



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

TITULACION DE INGENIERO EN INDUSTRIAS AGROPECUARIAS

**Determinación de la actividad antioxidante de las fracciones
lipofílicas e hidrofílicas de los subproductos agroindustriales de
mango**

Trabajo de fin de Titulación

AUTOR:

VintimillaGualán, María Gabriela

DIRECTOR:

Meneses Chamba, Miguel Ángel, Ing.

LOJA – ECUADOR

2013

Certificación

Ingeniero

Miguel Ángel Meneses

DIRECTOR DEL TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN

CERTIFICA:

Que el presente trabajo, denominado: “Determinación de la actividad antioxidante de las fracciones lipofílicas e hidrofílicas de los subproductos agroindustriales de mango” realizado por el profesional en formación: VintimillaGualánMaria Gabriela cumple con los requisitos establecidos en las normas generales para la graduación en la Universidad Técnica Particular de Loja, tanto en el aspecto de forma como de contenido, por lo cual me permito autorizar su presentación para los fines pertinentes.

Loja, enero de 2013

f)

CI:

Cesión de derechos

“Yo María Gabriela VintimillaGualán declaro ser autora del presente trabajo y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 67 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: “Forman parte del patrimonio de la 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”.

f.

Autor

Cédula

AUTORIA

Las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo de fin de carrera, son de exclusiva responsabilidad del autor.

.....

VintimillaGualán María Gabriela

DEDICATORIA

A mi madre, por ser el ejemplo y pilar en mi vida, por impulsarme, darme su amor y las herramientas necesarias para cumplir mis sueños.

A mi hermana Andrea, mi segunda madre, mi cómplice, compañera, mentora, abogado defensor y hasta psicóloga, por ser el ángel terrestre que me acompaña incondicionalmente.

AGRADECIMIENTO

A Dios por brindarme la fe, fortaleza, salud y esperanza a lo largo de mi vida.

A la Ing. Ruth Martínez Espinosa, quien como Directora de la Escuela de Ingeniería en Industrias Agropecuarias, supo inculcar en mí el amor a la carrera y con sus consejos me enseñó a caminar con paso firme y constante teniendo presente que con convicción se puede conseguir cualquier meta propuesta.

Al Ing. Miguel Ángel Meneses, quien como tutor de mi tesis supo brindarme el apoyo, la confianza, la paciencia y la ayuda necesaria para desarrollar satisfactoriamente mi trabajo.

A la Ing. María del Cisne Guamán, por su apoyo como cotutora de tesis, por dedicarme su tiempo, dedicación y motivación.

A mis profesores, que con sus conocimientos y su motivación impulsaron mi crecimiento académico y personal.

A mi familia en general, a mis tíos: Edgar, Rigoberto y Antonia, por creer ciegamente en mí. A María Eufemia, por brindarme su cariño y sus valiosas enseñanzas de humildad.

Por último, agradezco a mi pequeño sobrino y a mis queridos amigos, por ser la alegría de mi vida y el aliento que me inspira a sonreír cada día.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	pág.
PRELIMINARES	
Portada y contraportada	i
Certificación	ii
Certificación de derechos	iii
Autoría	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Índice de contenidos	vii
Índice de tablas	x
Índice de figuras	xi
Índice de anexos	xiii
Resumen ejecutivo	xvi
Resumen	xvii
Nomenclatura	xviii
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	
1. Introducción	1
CAPÍTULO 2: REVISIÓN DE LITERATURA	
2.1. Mango	3
2.1.1. Descripción botánica	3
2.1.2. Composición química del mango	4
2.2. Producción de mango	5
2.3. Subproductos de mango	5
2.4. Compuestos fenólicos	6
2.4.1. Compuestos fenólicos del mango	7
2.4.2. Importancia de los compuestos fenólicos	8
2.5. Extracción de compuestos fenólicos	8

2.5.1	Modo y condiciones de extracción	10
2.6	Antioxidantes	11
2.6.1	Beneficios de los antioxidantes	12
2.6.2	Tipos de antioxidantes	13
2.6.3	Determinación de actividad antioxidante	14

CAPÍTULO 3: OBJETIVOS

3.1.	Objetivo general	17
3.2.	Objetivo específico	17

CAPÍTULO 4: MATERIALES Y MÉTODOS

4.1.	Reactivos y equipos	18
4.1.1	Reactivos	18
4.1.2	Equipos utilizados	18
4.2.	Muestras	18
4.3.	Caracterización de materia prima	19
4.3.1.	Determinación de humedad	19
4.3.2.	Determinación de Ph	19
4.3.3.	Determinación de color	19
4.3.4.	Determinación de acidez	20
4.3.5.	Determinación de sólidos solubles totales	20
4.3.6.	Determinación del Índice de madurez	20
4.4.	Preparación de materia prima	20
4.5	Extracción de compuestos antioxidantes	21
4.5.1	Extracción de compuestos lipofílicos	22
4.5.2	Extracción de compuestos hidrofílicos	23
4.6	Determinación de actividad antioxidante	24
4.6.1	Método DPPH	25
4.6.2	Método ABTS	25
4.6.3	Método FRAP	25
4.7	Determinación de fenoles totales	26
4.8	Análisis estadístico	27

CAPÍTULO 5: RESULTADOS Y DISCUSIONES	
5.1	Caracterización del mango 28
5.2.	Rendimientos de extracción de subproductos de mango 28
5.2.1	Rendimiento de extracción de la fracción lipofílica 29
5.2.2	Rendimiento de extracción de la fracción hidrofílica 30
5.3	Actividad antioxidante 33
5.3.1	Actividad antioxidante de la fracción lipofílica 33
5.3.1.1	Fenoles totales de la fracción lipofílica 35
5.3.2	Actividad antioxidante de la fracción hidrofílica 36
5.3.2.1	Fracción Etanólica 38
5.3.2.1.1	DPPH 38
5.3.2.1.2	ABTS 39
5.3.2.1.3	FRAP 39
5.3.3.1.4	Fenoles totales 41
5.3.2.2	Fracción metanólica 41
5.3.2.2.1	DPPH 42
5.3.2.2.2	ABTS 43
5.3.2.2.3	FRAP 43
5.3.2.2.4	Fenoles totales 45
5.3.3	Comparación de resultados 46
CAPÍTULO 6: CONCLUSIONES	51
CAPÍTULO 7: RECOMENDACIONES	53
CAPÍTULO 8: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
CAPÍTULO 9: ANEXOS	61

ÍNDICE DE TABLAS

	pág.
CAPÍTULO 2:	
Tabla 2.1. Descripción botánica del mango	4
Tabla 2.2. Componentes nutricionales del mango	4
Tabla 2.3. Compuestos fenólicos en pulpa y piel de mango	7
Tabla 2.4. Principales ventajas y desventajas de los antioxidantes sintéticos y naturales	13
CAPÍTULO 4:	
Tabla 4.1. Tamaños de tamiz utilizados para los diferentes tamaños de partícula	21
CAPÍTULO 5:	
Tabla 5.1. Caracterización físico-química del mango	28
Tabla 5.2. Rendimientos de extracción por fracciones	29
Tabla 5.3. Resumen de actividad antioxidante de la fracción lipofílica	34
Tabla 5.4. Fenoles totales de la fracción lipofílica	35
Tabla 5.5. Resumen de actividad antioxidante de la fracción hidrofílica	37
Tabla 5.6. Resumen de ANOVA para la fracción etanólica	38
Tabla 5.7. Fenoles Totales de la fracción hidrofílica (etanol)	41
Tabla 5.8. Resumen de ANOVA para la fracción metanólica	42
Tabla 5.9. Fenoles Totales de la fracción hidrofílica (metanol)	45
Tabla 5.10. Tabla resumen de mejores condiciones de extracción	46

ÍNDICE DE FIGURAS

	pág.
CAPÍTULO 2:	
Fig. 2.1. Fruto de mango	3
CAPÍTULO 4:	
Fig. 4.1 Muestra de mango tamizada a diferentes tamaños de partícula	21
Fig. 4.2 Esquema general de fracciones lipofílicas e hidrofílicas	22
Fig. 4.3 Maceración dinámica	22
Fig. 4.4 Extracto lipofílico luego de la evaporación	23
Fig. 4.5 Extractos almacenados	24
CAPÍTULO 5:	
Fig. 5.1. Rendimientos de extracción de la fracción lipofílica	29
Fig. 5.2 Rendimiento de extracción de la fracción hidrofílica (etanol)	30
Fig. 5.3 Rendimientos de extracción de la fracción hidrofílica (metanol)	31
Fig. 5.4 Actividad antioxidante de la fracción lipofílica	35
Fig. 5.5 DPPH de la fracción hidrofílica– etanol	38
Fig. 5.6 ABTS de la fracción hidrofílica– etanol	38
Fig. 5.7 FRAP de la fracción hidrofílica– etanol	40
Fig. 5.8 Resumen de actividad antioxidante de fracción hidrofílica (etanol)	40
Fig. 5.9 DPPH de la fracción hidrofílica– metanol	42
Fig. 5.10 ABTS de la fracción hidrofílica– metanol	43
Fig. 5.11 FRAP de la fracción hidrofílica– metanol	44
Fig. 5.12 Resumen de actividad antioxidante, fracción hidrofílica (metanol)	44
Fig. 5.13 Capacidad antioxidante de mango evaluada mediante	46

	DPPH	
Fig. 5.14	Capacidad antioxidante de mango evaluada mediante ABTS	47
Fig. 5.15	Capacidad antioxidante de mango evaluada mediante FRAP	47
Fig. 5.16	Comparación de fenoles totales del mango	49

ÍNDICE DE ANEXOS

	pág.
ANEXO 1: ESQUEMAS	
Figura 1.1 Preparación de materia prima	61
Figura 1.2 Esquema de extracción de compuestos lipofílicos	61
Figura 1.3 Extracción de compuestos fenólicos hidrofílicos	62
Figura 1.4 Esquema de determinación de actividad antioxidante (DPPH)	63
Figura 1.5 Esquema de determinación de actividad antioxidante (ABTS)	64
Figura 1.6 Esquema de determinación de actividad antioxidante (FRAP)	65
Figura 1.7 Esquema de determinación de fenoles totales en extractos lipofílicos e hidrofílicos	66
Anexo 2: RESULTADOS	
2.1 Rendimiento	
2.1.1 Rendimiento de extracción de la fracción lipofílica	67
2.1.2 Rendimiento de extracción de la fracción hidrofílica – etanol	68
2.1.3 Rendimiento de extracción de la fracción hidrofílica – metanol	69
2.2 Curvas de calibración	70
2.2.1 Curva de calibración DPPH	70
2.2.2 Curva de calibración ABTS	71
2.2.3 Curva de calibración FRAP	72
2.2.4 Curva de calibración fenoles totales	73
2.3 Medidas de actividad antioxidante	74
2.3.1 Fracción lipofílica	74

2.3.1.1	Método DPPH	74
2.3.1.2	Método ABTS	75
2.3.1.3	Método FRAP	76
2.3.1.4	Fenoles totales	77
2.3.2	Fracción hidrofílica (etanol)	78
2.3.2.1	Método DPPH	78
2.3.2.2	Método ABTS	79
2.3.2.3	Método FRAP	80
2.3.2.4	Fenoles totales	81
2.3.3	Fracción hidrofílica (metanol)	82
2.3.3.1	Método DPPH	82
2.3.3.2	Método ABTS	83
2.3.3.3	Método FRAP	84
2.3.3.4	Fenoles totales	85

