37	4
Subproducto completo 2	0,325	610	2	27	8,24			
Subproducto completo 3	0,279	652	2	27	8,81			

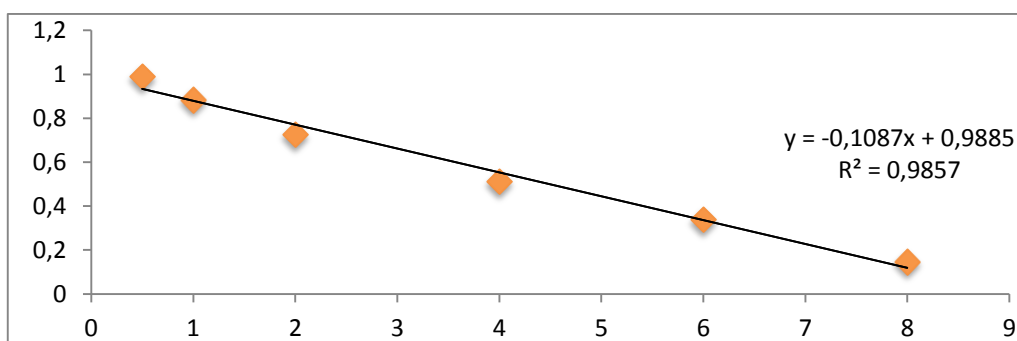
**Subproducto completo deshidratado-Dializado**

<b>Muestras</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Co (umol/l)</b>	<b>W de muestra (g)</b>	<b>V (ml)</b>	<b>Cf (umol/g)</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación</b>	<b>%CV</b>
Subproducto completo 1	0,426	517	2	21	<b>5,43</b>	5,32	0,11	2
Subproducto completo 2	0,474	473	2	22	5,20			
Subproducto completo 3	0,463	483	2	22	5,32			

### Curva de calibración DPPH fase intestinal

Estándar	Alícuota (ml)	Aforo (mL)	Concentración (µM)	Absorbancia
Et 1	0.500	9.5	50	0,989
Et 2	1	9	100	0,883
Et 3	2	8	200	0,726
Et 4	4	6	400	0,511
Et 5	6	4	600	0,339
Et 6	8	2	800	0,145

### Gráfica curva de calibración con trolox



Pendiente	-0,001087446
Intersección	0,988501414
R	-0,992842873
R²	0,9857

Ejemplo: de cálculo de la actividad antioxidante en DPPH digestión intestinal.

#### Muestra fresca albedo sin dializar

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Abs} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

$$Co = \frac{0,302 - 0,988501414}{-0,001087446} = 631 \mu\text{mol/l}$$

631 µmol/l.....1000 ml

X= 17.04 µmol/l                      27 ml

17,04 µmol/l.....3g



$$X = 5.68 \mu\text{mol/g} \quad 1 \text{ g}$$

**Ejemplo: de cálculo de la actividad antioxidante en DPPH digestión intestinal.**

**Subproducto completo deshidratado dializado**

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Abs} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