ANEXO 3. ANOVA

3.1	Rendimiento de extracción	86
3.1.1	Rendimiento de fracción lipofílica	86
3.1.2	Rendimiento de fracción hidrofílica – etanol	87
3.1.3	Rendimiento de fracción hidrofílica – metanol	88
3.2	Actividad antioxidante	89
3.2.1	Actividad antioxidante fracción lipofílica	89
3.2.1.1	Método DPPH	89
3.2.1.2	Método ABTS	90
3.2.1.3	Método FRAP	91
3.2.2	Actividad antioxidante fracción hidrofílica – etanol	92
3.2.2.1	Método DPPH	92
3.2.2.2	Método ABTS	93
3.2.2.3	Método FRAP	94

3.2.3	Actividad antioxidante fracción hidrofílica – metanol	95
3.2.3.1	Método DPPH	95
3.2.3.2	Método ABTS	96
3.2.3.3	Método FRAP	97
3.3	Fenoles totales	98
3.3.1	Fenoles totales fracción lipofílica	98
3.3.2	Fenoles totales fracción hridrofílica – etanol	99
3.3.3	Fenoles totales fracción hridrofílica – Metanol	100

RESUMEN EJECUTIVO

En la industria alimenticia se desechan los subproductos agroindustriales de mango, olvidando que estos son una fuente importante de polifenoles con propiedades antioxidantes que ayudan en la prevención de enfermedades, aprovechando de esta manera los nutrientes y evitando la contaminación; considerando esto, se determinó la actividad antioxidante in vitro de dichos subproductos (piel y pulpa adherida a la piel) y se comparó el aporte de fracciones hidrofílicas y lipofílicas.

La actividad antioxidante más favorable de la fracción lipofílica se obtuvo a 24 horas con un tamaño de partícula $>125<250 \mu\text{m}$, los valores fueron: DPPH 4,649 $\mu\text{mol TE/g MS}$, ABTS 4,979 $\mu\text{mol TE/g MS}$, FRAP 3,589 $\mu\text{mol TE/g MS}$; y, fenoles totales 50,8 mg GAE/100 g MS. La mayor actividad antioxidante de la fracción hidrofílica correspondió a la extraída con etanol, se obtuvo a 3 horas con un tamaño de partícula $>355<500 \mu\text{m}$, para DPPH 162,4 $\mu\text{mol TE/g MS}$, ABTS 181,9 $\mu\text{mol TE/g MS}$, FRAP 71,5 $\mu\text{mol TE/g MS}$ y fenoles totales 1727,31 mg GAE/100 g MS; estos valores demuestran que en el subproducto de mango es rico en compuestos antioxidantes.

RESUMEN

En la industria alimenticia del mango se acostumbra a trabajar únicamente con la pulpa, olvidando que otros componentes como la piel y semillas son fuente importante de polifenoles con propiedades antioxidantes, los cuales son de gran importancia debido a su función de prevención de enfermedades comunes en el hombre; y, que pueden llegar a tener una mayor cantidad de estos que la pulpa, además que con el correcto tratamiento posterior a su proceso estos subproductos pueden servir para el consumo humano, animal y aplicación industrial e incrementar así los beneficios económicos de las empresas, permitiendo aprovechar nutrientes valiosos y evitando la contaminación.

Tomando en cuenta esto, el objetivo de este trabajo fue determinar la actividad antioxidante in vitro de subproductos agroindustriales de mango: piel y pulpa adherida a la piel, para así poder comparar el aporte de las fracciones hidrofílicas y lipofílicas; para esto primero se realizó la obtención de diferentes extractos, variando tamaños de partícula y tiempos de extracción, luego de ello se determinó la actividad antioxidante de cada uno utilizando los métodos DPPH, ABTS y FRAP, así como el contenido de fenoles totales, encontrando una relación directamente proporcional entre el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante de los extractos.

La actividad antioxidante más favorable de la fracción lipofílica se obtuvo a 24 horas con un tamaño de partícula $>125<250 \mu\text{m}$, los valores fueron: DPPH 4,649 $\mu\text{mol TE/g MS}$, ABTS 4,979 $\mu\text{mol TE/g MS}$, FRAP 3,589 $\mu\text{mol TE/g MS}$; y, fenoles totales 50,8 mg GAE/100 g MS. La mayor actividad antioxidante de la fracción hidrofílica correspondió a la extraída con etanol, se obtuvo a 3 horas con un tamaño de partícula $>355<500 \mu\text{m}$, para DPPH 162,4 $\mu\text{mol TE/g MS}$, ABTS 181,9 $\mu\text{mol TE/g MS}$, FRAP 71,5 $\mu\text{mol TE/g MS}$ y fenoles totales 1727,31 mg GAE/100 g MS.

En conclusión se pudo obtener mayor cantidad de antioxidantes a partir de subproducto de mango (piel y pulpa adherida a la piel) en comparación con la cantidad encontrada en la pulpa, además con la realización de extracciones sucesivas y con diferentes solventes se puede llegar a obtener mayores cantidades de antioxidantes en dichos extractos.

NOMENCLATURA

EtOH	: Etanol absoluto
MeOH	: Metanol
DPPH	: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
ABTS	: 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
TPTZ	: 2,4,6-tripyridyl-s-triazine
TROLOX	: 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid
μMET / g MS	: Micromoles equivalentes de trolox/ gramo de muestra seca
mg GAE/100 g MS	: Miligramos equivalentes de ácido gálico / 100 gramos de muestra
mL	: Mililitro
μL	: Microlitro
g	: Gramo
mg	: Miligramo
μMol	: Micromol
N	: Normal

1. INTRODUCCIÓN

El mango (*Mangifera indica* L.) es una fruta tropical que pertenece a la familia Anacardiaceae, es la más cultivada en Tailandia (Maisuthisakul & Gordon 2009) y se obtiene en más de 90 países. De la producción mundial, Asia produce el 77%, América el 13% y África el 9% (FAO 2011). En América, los principales abastecedores de mango son: México, Brasil, Perú, Ecuador, y Haití (Evans 2008). La producción mundial estimada de mango en el 2005 fue de 28,51 millones de toneladas métricas (Evans 2008).

En la industria agroalimentaria, se generan una gran cantidad de subproductos tanto líquidos como sólidos (Torres et al. 2010; Yepes et al. 2008), solamente en el despulpado se generan cerca de 193,32 toneladas/semana, representados en cáscara, semillas, restos de pulpa y fibra (Mejía et al. 2009), según Carro y González (2009), al procesar el mango en forma agroindustrial se generan volúmenes de residuos que oscilan entre el 35-60% del volumen original (Berardini et al. 2005a; Larrauri et al. 1996; Schieber et al. 2003); estos consisten principalmente en piel (15%), semillas (18-20%) y fibra pulposa (8-10%), los cuales pueden ser usados como una fuente de fibra y compuestos fenólicos con propiedades beneficiosas (Berardini et al. 2005b; Schieber et al. 2001).

Estudios anteriores han demostrado que las semillas y cáscaras de mango son ricas en polifenoles (Prasad et al. 2009) y que pueden llegar a tener una mayor cantidad de componentes que la pulpa (Ashoush & Gadallah 2011). Los subproductos y productos fuera de norma que se generan de la producción de mango, pueden servir para el consumo humano, animal y aplicación industrial, trayendo beneficios económicos importantes (Yepes et al. 2008); sin embargo, la mayoría de industrias no tienen algún plan para tratarlos, debido al alto costo de su reutilización y por el contrario, los ubican junto a vertederos, traduciendo esto en una pérdida valiosa de biomasa, nutrientes y costes económicos asociados (Torres et al. 2010), convirtiéndose en una fuente de contaminación (Alexandre & Pinto 2010; Barreto et al. 2008). Las características de estos subproductos hacen posible su utilización para otros fines como: producción energética, elaboración de

nuevos alimentos o extracción de sustancias con alto valor agregado (antioxidantes y antiinflamatorios), los cuales permitirían optimizar la alimentación previniendo y tratando enfermedades crónicas(Ajila et al. 2007; Torres et al. 2010).

Ayala (2011) determinó que cáscaras y semillas de mango son una fuente natural de antioxidantes, vitaminas y minerales, sus extractos son ricos en compuestos fenólicos, con capacidad de inhibir el crecimiento de bacterias y hongos (García 2006; González et al. 2005), reducir reacciones de oxidación (Rojas et al. 2008) e inactivar radicales libres(Abdalla et al. 2007), son además agentes nutracéuticos(Amin & Mukhrizah 2006; Ribeiro et al. 2008), antimicrobianos, anticarcinógenos, antiinflamatorios, antiaterogénicos, insecticidas (Sáiz & López 2010), inmunomoduladores(Berardini et al. 2004; Rojas et al. 2008). El consumo de compuestos fenólicos por medio de frutas y verduras, esta asociado a efectos de protección frente a enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo(García 2006; Manach et al. 2005), aumentando la defensa antioxidante, neutralizando las especies radicalarias(Avello & Suwalsky 2006) y protegiendo de enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas (Lim et al. 2007; Manach et al. 2005). Por ser estas las causas de morbilidad y mortalidad más importantes del mundo occidental (44%) (Milner 2000), es necesario obtener una mayor cantidad de compuestos fenólicos con el mínimo costo y poder aislar sus principales grupos(Berardini et al. 2004; Martinez et al. 2000; Torres 2007).

Dentro de la línea de investigación del CETTIA, “Aplicación de Tecnologías emergentes y tradicionales en procesos agroindustriales”, el presente tema contribuye a desarrollar un conocimiento más amplio acerca de la actividad antioxidante de las fracciones del extracto de mango y el efecto de las características de extracción de compuestos fenólicos (tiempo y tamaño de partícula) y de su fraccionamiento (compuestos fenólicos lipofílicos e hidrofílicos), la misma que se realizó por maceración dinámica a diferentes tamaños de partícula; una vez obtenidos los extractos, se determinó la actividad antioxidante in vivo de cada uno utilizando los métodos: DPPH, ABTS, FRAPy cuantificación de fenoles totales.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 MANGO

El mango (Figura 2.1) es una fruta de la zona intertropical, de pulpa carnosa y semi-ácida, de origen asiático, comprende algunas variedades, muchas de ellas obtenidas por injerto (Carro & González 2009); es una de las frutas tropicales más apreciadas por los consumidores y se cree que comenzó a cultivarse 2000 a.C., aunque se supone que ya era conocida tiempo atrás (Torres et al. 2006).

Figura 2.1. Fruto de mango



Fuente:Bally(2006)

2.1.1 Descripción botánica

El mango es el fruto del árbol *Mangifera indica*, se trata de un árbol frondoso de hasta 20 metros de altura, copa redonda, forma piramidal, de numerosas ramas, hojas alargadas y color verde brillante, con abundantes flores (550-4000)(SAGARPA 2005), los datos de su descripción botánica se detallan en la tabla 2.1.

El género *Mangifera* comprende 69 especies y según revisión por Koesterman y Bompard(1993) las variedades que más se comercializan se clasifican en 3 grupos: “florida”, “india” y “africana”. La variedad florida es la más aceptada por los consumidores, la India y Africana se destinan a grupos étnicos que las conocen

por ser procedentes del sector donde habitan; la variedad “Tommy Atkins” se encuentra dentro del grupo florida (Torres 2007).

Tabla 2.1.Descripción botánica del mango

Clase	Dicotiledóneas
Subclase	Rosidae
Orden	Sapindales
Suborden	Anacardiineae
Familia	Anacardiaceae
Género	<i>Mangifera</i>
Especie	<i>Indica</i>

Fuente: RDS (2003)

2.1.2 Composición química del mango

El mango es una fruta rica en calcio, magnesio, potasio, fósforo, vitamina A(IICA 2007), vitamina C, fibras y antioxidantes, razón por la cual su mercado está creciendo continuamente.La calidad del mango es el resultado de muchos factores, algunos de los cuales se encuentran en la pulpa: sabor, contenido de fibras, azúcar, relación peso/pulpa, características de la piel, color, peso, etc(Carro & González 2009). En la tabla 2.2 se detallan sus componentes.

Tabla 2.2Componentes nutricionales del mango (en 100 g de pulpa fresca)

Componentes	Ref. (1)	Ref. (2)
Calorías (Kcal)	60	65
Agua (g)	83	81,7
Proteína (g)	0,40	0,51
Lípidos (g)	0,20	0,45
Carbohidratos (g)	15,90	17
Fibra (g)	1	1,8
Ceniza (g)	0,50	--
Calcio (mg)	17	10
Fósforo (mg)	15	11
Hierro (mg)	0,40	0,13

Fuente: Referencias: (1) IICA (2007); (2) USDA (2006)

2.2 PRODUCCIÓN DE MANGO

Con una producción mundial de más de 26 millones de toneladas en 2004(FAOSTAT, 2005), el mango es una de las frutas tropicales más importantes del mundo(Berardini et al. 2004). Como cosecha de exportación, se coloca bastante abajo en la lista de las frutas, pero ocupa el segundo lugar en uso doméstico y se usa cada vez más en la industria farmacéutica(Carro & González 2009).

La producción de mango principalmente se da en la India, Indonesia, Florida, Hawai, México, Sudáfrica, Egipto, Brasil, Cuba, Filipinas y otros países(Carro & González 2009). Los principales importadores son Estados Unidos, Unión Europea y Canadá, y su consumo sigue aumentando;en el mundo se producen 28,5 millones de toneladas por año(Evans 2008), provenientes de 111 países y los mayores índices de consumo se observan en los propios países productores(Carro & González 2009). La exportación de pulpa de mango como materia prima para la producción de alimentos se estima que se encuentra alrededor del 62% de las exportaciones totales de frutas y verduras en la India que es el mayor productor mundial de mango(Berardini et al. 2004). Las exportaciones son hechas entre otros por Haití, Kenia, Alto Volta, Pakistán, Filipinas, Tailandia, México y Brasil, precisamente estos dos últimos son los mayores exportadores del mundo y ambos dirigen el curso de sus exportaciones principalmente al mercado de los Estados Unidos(Carro & González 2009).

En Ecuador se dedican aproximadamente 7700 Ha al cultivo de mango, concentradas principalmente en las provincias de Guayas (90%), los Ríos, Manabí y el Oro. Según datos presentados por la Fundación Mango Ecuador (FME 2000), en la Campaña 2002-2003, Ecuador produjo 35175 ton. y exportó 6.7 millones de cajas siendo el principal mercado de destino Estados Unidos (79%).

2.3 SUBPRODUCTOS DE MANGO

En la industrialización del mango se han buscado alternativas en el uso de subproductos, con la semilla de mango se puede obtener harina de semilla, almidón de semilla, alimento animal, se la puede además incluir en la elaboración de jabones y cosméticos, usarla con fines alimenticios, en la elaboración de medicamentos gracias a sus propiedades medicinales contra el asma y la diarrea (Carro & González 2009) o como fuente potencial de ingredientes para alimentos funcionales o productos terapéuticos (Abdalla et al. 2007).

Investigaciones han revelado que las cáscaras de la variedad Tommy Atkins son una fuente de flavonoides y xantonasglicósidas y galotaninos con características beneficiosas para el ser humano (Berardini et al. 2004) y una buena fuente de compuestos fitoquímicos, como: polifenoles, carotenoides, vitamina E, fibra dietética y vitamina C; y algunos compuestos individuales como: taninos, ácido gálico, cumarina, ácido elágico, vainillina, mangiferina, ácido ferúlico, ácido cinámico (Ashoush & Gadallah 2011), los cuales ejercen una actividad antidiabética mediante el incremento de la sensibilidad de la insulina, que posee actividad antiviral, antitumoral, e inmunomoduladora (Acosta et al. 2009).

Los extractos en infusión del tallo y hojas en infusión, pueden ser utilizados para tratar enfermedades como diarrea e infecciones cutáneas, siendo además antioxidantes, analgésicos e inhibidores de actividad macrófaga (Berardini et al. 2004).

2.4 COMPUESTOS FENÓLICOS

Son un gran grupo de compuestos presentes en verduras y frutas, ejerciendo una potente acción antioxidante, la cual es necesaria para el funcionamiento de las células vegetales (Avello & Suwalsky 2006). Los compuestos fenólicos constituyen uno de los grupos de micronutrientes presentes en el reino vegetal, siendo parte importante de la dieta tanto humana como animal; forman un amplio grupo de sustancias químicas, con diferentes estructuras y actividad, englobando más de 8000 compuestos distintos (Martinez et al. 2000).

Químicamente, los compuestos fenólicos son sustancias que poseen un anillo aromático, un anillo de benceno, con uno o más hidróxidos incluyendo derivados

funcionales (ésteres, metil ésteres, glicósidos, etc.) (Tsimidou 1998). La naturaleza de los polifenoles varía desde moléculas simples hasta compuestos altamente polimerizados (taninos), se presentan en las plantas en forma conjugada con uno o mas residuos de azúcar (glucosa, galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa, o los ácidos glucurónico y galacturónico) unidos a los grupos hidroxilos (Martinez et al. 2000) o a ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas y lípidos (García 2006).

2.4.1 Compuestos fenólicos del mango

Un total de 12 flavonoides y xantonas han sido identificados en la piel y semillas de mango (tabla 2.3), considerándolos una fuente de antioxidantes bioactivos (Ribeiro et al. 2008); la piel de mango posee flavonoles O- y C-glicósidos xantonas, galotaninos y derivados de benzofenona (Berardini et al. 2004).

Tabla 2.3 Compuestos fenólicos en pulpa y piel de mango

Componentes	Pulpa de mango (mg / kg de materia seca)			Piel (mg / kg de materia seca)
	Haden	Tommy Atkins	Ubá	
Mangiferin	2.9 ± 0.1	2.2 ± 0.1	12.4 ± 0.3	199 ± 5,3
Isomangiferin	ND	0.5 ± 0.0	1,1 ± 0,1	16,4 ± 2,9
Mangiferingallate	ND	ND	1,3 ± 0,0	28,0 ± 1,0
Isomangiferingallate	ND	ND	4,5 ± 0,0	26,9 ± 0,7
Quercetin 3-O- galactoside	ND	ND	2,5 ± 0,2	151 ± 12,3
Quercetin 3-O-glucoside	0.6 ± 0.0	ND	6,3 ± 0,4	370 ± 25,6
Quercetin 3-O- xyloside	ND	ND	1,7 ± 0,1	84,4 ± 6,2
Quercetin 3-O-arabinopyranoside	ND	ND	1,2 ± 0,1	64,8 ± 5,3
Quercetin 3-O-arabinofuranoside	ND	ND	1,2 ± 0,1	55,0 ± 2,5
Quercetin 3-O-rhamnoside	ND	ND	0,5 ± 0,0	15,8 ± 1,2
Kaempferol 3-O-glc	ND	ND	0,6 ± 0,0	35,3 ± 2,7
Quercetin	ND	ND	0,6 ± 0,0	61,1 ± 1,6

Fuente: Ribeiro et al. (2008)

En el mango además se puede encontrar: ácido gálico, ácido elágeno (Berardini et al. 2004), taninos, cumarina, vainillina, ácido ferúlico, ácido cinámico (Ashoush & Gadallah 2011; Martínez et al. 2000).

La mangiferina, xantona-C-glicósido, llama la atención por la gran variedad de propiedades farmacológicas, además de su capacidad antioxidante, antidiabética, antitumoral y antiviral (Guha et al. 1996).

2.4.2 Importancia de los compuestos fenólicos

Además de las propiedades biológicas de los compuestos fenólicos, se les han atribuido actividades farmacológicas y medicas relacionadas con la prevención y/o mejora del estado de salud (Avello & Suwalsky 2006).

Los compuestos fenólicos retrasan la oxidación de otras moléculas, inhibiendo la propagación de la oxidación, además intervienen como antioxidantes naturales de los alimentos; poseen efectos vasodilatadores, anticancerígenos, antiinflamatorios, antialérgicos, antivirales, bactericidas, estimuladores de la respuesta inmune, efectos estrogénicos e inhibidores de fosfolipasa, ciclooxigenasa, lipoxigenasa y xantina oxidasa (Martínez et al. 2000).

El tallo, hojas, frutos y flores de *Mangifera indica L.* poseen actividad antibacteriana, mostrando como resultado que los extractos acuosos de ésta, poseen una menor actividad antibacteriana contra *Escherichiacoli* (Benites et al. 2010).

En la corteza de *Mangifera indica L.*, se ha encontrado en gran proporción la mangiferina, la cual posee una importante actividad analgésica. (Benites et al. 2010) sumando a esto la actividad antidiabética mediante el incremento de la sensibilidad de la insulina 2, posee actividad antiviral, antitumoral, inmunomoduladora y efecto anti VIH (Acosta et al. 2009)

2.5 EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS

La extracción es el paso inicial en el aislamiento de componentes bioactivos a partir de materiales vegetales, el objetivo es obtener la máxima concentración de compuestos y la mayor actividad antioxidante de los extractos (Spigno et al. 2007). La extracción está influenciada por la naturaleza química de los compuestos, técnica de extracción, presencia de sustancias interferentes, disolvente de extracción, naturaleza de los componentes de interés, propiedades fisicoquímicas de la matriz, disponibilidad de reactivos y equipos, el coste y los problemas de seguridad (Hamid et al. 2010), considerando también la agitación, pH y el estado de división del material (Acosta et al. 2009). Según Sharapin (2000) y Acosta et al. (2009) el éxito de un proceso de extracción sólido-líquido depende también de los tratamientos previos a los que se haya sometido el sólido, como el secado previo.

Los disolventes más utilizados para la extracción son: metanol, etanol y acetona, ya sea por separado, combinados o en disoluciones acuosas (Lim et al. 2007; Thaipong et al. 2006). Las polaridades de los disolventes orgánicos influyen en la selección de un disolvente específico para la extracción de un grupo de compuestos bioactivos (Hamid et al. 2010); la actividad antioxidante de un compuesto no depende únicamente de sus propiedades químicas, su accesibilidad a las zonas activas de oxidación es decisiva en la eficacia antioxidante (Conde 2009).