$$C_o = \frac{0,426 - 0,988501414}{-0,001087446} = 517.31 \mu\text{mol/l}$$

$$517,33 \mu\text{mol/l} \dots\dots\dots 1000 \text{ ml}$$

$$X = 13.65 \mu\text{mol/l} \quad 21 \text{ ml}$$

$$10,86 \mu\text{mol/l} \dots\dots\dots 2 \text{ g}$$

$$X = 5.43 \mu\text{mol/g} \quad 1 \text{ g}$$

**Anexo 4. Datos de cuantificación de FRAP**

**Digestión gástrica**

**Muestras frescas**

<b>Muestras</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Co (umol/l)</b>	<b>W de muestra (g)</b>	<b>V (ml)</b>	<b>Cf (umol/g)</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación</b>	<b>%CV</b>
Albedo 1	0,676	282,65	3	46	<b>13,00</b>	12,96	0,04	0,27
Albedo 2	0,673	281,15	3	46	12,93			
Albedo 3	0,674	281,65	3	46	12,96			
Flavado 1	0,813	351,17	3	46	16,15	16,22	0,12	0,74
Flavado 2	0,813	351,17	3	46	16,15			
Flavado 3	0,822	355,67	3	46	16,36			
Subproducto completo 1	0,54	214,64	3	46	9,87	9,82	0,07	0,75
Subproducto completo 2	0,539	214,14	3	46	9,85			
Subproducto completo 3	0,534	211,64	3	46	9,74			
Pulpa 1	0,419	154,12	3	46	7,09	7,12	0,03	0,37
Pulpa 2	0,421	155,12	3	46	7,14			
Pulpa 3	0,421	155,12	3	46	7,14			

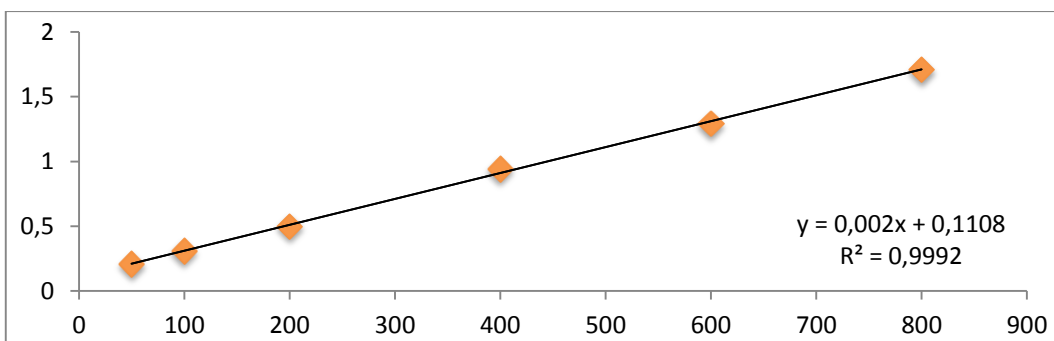
**Subproducto completo deshidratado**

<b>Muestras</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Co (umol/l)</b>	<b>W de muestra (g)</b>	<b>V (ml)</b>	<b>Cf (umol/g)</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación</b>	<b>%CV</b>
Subproducto completo 1	0,954	421,68	2	46	<b>29,10</b>	29,16	0,07	0,24
Subproducto completo 2	0,956	422,68	2	46	29,16			
Subproducto completo 3	0,958	423,68	2	46	29,23			

### Curva de calibración FRAP fase gástrica

Estándar	Alícuota (ml)	Aforo (mL)	Concentración (µM)	Absorbancia
Et 1	0.500	9.5	50	0,209
Et 2	1	9	100	0,309
Et 3	2	8	200	0,50
Et 4	4	6	400	0,942
Et 5	6	4	600	1,293
Et 6	8	2	800	1,711

### Gráfica curva de calibración con trolox



<b>Pendiente</b>	<b>0,001999585</b>
<b>Intersección</b>	<b>0,110815269</b>
<b>R</b>	<b>0,999600472</b>
<b>R²</b>	<b>0,9992</b>

Ejemplo: cálculo de la actividad antioxidante digestión gástrica FRAP.

#### Albedo muestra fresca

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Abs} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

$$C_o = \frac{0,676 - 0,110815269}{0,001999585} = 282,65 \mu\text{mol/l}$$

282,65 µmol/l.....1000 ml

X= **13 µmol/l**                      46 ml

13.....3 g

$$X = 4.33 \mu\text{mol/g} \quad 1 \text{ g}$$

$$X = 4,33 \times 3 (\text{dilución}) = 13 \mu\text{mol/g}$$

**Ejemplo: cálculo de la actividad antioxidante digestión gástrica FRAP.**

**Muestra subproducto completo deshidratado**

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Abs} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