De modo general se consideran dos tecnologías diferentes para la extracción con disolventes de compuestos antioxidantes a partir de residuos de actividades industriales: extracción líquido-líquido y extracción sólido-líquido (Conde 2009).

- Extracción líquido-líquido

Se basa en la distribución o reparto de los solutos entre dos fases inmiscibles en las cuales el compuesto y la matriz tienen solubilidades diferentes, se la conoce también como extracción con disolventes orgánicos o extracción con disolventes (Conde 2009).

- Extracción sólido-líquido

Conocida también como lixiviación, es la extracción de muestras sólidas con disolventes, muy utilizada en la separación de compuestos antioxidantes a partir de residuos sólidos, los cuales requieren ser extraídos con disolventes

convencionales y posteriormente eliminar el disolvente para obtener un extracto concentrado. Los disolventes más habituales son: hexano, agua, etanol y metanol(Conde 2009).

Dentro de la extracción sólido-líquido se encuentra un proceso denominado maceración, que consiste en poner en contacto la muestra y el solvente durante un tiempo determinado dando como resultado un equilibrio de concentración entre la muestra y el solvente, esta depende de: la naturaleza del extracto, tamaño de partícula, contenido de humedad y selectividad o cantidad de solvente; una variación de esta, es la maceración dinámica que consiste en dejar la muestra en contacto con el solvente durante un determinado tiempo, utilizando agitación constante; este proceso puede darse a temperatura ambiente o temperaturas más elevadas(Sharapin 2000).

A nivel analítico se emplean diversas técnicas, siendo la más usada tradicionalmente la extracción en Soxhlet (Luque de Castro & García-Ayuso 1998), pero actualmente hay un incremento de nuevos métodos de extracción con tiempos cortos, menor consumo de disolventes orgánicos y reducción de contaminación, empleando: extracción asistida por ultrasonidos, extracción con pulsos eléctricos, extracción asistida por microondas, extracción acelerada con disolventes y extracción con fluidos supercríticos. A nivel industrial se emplean equipos de extracción discontinua y continua con disolventes convencionales y equipos discontinuos para la extracción con fluidos supercríticos(Conde 2009; Sáiz & López 2010).

2.5.1 Modo y condiciones de extracción

- Efecto del disolvente: El tipo de extracto obtenido, los rendimientos de extracción y la actividad antioxidante dependen del tipo de disolvente utilizado, debido al diferente potencial de solvatación o a la diferencia de polaridad; el etanol y el agua son más utilizados por su ausencia de toxicidad y abundancia(Conde 2009).

- Efecto del pH: Con un tratamiento ácido se mejora la capacidad antioxidante de las fracciones acuosas, en algunos casos, se supone que los niveles más altos de actividad antioxidante correspondieron a pH 10, debido a que la fracción que se

solubiliza mayoritariamente es la de proteína y ácidos grasos, por ello en este caso la responsable de la capacidad antioxidante es la fracción proteica(Conde 2009).

- Efecto del tamaño de partícula: La reducción en el tamaño de partícula, incrementa la capacidad antioxidante del extracto como resultado de un incremento en la cantidad de compuestos extraídos al tener una mayor superficie de contacto(Conde 2009).

- Efecto de la temperatura: Durante la extracción afecta a la estabilidad de los compuestos debido a las reacciones de degradación química y enzimática, pérdidas por volatilización o a descomposición térmica. Se ha encontrado que la temperatura influye en la alteración de polifenoles(Larrauri et al. 1996)y en procesos de extracción,temperaturas moderadas a tiempos de operación largos conducen a la degradación de los compuestos fenólicos, mientras que en procesos de hidrólisis de duración entre 1-8 h no se observa degradación de estos compuestos(Conde 2009).

2.6 ANTIOXIDANTES

Un antioxidante biológico se ha definido como “cualquier sustancia que, cuando está presente en concentraciones bajas en comparación con las de un sustrato oxidable, previene significativamente o retrasa la oxidación de dicho sustrato” (Benzie & Strain 1996). Es un ingrediente que protege la calidad de los alimentos(Abdalla et al. 2007)y neutraliza la acción oxidante de los radicales libres mediante la liberación de electrones en nuestra sangre(Finkel & Holbrook 2000).

Hay evidencias que sustentan el papel patogénico de los radicales libres en procesos biológicos, mostrando la relación entre la incidencia de enfermedades inflamatorias y degenerativas y las bajas concentraciones de antioxidantes en la sangre(Sohal & Weindruch 1996), los que pueden ser modificados al aumentar su ingesta(Avello & Suwalsky 2006).

Entre los principales factores que afectan la actividad antioxidante de los extractos, se encuentra: calidad de la planta, origen geográfico, condiciones climáticas, época de recolección, almacenamiento y factores tecnológicos(Conde 2009). El

contenido total en polifenoles y la actividad antioxidante son distintas para las diferentes partes de la fruta, además es posible que se den las diferencias dependiendo de la etapa de maduración de los frutos o entre hojas jóvenes y viejas de los materiales vegetales(Sawa et al. 1999).

- Radicales libres:

Son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado o libre, por lo que son muy reactivos ya que tienden a captar un electrón de las moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica y una vez que ha conseguido sustraer el electrón, la molécula estable que se lo cede se convierte en radical libre por quedar con un electrón desapareado; la vida media biológica del radical libre es de microsegundos, pero tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que esté a su alrededor provocando daños a moléculas(Avello & Suwalsky 2006).

- Estrés oxidativo

Cuando el aumento del contenido intracelular de las moléculas radicales y no radicales sobrepasa las defensas antioxidantes de la célula, se produce el estrés oxidativo, induciendo un daño a moléculas biológicas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, el estrés oxidativo se presenta en diversos estados, alterando la funcionalidad celular y contribuyendo al desarrollo de enfermedades degenerativas (Avello & Suwalsky 2006).El estrés oxidativo puede causarse por:disminución de antioxidantes debido a mutaciones o a toxinas que causan disminución de defensas o por el incremento en la producción de especies reactivas a causa de la exposición a elevados niveles de oxígeno. La dieta juega un papel importante en la prevención de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, fundamentalmente a través del aporte de compuestos bioactivos de origen vegetal, lo que está llevando a las industrias alimentarias a diseñar alimentos funcionales que supongan un aporte extra de antioxidantes naturales (García 2006).

2.6.1 Beneficios de los antioxidantes

Entre las actividades fisiológicas de los antioxidantes naturales se encuentra: actividad antibacteriana, antiviral, antimutagénica, antialérgica, anticarcinogénica, inhibidora del incremento de la presión arterial, antiúlceras, anticariogénica, antimicrobiana y antifúngica(Conde 2009) todas derivadas del estrés oxidativo

celular, además de su poder como: vasodilatadores, antiinflamatorios, estimuladores de la respuesta inmune, antialérgicos, efectos estrogénicos, o inhibidores de enzimas prooxidantes, como cicloxigenasa, lipoxigenasa y xantina oxidasa(García 2006).

2.6.2 Tipos de antioxidantes

Actualmente se utilizan tanto los de origen natural como sintéticos, de estos últimos solo algunos se han empleado en alimentos, pues es necesario comprobar la ausencia de toxicidad y actividad carcinogénica antes de utilizarlos. En la tabla 2.4 se detallan las ventajas y desventajas de antioxidantes sintéticos y naturales.

Tabla 2.4 Principales ventajas y desventajas de los antioxidantes sintéticos y naturales

Antioxidantes sintéticos	Antioxidantes naturales
Económico	Mayor coste.
Diversas aplicaciones.	Uso restringido en algunos productos.
Actividad antioxidante media a alta.	Amplio intervalo de actividad antioxidante.
Creciente preocupación por la seguridad.	Consideradas sustancias inocuas.
Uso prohibido para alguno de ellos.	Uso creciente, aplicaciones en expansión.
Baja solubilidad en agua.	Amplio intervalo de solubilidades.
Interés decreciente	Interés creciente.

Fuente: Conde (2009)

Los antioxidantes sintéticos se utilizan en los límites legales para reducir el deterioro, rancidez y la decoloración oxidativa de los aceites y grasas. Existen algunos problemas relativos a la seguridad y la toxicidad de los antioxidantes sintéticos relacionados con su metabolismo y la posible absorción y acumulación en los tejidos; por otra parte, antioxidantes naturales se encuentran en algunos materiales vegetales tales como oleaginosas, cereales, verduras, frutas, hojas, cortezas, raíces y hierbas, los cuales se asocian a la reducción del riesgo de enfermedades crónicas(Abdalla et al. 2007). Las reacciones químicas de los radicales libres se dan constantemente en las células de nuestro cuerpo, pero el

proceso debe ser controlado con una adecuada protección antioxidante, por medio de alimentos ingeridos en la dieta (vitaminas y compuestos fenólicos) que permiten neutralizar las especies radicalarias(Avello & Suwalsky 2006).

Entre los principales antioxidantes se encuentran: ácido ascórbico (regeneración de tocoferoles), tocoferoles (protección de membranas lipídicas, bloqueo de la cadena de reacciones de peroxidación), carotenoides (bloqueo de la cadena de reacciones de peroxidación), compuestos fenólicos (captación de radicales libres y actividad quelante de metales.)(García 2006).

2.6.3 Determinación de actividad antioxidante

Existen diversos métodos para evaluar la actividad antioxidante, ya sea *in vitro* o *in vivo*, las determinaciones de la capacidad antioxidante realizadas *in vitro* nos dan tan sólo una idea aproximada de lo que ocurre *in vivo*. La capacidad antioxidante de una mezcla no viene dada solo por la suma de las capacidades antioxidantes de sus componentes; también depende del microambiente en que se encuentra el compuesto(Kuskoski et al. 2005). Las técnicas espectrofotométricas si bien tienen interés desde el punto de vista del control de calidad, no aportan suficiente información desde el punto de vista nutricional y funcional, por lo que es necesario recurrir a técnicas mas precisas como las cromatográficas (HPLC) identificando individualmente los polifenoles de interés (Prior et al. 2005).La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se ve determinada por su estructura química(Belitz & Grosch 1988).

Técnicas cromatográficas.- Permiten la separación, aislamiento, purificación e identificación de compuestos fenólicos, así como el estudio de la interacción entre polifenoles y otros componentes de los alimentos(Martinez et al. 2000).

Técnicas espectrofotométricas.- Determina la actividad antioxidante frente a sustancias cromógenas de naturaleza radical, ocurriendo una pérdida de color proporcional con la concentración(Rojas et al. 2008). La capacidad antioxidante de una muestra esta dada por interacciones sinérgicas entre compuestos y por la acción en cada uno de ellos, por lo cual es necesario combinar más de un método

para evaluar correctamente la capacidad antioxidante de una muestra (Pérez-Jiménez & Saura-Calixto 2007). Entre los métodos utilizados se encuentran:

- ABTS, llamado así por el reactivo 2,2-azinobis (3-ethylbenzotiazolina-6-ácido sulfónico), mide la capacidad de los antioxidantes naturales de eliminar radicales libres (Nantitanon et al. 2010; Prior et al. 2005). Este ensayo se basa en la activación de metmioglobina con peróxido de hidrógeno en presencia de ABTS para producir el radical catiónico, cuando hayan o no antioxidantes (Re et al. 1999). El ABTS en sistemas lipofílicos, puede ser utilizado para estudiar los efectos de protección de antioxidantes liposolubles en lípidos, simplificando así el ensayo (Antolovich et al. 2001; Arnao et al. 2001). Pérez-Jiménez (2007) y Saura Calixto (2006) encontraron que algunos compuestos que tienen actividad captadora con ABTS, no muestran la misma actividad con el radical DPPH (Maisuthisakul & Gordon 2009).
- DPPH, llamado así por el reactivo 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl. Es un método rápido y sencillo, se basa en la medición de eliminación de radicales libres de los compuestos antioxidantes con DPPH (Castañeda et al. 2008; Lim et al. 2007; Sanchez-Moreno et al. 1998). Es adecuado para medir la actividad antioxidante en alimentos y extractos vegetales (Sanchez-Moreno 2002), en este método el radical es estable y tiene una coloración púrpura que se pierde progresivamente cuando se añade al contenido de la muestra sustancias antioxidantes (Antolovich et al. 2001). El DPPH puede obtenerse directamente a diferencia del ABTS, que es generado tras una reacción química, enzimática o electroquímica (Castañeda et al. 2008) y mientras más antioxidante sea la muestra, menor será su valor (Pérez-Jiménez & Saura-Calixto 2007). La medida de la reacción DPPH – sustrato debe ser estequiométrica, en caso de que el sustrato no tenga masa molar, como en extractos de plantas (Molyneux 2004).
- FRAP, mide el total de la capacidad de reducción de radicales libres (Berardini et al. 2004; Nantitanon et al. 2010), es un ensayo sencillo y fácilmente automatizable (Pulido et al. 2000). Al determinar la capacidad que tiene la muestra para reducir un complejo férrico con (TPTZ) a su forma

ferrosa, genera una coloración de intensidad proporcional a la actividad reductora de la muestra, que puede cuantificarse por colorimetría en base a un patrón de hierro (García 2006). Los valores de FRAP se obtienen comparando el cambio de absorbancia a 593 nm en mezclas de reacción con iones ferrosos en concentraciones conocidas (Lim et al. 2007; Rojas et al. 2008). La ventaja de este método es que los extractos reaccionan rápidamente con los iones férricos (30 min), mientras que otros métodos como el DPPH llevan mucho más tiempo (24 horas) (Benzie & Strain 1996; Thaipong et al. 2006).

- Fenoles totales, los fenoles totales no son un método de actividad antioxidante, pero nos permiten conocer la cantidad de fenoles de una forma general. Folin-Ciocalteu, ha sido utilizado durante muchos años como una medida del contenido en compuestos fenólicos totales en productos naturales (Prior et al. 2005; Swain & Hillis 1959). Este análisis es complementario al cromatográfico proporcionando información valiosa a la hora de seleccionar variedades con mayor potencial antioxidante.

3. OBJETIVOS

3.1 PROPÓSITO U OBJETIVO GENERAL DE LA INVESTIGACIÓN:

Comparar el aporte en actividad antioxidante de las fracciones lipofílicas e hidrofílicas en subproductos agroindustriales de mango.

3.2 COMPONENTE U OBJETIVO ESPECÍFICO DE LA INVESTIGACIÓN:

- Cuantificar el rendimiento de extracción de las fracciones lipofílicas e hidrofílicas.
- Determinar la actividad antioxidante de las fracciones lipofílicas e hidrofílicas

4.- MATERIALES Y METODOS:

4.1 REACTIVOS Y EQUIPOS

4.1.1 Reactivos:

Los solventes empleados para la extracción fueron de grado analítico: hexano (Merck), metanol y etanol absoluto (Panreac Química S.A.)

FENOLES TOTALES: Folín-Ciocalteu 2N (Sigma – Aldrich), carbonato de sodio anhidro p.a. (Merck), ácido gálico (Sigma)

ABTS: 2,2-azinobis (3 – etilbenzotiazolina – 6 – ácidosulfónico) (Sigma), persulfato de potasio (Sigma - Aldrich), ácido – 6 –hidroxi – (2, 5, 7, 8 tetrametilcromano – 2 – carboxílico) trolox (AldrichChemistry)

DPPH: 2,2 difenil – 1 – pycrydrazyl (Sigma), ácido – 6 –hidroxi –(2, 5, 7, 8 tetrametilcromano – 2 –carboxílico)trolox (AldrichChemistry)

FRAP: 2, 4, 6 –tri – (2 –piridil – s –triazina) (TPTZ) (Sigma), acetato de sodio trihidratado (Merck), ácido clorhídrico (Sigma – Aldrich), cloruro férrico hexahidratado (Merck)

4.1.2 Equipos utilizados

-Balanza analítica Ohaus

-RotavaporBuchi

-Refractómetro MettlerToleto

- Estufa de vacío Memmert

-pH-metro digital Mettler Toledo

-Espectrofotómetro Visible Jenway

-Agitador magnético Kika

-MicropipetasBoeco

4.2 MUESTRAS

Se utilizaron los subproductos del procesamiento del despulpado de mango (*Mangifera indica* L.) variedad Tommy Atkins y Haden, específicamente la corteza y residuos de pulpa, provenientes de la empresa Agroficial (Guayaquil – Ecuador).

4.3 CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA

La materia prima fue caracterizada para estandarizar las condiciones de los subproductos del mango y así minimizar el efecto de los cambios físicos, fisiológicos y químicos sobre los resultados; los análisis realizados fueron: humedad, pH, color, acidez, °Brix e índice de madurez, como se detallan a continuación:

4.3.1 Determinación de humedad: El contenido de humedad del mango se determinó bajo el método descrito por la técnica AOAC 934.06 (2005) basado en la pérdida de peso por evaporación de agua hasta obtener un peso constante. Este método gravimétrico se realizó en una estufa de vacío; para lo cual se pesaron 5 g de muestra, esta fue colocada en una cápsula de aluminio y llevada a la estufa de vacío a $70^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ (13,3 KPa) hasta alcanzar peso constante, luego de lo cual las muestras se dejaron enfriar en un desecador y se pesaron nuevamente, el resultado se obtuvo por diferencia de pesos, como lo muestra la Ec. (1).

$$\% \text{Humedad} = \frac{P.\text{inicial} - P.\text{final}}{P.\text{inicial}} * 100 \quad \text{Ec. (1)}$$

El análisis se realizó por triplicado y el resultado se expresó como el valor promedio \pm desviación estándar.

4.3.2 Determinación de pH: El pH se midió usando la norma NTE INEN 389 (1985a), para lo cual se utilizó un pH-metro digital previamente calibrado con buffer pH 4,01 - 7,00 (Mettler Toledo). Primero fue necesario pesar $10,0 \pm 0,1$ g de la muestra fresca de mango que se disolvieron en 100 mL de agua, en dicha solución se introdujo el pH-metro digital y se tomaron las medidas correspondientes a temperatura ambiente (25°C). Las medidas se realizaron por triplicado y el resultado se expresó como valor promedio \pm desviación estándar.

4.3.3 Determinación de color: La clasificación del color de la piel de la fruta, se realizó de acuerdo a la carta de colores de la Royal Horticultural Society (RHS) de Inglaterra.

4.3.4 Determinación de acidez: La determinación de acidez titulable se realizó de acuerdo al procedimiento descrito en el método oficial AOAC 942.15 (2005) utilizando 5 g de muestra diluidos en 25 mL de agua destilada, se adicionó 4 gotas de fenolftaleína y se homogenizó, la mezcla se tituló con hidróxido de sodio 0,1 N, hasta alcanzar un pH de 8,3 (viraje de la fenolftaleína). El porcentaje de acidez se expresó como porcentaje de ácido cítrico utilizando la Ec. (2).

$$\% \text{ Acidez} = \frac{(\text{gasto de NaOH en mL})(\text{Normalidad del agente titulante})(P \text{ eq. ácido cítrico})}{\text{Alicuota de la muestra (mL)} \cdot 10} \text{ Ec. (2)}$$

4.3.5 Determinación de sólidos solubles totales: Para determinar el contenido de sólidos solubles totales de la muestra se utilizó el refractómetro colocando de 1 a 2 gotas del zumo del subproducto de mango y midiendo en la escala superior el índice de refracción, el resultado se expresó como °Brix, como lo indica la norma NTE INEN 380 - (1985b).

4.3.6 Determinación del Índice de madurez: Para determinar el índice de la madurez de la fruta se utilizaron los análisis anteriores y se lo define como el cociente entre °Brix y la acidez titulable (Ec. 3).

$$IM = \frac{^{\circ} \text{Brix}}{\text{Acidez}} \text{ Ec. (3)}$$

4.4 PREPARACIÓN DE MATERIA PRIMA

Las muestras se deshidrataron en una estufa al vacío a temperatura menor a 40 °C, para evitar la pérdida de estabilidad y de compuestos fenólicos así como la degradación y deterioro por microorganismos, así como para evitar la pérdida significativa de glucósidos y flavonoles (Berardini et al. 2004), el tiempo fue el suficiente hasta alcanzar una humedad menor o igual al 10% (Kong et al. 2010a).

Una vez seco el subproducto, se lo redujo de tamaño con un molino de cuchillas, trabajando en ciclos (100 g por 30 segundos, 3 veces) de tal forma que se evite el estrés térmico y el deterioro de la muestra, el resultado fue tamizado utilizando tamices metálicos con medidas de: 500 μm , 355 μm , 250 μm y 125 μm , obteniendo cinco fracciones: >500, >355<500, >250<355, >125<250, <125 μm (figura 4.1, tabla 4.1), que corresponden a los 5 tamaños que se analizaron; estas muestras se almacenaron en fundas plásticas a temperaturas de -20°C hasta su análisis. El esquema descrito de este procedimiento se muestra en el Anexo 1 (figura A1.1).

Figura 4.1 Muestra de mango tamizada a diferentes tamaños de partícula



Fuente: La experimentación

Tabla 4. 1 Tamaños de tamiz utilizados para los diferentes tamaños de partícula

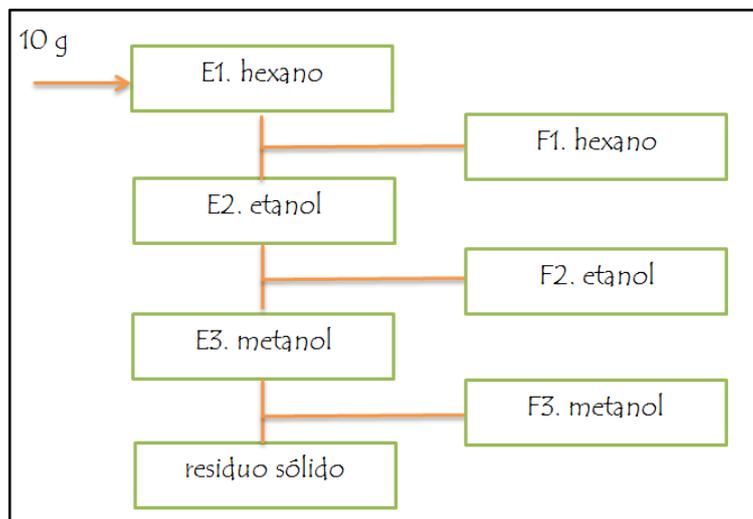
Tamaño del tamiz	Fracción
1000 μm	>500
500 μm	>355<500
355 μm	>250<355
250 μm	>125<250
125 μm	<125

Elaboración: La autora

4.5 EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES

En este trabajo se estudian las fracciones lipofílicas e hidrofílicas, en ambos casos se empleó la técnica de maceración dinámica. La figura 4.2 muestra como se obtuvieron las diferentes fracciones.