$$C_o = \frac{0,954 - 0,110815269}{0,001999585} = 421,69 \mu\text{mol/l}$$

$$421,68 \mu\text{mol/l} \dots\dots\dots 1000 \text{ ml}$$

$$X = 19,39 \mu\text{mol/l} \quad 46 \text{ ml}$$

$$15,73 \mu\text{mol/l} \dots\dots\dots 2 \text{ g}$$

$$X = 9,69 \mu\text{mol/g} \quad 1 \text{ g}$$

$$X = 9,69 \times (\text{dilución}) 3 = 29,10 \mu\text{mol/g}$$

**ANEXO 4. Datos de la determinación de FRAP digestión intestinal**

**Muestras frescas sin dializar**

<b>Muestras</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Co (umol/l)</b>	<b>W de muestra (g)</b>	<b>V (ml)</b>	<b>Cf (umol/g)</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación</b>	<b>%CV</b>
Albedo 1	0,729	317,09	3	27	<b>8,56</b>	8,80	0,32	3,63
Albedo 2	0,761	333,66	3	26	8,68			
Albedo 3	0,772	339,35	3	27	9,16			
Flavado 1	0,748	326,93	3	29	9,48	9,38	0,51	5,47
Flavado 2	0,75	327,96	3	30	9,84			
Flavado 3	0,748	326,93	3	27	8,83			
Subproducto completo 1	0,441	167,99	3	25	4,20	4,28	0,11	2,57
Subproducto completo 2	0,444	169,54	3	25	4,24			
Subproducto completo 3	0,457	176,27	3	25	4,41			
Pulpa 1	0,263	75,83	3	27	2,05	2,11	0,07	3,25
Pulpa 2	0,266	77,39	3	27	2,09			
Pulpa 3	0,267	77,91	3	28	2,18			

**Muestras frescas dializadas**

<b>Muestras</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Co (umol/l)</b>	<b>W de muestra (g)</b>	<b>V (ml)</b>	<b>Cf (umol/g)</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación</b>	<b>%CV</b>
Albedo 1	0,330	110,52	3	21	2,32	2,21	0,11	4,89
Albedo 2	0,32	105,34	3	20	2,11			
Albedo 3	0,328	109,49	3	20	2,19			
Flavado 1	0,532	215,10	3	20	4,30	4,43	0,17	3,81
Flavado 2	0,561	230,11	3	19	4,37			
Flavado 3	0,563	231,15	3	20	4,62			
Subproducto completo 1	0,301	95,51	3	21	2,01	2,02	0,04	2,13
Subproducto completo 2	0,299	94,47	3	21	1,98			
Subproducto completo 3	0,298	93,95	3	22	2,07			
Pulpa 1	0,203	44,77	3	21	0,94	0,95	0,03	3,66
Pulpa 2	0,208	47,36	3	21	0,99			
Pulpa 3	0,202	44,25	3	21	0,93			

**ANEXO 4. Datos de la determinación de FRAP de la digestión intestinal**

**Subproducto completo deshidratado sin dializar**

<b>Muestras</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Co (umol/l)</b>	<b>W de muestra (g)</b>	<b>V (ml)</b>	<b>Cf (umol/g)</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación</b>	<b>%CV</b>
Subproducto completo 1	0,842	375,59	2	27	15,21	15,27	0,06	0,41
Subproducto completo 2	0,845	377,14	2	27	15,27			
Subproducto completo 3	0,848	378,70	2	27	15,34			

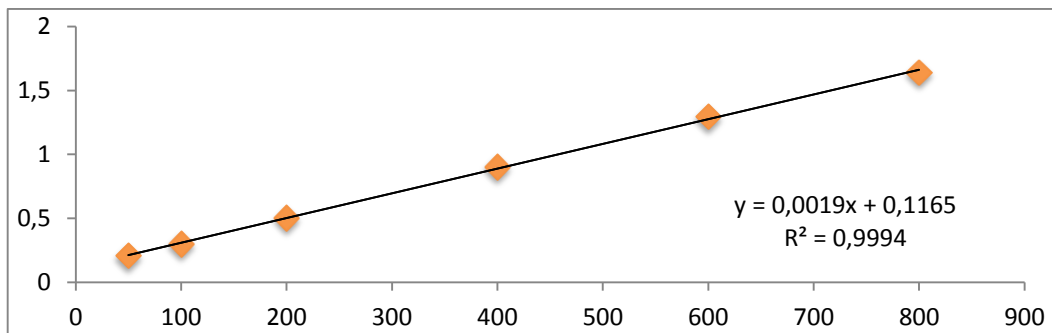
**Subproducto completo deshidratado dializado**