Figura 4.2 Esquema general de fracciones lipofílicas e hidrofílicas



Elaboración: La autora

4.5.1 Extracción de compuestos lipofílicos

Se colocó 10 g de muestra a maceración dinámica, la misma se realizó a temperatura ambiente. El solvente utilizado fue hexano, en relación 1:10 (peso:volumen) por un tiempo de: 3, 6 y 24 horas (figura 4.3).

Figura 4.3 Maceración dinámica



Fuente: La experimentación

Luego de terminada la etapa de maceración, se filtró al vacío para separar las fases y se volvió a someter a la muestra a dos extracciones sucesivas para aumentar la eficiencia (Arslan & Özcan 2011), una vez realizadas las tres extracciones con el mismo solvente, se guardó la parte sólida para realizar las extracciones posteriores (hidrofílicas), mientras que el solvente y los compuestos existentes en este, se recogieron y se evaporaron en un rotaevaporador a 40 °C a vacío (Benites et al., 2010), hasta obtener el extracto final (figura 4.4), el mismo que se almacenó a - 20° C hasta su análisis (Hamid et al. 2010). El esquema descrito del procedimiento se muestra en el Anexo 1 (figura A1.2).

El rendimiento de extracción se expresó como el porcentaje respecto al peso de material seco (Ec. 4):

$$Rend. \text{ extr. } (\%) = \frac{g \text{ extr. seco}}{g \text{ de muestra}} * 100 \quad \text{Ec. (4)}$$

El ensayo se realizó por triplicado y el resultado se expresó como promedio \pm desviación estándar.

Figura 4.4 Extracto lipofílico luego de la evaporación



Fuente: La experimentación

4.5.2 Extracción de compuestos hidrofílicos

La muestra almacenada obtenida de la extracción lipofílica con hexano, se sometió a una nueva maceración dinámica (Hamid et al. 2010), utilizando un solvente en relación 1:10 (w/v); debido a las diferencias de estabilidad, polaridad y solvatación se analizó el efecto de dos diferentes solventes: etanol absoluto y metanol en ese orden.

Una vez acabado el proceso de maceración, se realizó una filtración al vacío (Antolovich et al. 2000), de tal forma que fue posible separar el solvente más compuestos fenólicos de la parte sólida; este proceso se llevó a cabo dos veces más para aumentar la eficiencia de la extracción (Acosta et al. 2009; Arslan & Özcan 2011) y la parte sólida fue guardada en congelación para posteriores extracciones.

La solución: solvente más compuestos fenólicos, resultante del procedimiento anterior, se sometió a evaporación al vacío para eliminar dicho solvente. El producto seco obtenido, fue almacenado a temperatura de congelación de -20° hasta realizar los análisis de actividad antioxidante y fenoles totales (figura 4.5). El esquema del procedimiento se muestra en el Anexo 1 (figura A1.3).

Figura 4. 5 Extractos almacenados



Fuente: La experimentación

El rendimiento de extracción se expresó como porcentaje respecto al peso del material seco (Ec. 4). El ensayo se realizó por triplicado y el resultado se expresó como promedio \pm desviación estándar.

4.6 DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

El trólox es el estándar de referencia que se utilizó para hacer reaccionar a la muestra con un determinado reactivo(Prakash 2001).

4.6.1 Método DPPH

El ensayo de DPPH se realizó basándose en la técnica de Bran-Williams et al. (1995), con algunas modificaciones descritas por Thaipong et al. (2006). Se preparó una solución patrón disolviendo 24 mg de DPPH en 100 mL de metanol, la misma que fue almacenada a -4 °C hasta su uso. La solución de trabajo se preparó mezclando 10 mL de solución patrón con 45 mL de metanol hasta obtener una lectura en absorbancia de $1,1 \pm 0,02$ unidades a una longitud de onda de 515 nm en un espectrómetro UV. Se emplearon curvas estándar de trólox con concentraciones entre 25 – 800 μM . De cada concentración así como de cada muestra se tomó 150 μL en un vial, se adicionó 2,85 mL de la solución trabajo de DPPH y se dejó reaccionar por 24 horas en la obscuridad a temperatura ambiente, para posteriormente medir la absorbancia a una longitud de onda de 515 nm. Los resultados fueron expresados en μmoles equivalentes de trólox por gramo de muestra seca ($\mu\text{MolET/g MS}$). En el Anexo 1 (figura A1.4) se muestra un esquema detallado de la experimentación descrita.

4.6.2 Método ABTS:

Se empleó la técnica de Arnao et al. (2001) con algunos ajustes descritos por Thaipong et al. (2006). Se prepararon dos soluciones: ABTS (0,0074 Molar) y persulfato de potasio (0,0026 Molar), la mezcla de estas se dejó reposar por 12 horas de tal forma que se obtuvo la solución patrón de ABTS, la solución de trabajo se preparó mezclando 1 mL de solución patrón con 60 mL de MeOH hasta obtener una lectura en absorbancia de $1,1 \pm 0,02$ unidades a una longitud de onda de 515 nm en un espectrómetro UV. Se emplearon curvas estándar de trólox en concentraciones entre: 25 y 800 μM . De cada concentración así como de cada muestra se tomó 150 μL en un vial, se adicionó 2,85 mL de la solución trabajo de ABTS y se dejó reaccionar por 7 min en oscuridad a temperatura ambiente, para posteriormente medir la absorbancia a una longitud de onda de 734 nm. Los

resultados fueron expresados en μmoles equivalentes de trólox por gramo de muestra seca ($\mu\text{mol ET/g MS}$). En el Anexo 1 (figura A1.5) se muestra el esquema de la experimentación descrita.

4.6.3 Método FRAP: Este método se realizó basándose en Benzie et al. (1996) con algunas modificaciones de Thaipong et al. (2006) y Hamid et al. (2010). Se prepararon tres soluciones: buffer acetato a 300 mMolar (3,1 g $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ y 16 ml $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$), TPTZ (0,01 Molar) en HCl (0,04 Molar) y cloruro férrico (0,02 Molar), se mezclaron las tres soluciones a 37°C para obtener la solución de trabajo. Se emplearon curvas estándar de trólox con concentraciones entre: 25 y 800 μmol . De cada concentración así como de cada muestra se tomó 150 μL en un vial, se adicionó 2,85 mL de la solución trabajo FRAP y se dejó reaccionar por 30 min en oscuridad a temperatura ambiente, para posteriormente medir la absorbancia a una longitud de onda de 593 nm; los resultados fueron expresados en μmoles de trólox por gramo de muestra seca ($\mu\text{mol ET/g MS}$). En el Anexo 1 (figura A1.6) se muestra un esquema de la experimentación descrita.

4.7 DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES

En la determinación de la concentración de fenoles totales se utilizó el método de Folin-Ciocalteu, utilizando las modificaciones descritas por Kong et al. (2010b) y Thaipong et al. (2006). Se preparó una solución a 0,25 N de Folin (25 mL de Folin 2 N + 175 mL de agua destilada), una solución de carbonato de sodio a 1 N (5 g en 25 mL de agua destilada). Se tomó 150 μL de extracto, 2400 μL de agua y 150 μL de 0,25 N de Folin-Ciocalteu, se combinaron en un vial y luego se mezclaron en un vórtex. La mezcla se dejó reaccionar durante 3 minutos y a continuación se añadió 300 μL de Na_2CO_3 (1N) y se mezcló bien. La solución se incubó a temperatura ambiente en la oscuridad durante 2 h. La absorbancia se midió a 725 nm usando un espectrofotómetro UV y se emplearon curvas estándar de ácido gálico a concentraciones entre: 0,02 y 0,1 mg de ácido gálico. De cada concentración así como de cada muestra se tomó 150 μL en un vial, 2400 μL de agua destilada y 150 μL de Folin 0.25N, se agitó por 2 minutos y se dejó reaccionar por 3 minutos, luego se agregó 300 μL de carbonato de sodio (1N) y se

dejo reposar por 2 horas en oscuridad, para posteriormente medir la absorbancia a una longitud de onda de 725 nm. Los resultados fueron expresados en mg equivalentes de ácido gálico (mg GAE/100 g MS). El esquema del procedimiento se muestra en el Anexo 1 (figura A1.7)

4.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La variación en rendimiento, actividad antioxidante (ABTS, DPPH y FRAP) y fenoles totales se evaluó por medio de un ANOVA con un nivel de significancia de 95% ($P < 0,05$).

Las curvas de calibración se obtuvieron utilizando el programa Microsoft Excel 2010, todas tuvieron un coeficiente de correlación $r^2 \geq 0,99$ (Anexo 2.2). El análisis estadístico y la generación de gráficas se llevó a cabo empleando MINITAB 16 con licencia académica.

5.- RESULTADOS Y DISCUSIONES:

5.1 CARACTERIZACIÓN DEL MANGO

La caracterización de los subproductos de mango fresco de las variedades: Tommy Atkins y Haden se realizó homogenizando 4 diferentes lotes, los datos se detallan en la tabla 5.1, conjuntamente con los datos reportados en literatura (Carrera et al. 2007).

Tabla 5.1 Caracterización físico-química del mango

	Muestra	Referencia	
Propiedad	Valor numérico	Tommy Atkins	Haden
°Brix	23,25	35,85	39,48
% Acidez	0,33 (ac. Cítrico)	0,23	0,23
IM	73,86	155,87	171,65
pH	4,27	3,70	3,84
% Humedad	70,455	78,68	80,25
Color	Yellow-green group 153 D, 153 E	-----	-----

Fuente: Carrera et al. (2007)

Al realizar la comparación, se notó que las variedades estudiadas poseen características físico químicas y de calidad muy similares, mostrando la mayor diferencia en el índice de madurez de cada una, el cual depende generalmente del tiempo después de la cosecha que la fruta tuvo antes de ser estudiada. Además los datos muestran que los frutos se encontraban maduros, lo que se relaciona directamente con el contenido de compuestos bioactivos, como compuestos fenólicos o carotenoides, mejorando de esta manera la capacidad antioxidante del fruto (Repo & Encina 2008). Existe también una diferencia entre la relación

pH:acidez de la muestra y la referencia, lo cual se atribuye a que la referencia son los frutos de las variedades Tommy Atkins y Haden y la muestra son los subproductos de las mismas variedades, sumándole a esto los errores de medición que generalmente se dan al realizar los análisis, ya sea por falta de calibración, fallas del equipo o por algún error del analista.

5.2 RENDIMIENTOS DE EXTRACCIÓN DE SUBPRODUCTOS DE MANGO

La tabla 5.2, muestra el valor promedio de las tres extracciones con respecto al rendimiento de extracción.

Tabla 5.2 Rendimientos de extracción por fracciones

% de Rendimiento(expresados en base seca)			
Tamaño de partícula (µm)	Hexano	Etanol	Metanol
3 horas			
<125	1,85 ± 0,03	25,62 ± 0,116	27,78 ± 0,92
>125<250	1,85 ± 0,04	25,57 ± 0,25	28,04 ± 0,04
>250<355	1,31 ± 0,03	25,27 ± 0,69	25,83 ± 0,65
>355<500	1,58 ± 0,25	28,27 ± 2,63	26,27 ± 1,16
>500	0,75 ± 0,02	25,74 ± 0,16	28,25 ± 0,93
6 horas			
<125	1,92 ± 0,00	23,21 ± 0,34	24,27 ± 0,05
>125<250	1,83 ± 0,07	22,14 ± 1,55	23,59 ± 2,44
>250<355	1,61 ± 0,08	26,13 ± 0,34	28,30 ± 3,06
>355<500	1,48 ± 0,17	25,68 ± 1,59	31,62 ± 1,79
>500	1,15 ± 0,03	24,02 ± 0,23	25,14 ± 0,67
24 horas			
<125	2,60 ± 0,07	26,37 ± 1,36	25,90 ± 1,80
>125<250	2,68 ± 0,42	26,74 ± 1,68	24,99 ± 2,27
>250<355	2,15 ± 0,12	24,68 ± 0,65	24,72 ± 1,94
>355<500	1,64 ± 0,05	25,36 ± 0,28	25,38 ± 0,36
>500	1,49 ± 0,11	25,26 ± 1,51	20,42 ± 0,43

Fuente: Anexo 2.1

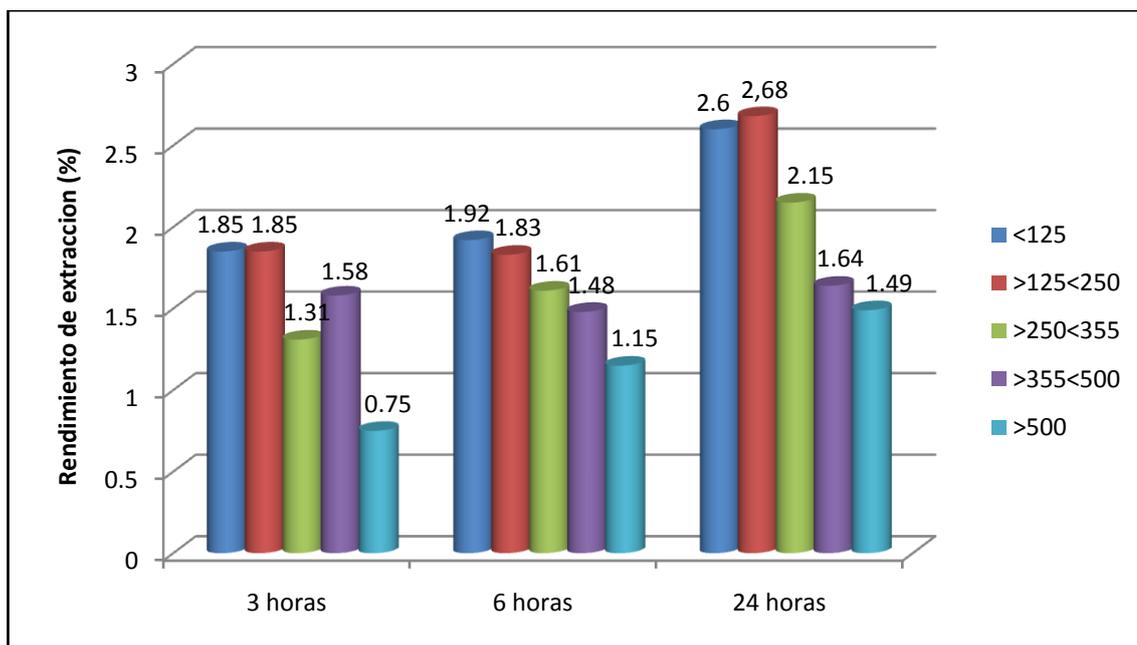
5.2.1 Rendimiento de extracción de la fracción lipofílica

El ANOVA (Anexo 3.1.1) muestra que el valor de P es $<0,05$ en las variables: tiempo, tamaño de partícula e interacción tiempo-tamaño de partícula, demostrando que hay diferencias significativas en el rendimiento de extracción con hexano.

Como se observa en la figura 5.1, el tiempo de extracción más adecuado correspondió a 24 horas, a este tiempo de extracción existió diferencia significativa en rendimiento para todos los tamaños de partícula, obteniendo el mayor rendimiento con tamaños entre >125 y $< 250 \mu\text{m}$. Este procedimiento permitió recuperar los lípidos y el material vegetal previo a extracciones posteriores (Dorta et al. 2012).

El promedio de extracción con hexano fue 1,73%

Figura 5.1 Rendimientos de extracción de la fracción lipofílica



Fuente: Anexo 2.1.1

El rendimiento de extracción obtenido con las condiciones óptimas en el presente estudio es comparable al obtenido por Ajila et al. (2007) en cáscara de mango con un 2,5% de material lipofílico extraído.

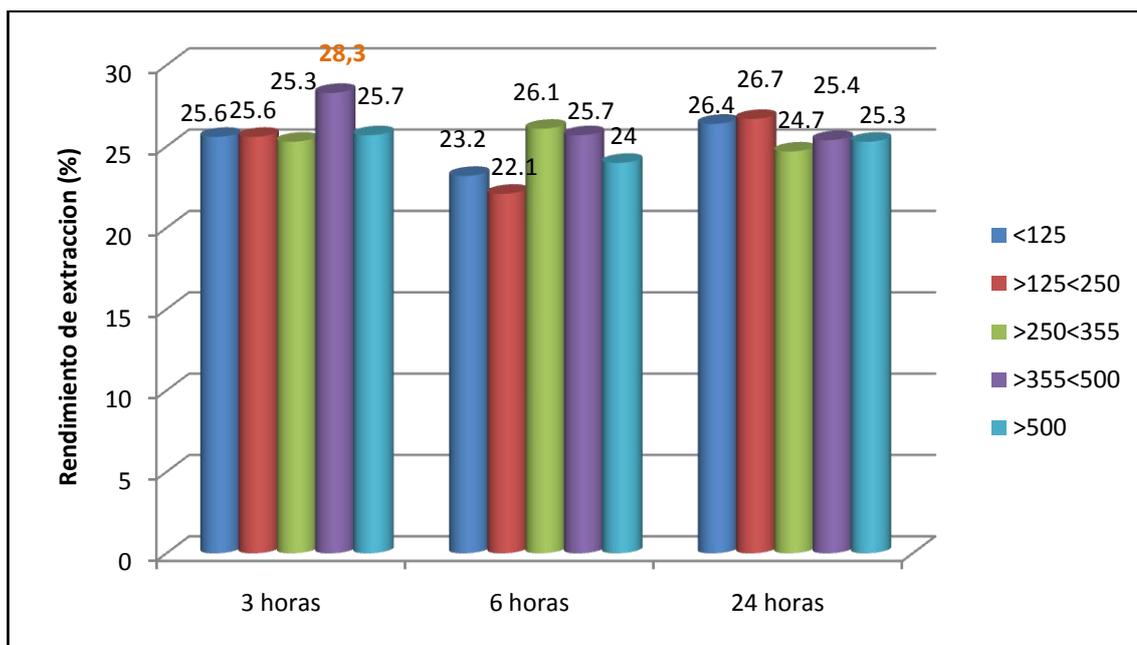
5.2.2 Rendimiento de extracción de la fracción hidrofílica

El ANOVA (Anexo 3.1.2) muestra que el valor de P fue $<0,05$ en las dos variables por separado y también en la interacción de las mismas, es decir que con cada una de las variables hay diferencias significativas en el rendimiento de extracción con etanol. Como se muestra en las figuras del Anexo 3.1.2 las condiciones de extracción más adecuadas corresponde a 3 horas y un tamaño de partícula de $>355 < 500 \mu\text{m}$.

La figura 5.2 muestra que los rendimientos de extracción con etanol son cercanos entre los tiempos de extracción y los tamaños de partícula, entre 22,14% - 28,27% lo cual indica que la extracción previa no representa alteración de la muestra para la extracción con etanol.

El rendimiento promedio de extracción fue 25,34 %

Figura 5.2 Rendimiento de extracción de la fracción hidrofílica (etanol)



Fuente: Anexo 2.1.2

El resultado reportado por Prasad et al. (2009) en extracción a alta presión con etanol fue de 30% en rendimiento, notando así que los resultados obtenidos son cercanos cuando se realiza una primera extracción con hexano.

Otros autores han propuesto diferentes condiciones de extracción de fracciones hidrofílicas, etanol al 75% Makris et al. (2007), etanol al 70% Zhang et al. (2007) y

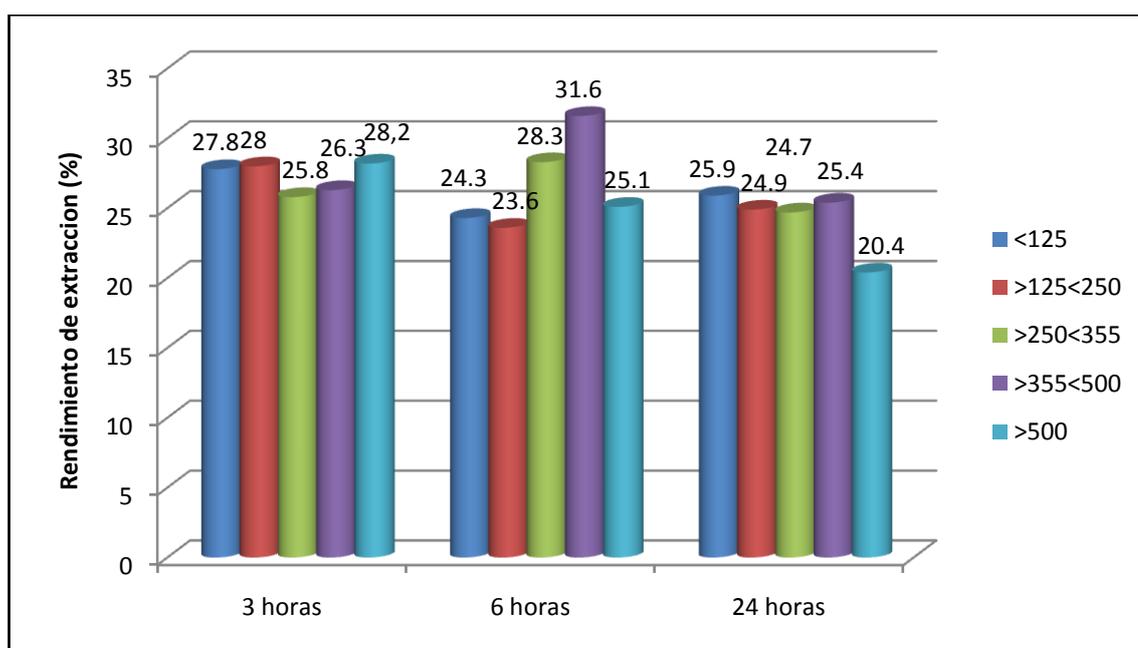
etanol al 80% Kong et al. (2010b), estos autores adicionan cierta cantidad de agua al etanol, para aumentar la eficiencia de extracción por la polaridad de la mezcla (Hamid et al. 2010), pero sin considerar que concentraciones muy bajas de etanol no presentan resultados favorables en cuanto al contenido de flavonoides, ácidos fenólicos y antocianinas (Prasad et al. 2009). Además es importante mencionar que al mismo tiempo la presencia de agua representa una dificultad en el manejo, tratamiento y conservación de los extractos (Soong & Barlow 2006).