<b>Muestras</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Co (umol/l)</b>	<b>W de muestra (g)</b>	<b>V (ml)</b>	<b>Cf (umol/g)</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación</b>	<b>%CV</b>
Subproducto completo 1	0,565	232,18	2	21	<b>7,31</b>	7,54	0,21	2,72
Subproducto completo 2	0,561	230,11	2	22	7,59			
Subproducto completo 3	0,568	233,74	2	22	7,71			

### Curva de calibración de FRAP fase intestinal

Estándar	Alícuota (ml)	Aforo (mL)	Concentración (µM)	Absorbancia
Et 1	0.500	9.5	50	0,211
Et 2	1	9	100	0,30
Et 3	2	8	200	0,503
Et 4	4	6	400	0,90
Et 5	6	4	600	1,295
Et 6	8	2	800	1,643

### Gráfica curva de calibración con trolox



<b>Pendiente</b>	<b>0,001931574</b>
<b>Intersección</b>	<b>0,116519321</b>
<b>R</b>	<b>0,999712107</b>
<b>R²</b>	<b>0,9994</b>

### Ejemplo: de cálculo de la actividad antioxidante en FRAP digestión intestinal

#### Albedo muestra fresca sin dializar

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Abs} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

$$C_o = \frac{0,729 - 0,116519321}{0,001931574} = 317,09 \mu\text{mol/l}$$

317,09 µmol/l.....1000 ml

X= **8,56 µmol/l**                      27 ml

8,56 µmol/l.....3g

$$X = 2,85 \mu\text{mol/g} \quad 1 \text{ g}$$

$$X = 2,85 \times (\text{dilución}) \quad 3 = 8,56 \mu\text{mol/g}$$

**Ejemplo: de cálculo de la actividad antioxidante en FRAP digestión intestinal.**

**Muestra subproducto completo deshidratado dializado**

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Abs} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

$$C_o = \frac{0,565 - 0,116519321}{0,001931574} = 232,18 \mu\text{mol/l}$$

$$232,18 \mu\text{mol/l} \dots\dots\dots 1000 \text{ ml}$$

$$X = 4,87 \mu\text{mol/l} \quad 21 \text{ ml}$$

$$4,87 \mu\text{mol/l} \dots\dots\dots 2 \text{ g}$$

$$X = 2,43 \mu\text{mol/g} \quad 1 \text{ g}$$

$$X = 2,43 \times (\text{dilución}) \quad 3 = 7,31 \mu\text{mol/g}$$



Anexo 5. Cálculos de estabilidad antioxidante de ABTS

Resumen de resultados de subproductos frescos y subproducto completo deshidratado ABTS

Subproducto	Fracción total 1 ( $\mu\text{mol Eq Trolox/1g}$ )	Digestión gástrica Cf ( $\mu\text{mol/g}$ )	Fase intestinal sin dializar Cf ( $\mu\text{mol/g}$ )	Fase intestinal dializada Cf ( $\mu\text{mol/g}$ )
Albedo	5	8,92	6,17	4,01
	5,07	8,92	6,04	3,84
	4,95	8,94	6,35	3,73
Flavado	6,1	6,79	5,59	4,01
	6,18	6,75	5,72	3,67
	6,42	6,77	4,93	3,66
Subproducto completo	5,13	5,87	2,50	2,39
	5,08	6,03	2,69	2,74
	5,03	5,86	2,47	2,68
Pulpa agotada	4,76	2,89	0,00	0,49
	4,7	2,91	0,00	0,40
	4,81	2,92	0,00	0,46
Subproducto completo deshidratado	32,21	15,36	6,91	7,68
	32,37	15,38	6,46	8,03
	32,06	15,50	6,27	7,74

Cálculos de subproductos frescos Base seca.

Sólidos totales	
Albedo	30,35
Flavado	27,55
Subproducto completo	35,28
Pulpa agotada	22,08

**Subproductos frescos y subproducto completo deshidratado Base Seca**

Subproducto	Fracción total ( $\mu\text{mol Eq Trolox/g BS}$ )	Digestión gástrica ( $\mu\text{mol Eq Trolox/g BS}$ )	Fase intestinal sin dializar ( $\mu\text{mol Eq Trolox/g BS}$ )	Fase intestinal dializada ( $\mu\text{mol Eq Trolox/g BS}$ )
<b>Albedo</b>	16,50	<b>29,41</b>	20,39	12,72
<b>Flavedo</b>	22,63	24,57	19,66	13,72
<b>Pulpa agotada</b>	13,48	8,24	0,00	1,28
<b>Subproducto completo fresco</b>	23,01	26,81	11,56	11,79
<b>Subproducto completo deshidratado</b>	32,21	15,41	6,54	7,82

**Ejemplo:** de cálculo de flavedo fresco a base seca digestión gástrica ABTS.

**Promedio: fracciones de albedo=**  $8,92+8,92+8,94=8,92 \text{ umol/g} \times 100= 892,66 \text{ umol/g} /30,35= \mathbf{29,41 \text{ umol/g BS}}$

**Cálculos de la estabilidad antioxidante subproductos frescos ABTS**

Subproducto	Digestión gástrica %	Fase intestinal sin dializar %	Fase intestinal dializada %
<b>Albedo</b>	<b>178,3</b>	123,6	77,1
<b>Flavedo</b>	108,6	86,9	60,6
<b>Pulpa agotada</b>	61,1	0,0	9,5
<b>Subproducto completo fresco</b>	116,5	50,2	51,3
<b>Subproducto completo deshidratado</b>	47,8	20,3	24,3

**Ejemplo:** de cálculo de estabilidad antioxidante de albedo digestión gástrica.

**Fracción total** 16, 50 umol/g BS.....**100 %**

**Digestión gástrica** 29,41 umol/g BS      **x = 178,3 % estabilidad digestión gástrica.**

**Anexo 6. Cálculos de estabilidad antioxidante DPPH**

**Resumen de resultados de subproductos frescos y subproducto completo deshidratado DPPH**

Subproducto	Fracción total 1 ( $\mu\text{mol Eq Trolox/g}$ )	Digestión gástrica Cf ( $\mu\text{mol/g}$ )	Fase intestinal sin dializar Cf ( $\mu\text{mol/g}$ )	Fase intestinal dializada Cf ( $\mu\text{mol/g}$ )
Albedo	21,67	8,30	5,68	3,72
	21,84	8,30	5,47	3,48
	22,11	8,42	5,29	3,49
Flavado	24	9,90	6,15	3,75
	24,26	9,59	6,94	3,51
	23,91	9,60	5,97	3,82
Subproducto completo	20,6	7,98	4,14	3,04
	20,14	7,86	4,01	2,65
	20,23	7,99	4,18	2,84
Pulpa agotada	21,22	6,07	6,33	2,88
	20,95	6,01	6,06	2,87
	21,22	5,76	6,30	3,15
Subproducto completo deshidratado	23,55	15,62	8,92	5,43
	23,55	15,15	8,24	5,20
	23,82	15,55	8,81	5,32

**Subproductos frescos y subproducto completo deshidratado Base Seca**

Subproducto	Fracción total ( $\mu\text{mol Eq Trolox/g BS}$ )	Digestión gástrica ( $\mu\text{mol Eq Trolox/g BS}$ )	Fase intestinal sin dializar ( $\mu\text{mol Eq Trolox/g BS}$ )	Fase intestinal dializada ( $\mu\text{mol Eq Trolox/g BS}$ )
Albedo	72,1	27,5	18,1	11,7
Flavado	87,3	35,2	<b>23,1</b>	13,4
Pulpa agotada	59,9	16,9	17,7	8,4
Subproducto completo fresco	92,0	36,0	18,6	12,9
Subproducto completo deshidratado	23,6	15,4	8,7	5,3

**Ejemplo:** de cálculo de estabilidad antioxidante fase intestinal sin dializar muestra fresca flavedo

Promedio: fracciones de flavedo 6,15+6,94+5,97=6,35 umol/g x 100= 635,33 umol/g /27,55= **23,06 umol/g BS**

**Cálculos de la estabilidad antioxidante subproductos frescos DPPH**

<b>Subproducto</b>	<b>Digestión gástrica %</b>	<b>Fase intestinal sin dializar %</b>	<b>Fase intestinal dializada %</b>
<b>Albedo</b>	38,13	25,06	16,29
<b>Flavedo</b>	40,30	<b>26,46</b>	15,36
<b>Pulpa agotada</b>	28,15	29,49	14,04
<b>Subproducto completo fresco</b>	39,08	20,23	13,97
<b>Subproducto completo deshidratado</b>	65,32	36,61	22,49

**Ejemplo:** de cálculo de estabilidad antioxidante de flavedo fase intestinal sin dializar.

**Fracción total 87, 3 umol/g BS.....100 %**

**Digestión gástrica 23,1 umol/g BS      x = 26,46 % estabilidad digestión gástrica.**

Anexo 7. Cálculos de estabilidad antioxidante FRAP

Resumen de resultados de subproductos frescos y subproducto completo deshidratado FRAP

Subproducto	Fracción total 1 ( $\mu\text{mol Eq Trolox/1g}$ )	Digestión gástrica Cf ( $\mu\text{mol/g}$ )	Fase intestinal sin dializar Cf ( $\mu\text{mol/g}$ )	Fase intestinal dializada Cf ( $\mu\text{mol/g}$ )
Albedo	8,47	13,00	8,56	2,32
	8,43	12,93	8,68	2,11
	8,29	12,96	9,16	2,19
Flavedo	17,54	16,15	9,48	4,30
	16,98	16,15	9,84	4,37
	17,24	16,36	8,83	4,62
Subproducto completo	11,6	9,87	4,20	2,01
	11,68	9,85	4,24	1,98
	11,82	9,74	4,41	2,07
Pulpa agotada	7,25	3,54	2,05	0,94
	7,14	3,57	2,09	0,99
	7,55	3,57	2,18	0,93
Subproducto completo deshidratado	44,55	29,10	15,21	7,31
	44,36	29,16	15,27	7,59
	47,27	29,23	15,34	7,71

Subproductos frescos y subproducto deshidratado Base Seca

Subproducto	Fracción total ( $\mu\text{mol Eq Trolox/g BS}$ )	Digestión gástrica ( $\mu\text{mol Eq Trolox/g BS}$ )	Fase intestinal sin dializar ( $\mu\text{mol Eq Trolox/g BS}$ )	Fase intestinal dializada ( $\mu\text{mol Eq Trolox/g BS}$ )
Albedo	27,67	42,71	28,99	7,27
Flavedo	62,63	58,88	34,06	16,09
Pulpa agotada	20,73	10,09	5,97	2,71
Subprodu. completo fresco	52,99	44,47	19,39	<b>9,14</b>
Subprodu. Completo deshidratado	45,39	29,16	15,27	7,54

**Ejemplo:** de cálculo de estabilidad antioxidante fase intestinal dializada muestra fresca subproducto completo.

Promedio: fracciones de subproducto completo  $2,01 + 1,98 + 2,07 = 2,02 \text{ umol/g} \times 100 = 202 \text{ umol/g} / 22,08 = 9,14 \text{ umol/g BS}$

**Cálculos de la estabilidad antioxidante subproductos frescos DPPH**

Subproducto	Digestión gástrica %	Fase intestinal sin dializar %	Fase intestinal dializada %
<b>Albedo</b>	154,4	104,8	26,27
<b>Flavedo</b>	94,0	54,4	25,69
<b>Pulpa agotada</b>	48,7	28,8	13,05
<b>Subproducto completo</b>	83,9	36,6	<b>17,26</b>
<b>Subproducto completo deshidratado</b>	64,2	33,6	16,61

**Ejemplo:** de cálculo de estabilidad antioxidante de subproducto completo fase intestinal dializada

**Fracción total** 52, 99 umol/g BS..... **100 %**

**Fase intestinal sin dializar** 9,14 umol/g BS       $x = 17,26 \%$  **estabilidad digestión gástrica.**

## Anexo 8. Resultados diseño experimental.

### ANOVA unidireccional: Albedo Fresco ABTS vs. Etapas

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Etapas	3	42,4800	14,1600	1180,73	0,000
Error	8	0,0959	0,0120		
Total	11	42,5760			

S = 0,1095    R-cuad. = 99,77%    R-cuad. (ajustado) = 99,69%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Etapas	N	Media	Agrupación
Digestión gástrica	3	8,9265	A
Sin dializar	3	6,1898	B
Fracción total	3	5,0067	C
Dializado	3	3,8615	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

### ANOVA unidireccional: Flavedo Fresco ABTS vs. Etapas

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Etapas	3	15,3100	5,1033	81,55	0,000
Error	8	0,5006	0,0626		
Total	11	15,8107			

S = 0,2502    R-cuad. = 96,83%    R-cuad. (ajustado) = 95,65%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Etapas	N	Media	Agrupación
Digestión gástrica	3	6,7693	A
Fracción total	3	6,2333	A
Sin dializar	3	5,4155	B
Dializado	3	3,7804	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

### ANOVA unidireccional: Subproducto completo Fresco ABTS vs. Etapas

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Etapas	3	26,6681	8,8894	577,29	0,000
Error	8	0,1232	0,0154		
Total	11	26,7913			

S = 0,1241    R-cuad. = 99,54%    R-cuad. (ajustado) = 99,37%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Etapas	N	Media	Agrupación
Digestión gástrica	3	5,9194	A
Fracción total	3	5,0800	B
Dializado	3	2,6036	C
Sin dializar	3	2,5526	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

### ANOVA unidireccional: Pulpa agotada Fresco ABTS vs. Etapas

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Etapas	3	44,44258	14,81419	10954,31	0,000
Error	8	0,01082	0,00135		
Total	11	44,45340			

S = 0,03677 R-cuad. = 99,98% R-cuad (ajustado) = 99,97%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Etapas	N	Media	Agrupación
Fracción total	3	4,7567	A
Digestión gástrica	3	2,9077	B
Dializado	3	0,4526	C
Sin dializar	3	0,0000	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

### ANOVA unidireccional: Subproducto completo Deshidratado ABTS vs. Etapas

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Etapas	3	1782,508	594,169	12448,44	0,000
Error	8	0,382	0,048		
Total	11	1782,890			

S = 0,2185 R-cuad. = 99,98% R-cuad (ajustado) = 99,97%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Etapas	N	Media	Agrupación
Fracción total	3	32,215	A
Digestión gástrica	3	30,826	B
Dializado	3	7,818	C
Sin dializar	3	6,545	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

### ANOVA unidireccional: Albedo Fresco DPPH vs. Etapas

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Etapas	3	616,3338	205,4446	7384,63	0,000
Error	8	0,2226	0,0278		
Total	11	616,5564			

S = 0,1668 R-cuad. = 99,96% R-cuad (ajustado) = 99,95%

Agrupar información utilizando el método de Tukey



Etapas	N	Media	Agrupación
Fracción total	3	21,873	A
Digestión gástrica	3	8,340	B
Sin dializar	3	5,482	C
Dializado	3	3,563	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

#### ANOVA unidireccional: Flavedo Fresco DPPH vs. Etapas

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Etapas	3	741,3775	247,1258	2779,14	0,000
Error	8	0,7114	0,0889		
Total	11	742,0889			

S = 0,2982 R-cuad. = 99,90% R-cuad (ajustado) = 99,87%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Etapas	N	Media	Agrupación
Fracción total	3	24,057	A
Digestión gástrica	3	9,694	B
Sin dializar	3	6,353	C
Dializado	3	3,695	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

#### ANOVA unidireccional: Subproducto completo Fresco DPPH vs. Etapas

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Etapas	3	573,0916	191,0305	6955,48	0,000
Error	8	0,2197	0,0275		
Total	11	573,3113			

S = 0,1657 R-cuad. = 99,96% R-cuad. (ajustado) = 99,95%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Etapas	N	Media	Agrupación
Fracción total	3	20,323	A
Digestión gástrica	3	7,942	B
Sin dializar	3	4,111	C
Dializado	3	2,840	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

#### ANOVA unidireccional: Pulpa agotada Fresco DPPH vs. Etapas

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Etapas	3	601,5182	200,5061	8140,34	0,000
Error	8	0,1970	0,0246		
Total	11	601,7152			

S = 0,1569 R-cuad. = 99,97% R-cuad. (ajustado) = 99,95%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Etapas	N	Media	Agrupación
Fracción total	3	21,130	A
Sin dializar	3	6,231	B
Digestión gástrica	3	5,947	B
Dializado	3	2,966	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

**ANOVA unidireccional: Subproducto completo Deshidratado DPPH vs. Etapas**

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Etapas	3	590,4133	196,8044	3355,03	0,000
Error	8	0,4693	0,0587		
Total	11	590,8826			

S = 0,2422 R-cuad. = 99,92% R-cuad. (ajustado) = 99,89%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Etapas	N	Media	Agrupación
Fracción total	3	23,640	A
Digestión gástrica	3	15,443	B
Sin dializar	3	8,655	C
Dializado	3	5,317	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

**ANOVA unidireccional: Albedo Fresco FRAP vs. Etapas**

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Etapas	3	176,9184	58,9728	1905,72	0,000
Error	8	0,2476	0,0309		
Total	11	177,1659			

S = 0,1759 R-cuad. = 99,86% R-cuad. (ajustado) = 99,81%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Etapas	N	Media	Agrupación
Digestión gástrica	3	12,964	A
Sin dializar	3	8,800	B
Fracción total	3	8,397	B
Dializado	3	2,206	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

**ANOVA unidireccional: Flavedo Fresco FRAP vs. Etapas**

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Etapas	3	328,2718	109,4239	1138,21	0,000
Error	8	0,7691	0,0961		
Total	11	329,0409			

S = 0,3101 R-cuad. = 99,77% R-cuad (ajustado) = 99,68%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Etapas	N	Media	Agrupación
Fracción total	3	17,253	A
Digestión gástrica	3	16,223	B
Sin dializar	3	9,382	C
Dializado	3	4,432	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

#### **ANOVA unidireccional: Subproducto completo Fresco FRAP vs. Etapas**

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Etapas	3	186,6996	62,2332	7817,76	0,000
Error	8	0,0637	0,0080		
Total	11	186,7633			

S = 0,08922 R-cuad. = 99,97% R-cuad. ajustado) = 99,95%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Etapas	N	Media	Agrupación
Fracción total	3	11,7000	A
Digestión gástrica	3	9,8196	B
Sin dializar	3	4,2817	C
Dializado	3	2,0189	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

#### **ANOVA unidireccional: Pulpa agotada Fresco FRAP vs. Etapas**

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Etapas	3	68,8963	22,9654	1797,13	0,000
Error	8	0,1022	0,0128		
Total	11	68,9986			

S = 0,1130 R-cuad. = 99,85% R-cuad. (ajustado) = 99,80%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Etapas	N	Media	Agrupación
Fracción total	3	7,3133	A
Digestión gástrica	3	3,5602	B
Sin dializar	3	2,1061	C
Dializado	3	0,9547	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes

#### **ANOVA unidireccional: Subproducto completo Deshidratado FRAP vs. Etapas**

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Etapas	3	2492,819	830,940	1230,47	0,000
Error	8	5,402	0,675		
Total	11	2498,221			

S = 0,8218 R-cuad. = 99,78% R-cuad (ajustado) = 99,70%

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Etapas	N	Media	Agrupación
Fracción total	3	45,393	A
Digestión gástrica	3	29,165	B
Sin dializar	3	15,274	C
Dializado	3	7,540	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.