- **Rendimiento de extracción de la fracción hidrofílica restante (metanol)**

En el ANOVA de acuerdo al valor de $P < 0,05$ (Anexo 3.1.3) las dos variables: tiempo y tamaño de partícula así como la interacción de estas tuvieron un efecto significativo en el rendimiento de extracción con metanol. De acuerdo a las figuras (Anexo 3.1.3), el mayor rendimiento de extracción se dió a 6 horas con un tamaño de partícula de $>355 < 500 \mu\text{m}$, con un rendimiento de extracción de 31,62 %.

La figura 5.3 muestra cierta relación en los rendimientos de extracción con metanol, en este caso se obtuvo valores entre 20,42% y 31,62% y a pesar de las diferencias entre tiempos y tamaños de extracción el promedio de rendimiento fue 26,03%.

Figura 5.3 Rendimientos de extracción de la fracción hidrofílica (metanol)



Fuente: Anexo 2.1.3

Resulta difícil realizar una comparación con la extracción metanólica porque en este caso corresponde al tratamiento de recuperación de compuestos luego de dos extracciones previas con hexano y etanol; sin embargo en literatura se encuentran resultados similares entre etanol (17%) y metanol (19%) con un $P > 0,05$ (Prasad et al. 2009), mientras que en otros (Dorta et al. 2012; Hamid et al. 2010; Ju & Howard 2003) el metanol extrae mejor que etanol. Las condiciones que utilizan estos autores no proporcionan resultados comparables con los obtenidos en este estudio, debido a que la muestra de la que se extrajeron los compuestos fenólicos es diferente, las condiciones de extracción no son las mismas y a que los extractos de metanol ya tuvieron extracciones con hexano y etanol, en las cuales se obtuvieron las fracciones lipofílicas y una parte de las hidrofílicas.

5.3 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Para establecer la fracción adecuada no basta comparar el rendimiento de extracción, es necesario determinar la calidad del extracto ya sea por su composición química y las propiedades relacionadas a estos.

En este estudio se determinó la actividad antioxidante de los diferentes extractos (como se detalló en la sección 4.6), a continuación se muestran los resultados.

5.3.1 Actividad antioxidante de la fracción Lipofílica

La tabla 5.3 muestra un resumen de los resultados de actividad antioxidante de la fracción lipofílica de los subproductos de mango obtenida a partir de los métodos: ABTS, DPPH y FRAP, en la primera parte se realiza un análisis del ANOVA aplicado para la comparación de los resultados obtenidos, mientras que en la segunda parte se muestra una comparación con los resultados que otros autores han obtenido en estudios anteriores.

Tabla 5.3 Resumen de actividad antioxidante de la fracción lipofílica

Fracción lipofílica			
	ABTS	DPPH	FRAP
Tamaño de partícula (µm)	µmol TE/g MS	µmol TE/g MS	µmol TE/g MS
3 horas			
<125	2,72 ± 0,29	2,36 ± 0,25	2,05 ± 0,29
>125<250	3,20 ± 0,89	2,52 ± 0,49	2,19 ± 0,36
>250<355	2,05 ± 0,16	1,53 ± 0,13	1,76 ± 0,17
>355<500	2,64 ± 0,35	2,34 ± 0,57	2,05 ± 0,33
>500	1,42 ± 0,08	0,97 ± 0,10	1,15 ± 0,16
6 horas			
<125	2,82 ± 0,78	2,75 ± 0,74	2,43 ± 0,18
>125<250	3,08 ± 0,46	2,83 ± 0,26	2,82 ± 0,52
>250<355	1,88 ± 0,42	2,42 ± 0,63	1,97 ± 0,18
>355<500	2,28 ± 0,58	2,07 ± 0,21	2,26 ± 0,52
>500	1,61 ± 0,34	1,58 ± 0,39	1,72 ± 0,34
24 horas			
<125	3,85 ± 0,68	3,01 ± 0,57	3,11 ± 0,11
>125<250	4,97 ± 1,70	4,64 ± 1,42	3,58 ± 0,61
>250<355	3,60 ± 0,48	3,25 ± 0,55	3,18 ± 0,39
>355<500	2,87 ± 0,29	2,34 ± 0,29	2,30 ± 0,30
>500	2,64 ± 0,04	2,49 ± 0,48	2,03 ± 0,30

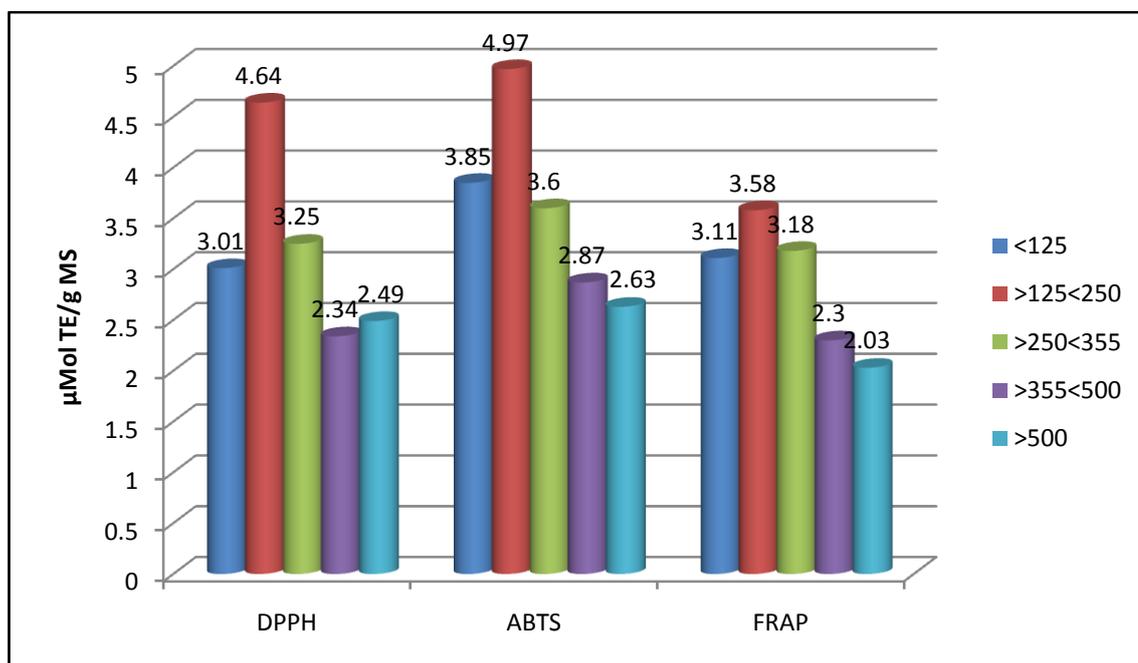
n = 3

Fuente: Anexo 2.3.1.1; 2.3.1.2; 2.3.1.3

El ANOVA ($p < 0,05$) mostró que el tiempo de extracción y el tamaño de partícula tuvieron efecto significativo sobre el valor de actividad antioxidante para DPPH, ABTS y FRAP.

En todos los tamaños analizados el tiempo de extracción de 24 horas mostró mayor actividad antioxidante que 3 y 6 horas. La figura 5.4 compara los valores de actividad antioxidante en 24 horas.

Figura 5.4 Actividad antioxidante de la fracción lipofílica



Fuente: Anexo 2.3.1.1; 2.3.1.2; 2.3.1.3

La combinación de tiempo y tamaño de partícula más adecuada mostró ser 24 horas y tamaño $>125 <250 \mu\text{m}$ con resultados de 4,64; 4,97 y 3,58 $\mu\text{mol TE/g MS}$ para DPPH, ABTS y FRAP respectivamente.

5.3.1.1 Fenoles totales de la fracción lipofílica

Para fenoles totales, la tabla 5.4 muestra los resultados para los extractos analizados.

Tabla 5.4 Fenoles totales de la fracción lipofílica

Fenoles totales (mg GAE/100 g MS)

Tamaño de partícula	3 horas	6 horas	24 horas
<125	28,71 ± 5,34	25,16 ± 4,85	46,98 ± 16,86
>125<250	32,88 ± 8,2	34,80 ± 6,06	50,81 ± 14,66
>250<355	20,48 ± 2,38	23,41 ± 4,27	41,89 ± 1,59
>355<500	26,34 ± 3,73	26,38 ± 8,69	30,04 ± 3,56
>500	13,78 ± 0,96	18,14 ± 4,14	22,67 ± 2,02

Fuente: Anexo 2.3.1.4

Similarmente el tiempo de extracción y el tamaño de partícula mostraron un efecto significativo, en la que la mejor combinación corresponde a 24 horas y un tamaño de partícula >125<250 µm obteniendo 50,8 mg GAE/100 g MS.

La comparación con otros autores no se puede dar debido a la diferencia en las condiciones de extracción utilizadas como: tipo de solvente, relación sólido: solvente, tiempo de extracción, tamaño de partícula y temperatura y en el caso de las fracciones lipofílicas debido a que estas han sido poco estudiadas y no se han encontrado estudios similares.

5.3.2 Actividad antioxidante de la fracción hidrofílica

La tabla 5.5 muestra un resumen de los resultados de actividad antioxidante de la fracción hidrofílica de los subproductos de mango obtenida a partir de los métodos: ABTS, DPPH y FRAP, en la primera parte se realiza un análisis del ANOVA aplicado para la comparación de los resultados obtenidos, mientras que en la segunda parte se muestra una comparación con los resultados que otros autores han obtenido en estudios anteriores.

Tabla 5.5 Resumen de actividad antioxidante de la fracción hidrofílica

Fracción hidrofílica						
Tamaño de partícula (µm)	ABTS		DPPH		FRAP	
	Etanol µmol TE/g MS	Metanol µmol TE/g MS	Etanol µmol TE/g MS	Metanol µmol TE/g MS	Etanol µmol TE/g MS	Metanol µmol TE/g MS
3 horas						
<125	167,26 ± 2,64	128,91 ± 11,05	130,51 ± 8,98	110,30 ± 11,74	62,69 ± 4,92	63,15 ± 4,77
>125<250	156,40 ± 7,03	136,00 ± 15,16	124,77 ± 3,75	119,99 ± 12,21	63,66 ± 3,73	68,67 ± 10,27
>250<355	141,87 ± 15,14	121,42 ± 8,30	116,33 ± 17,00	96,52 ± 13,78	51,53 ± 10,11	58,79 ± 2,12
>355<500	181,88 ± 58,51	135,91 ± 52,90	162,36 ± 51,46	113,75 ± 43,84	71,54 ± 20,24	62,24 ± 25,77
>500	164,28 ± 16,62	180,47 ± 27,28	135,10 ± 6,69	151,18 ± 18,82	59,46 ± 4,35	92,04 ± 15,26
6 horas						
<125	142,82 ± 4,22	133,19 ± 8,48	121,02 ± 4,31	107,76 ± 11,52	57,53 ± 1,46	64,07 ± 2,20
>125<250	132,39 ± 18,85	132,86 ± 50,16	102,87 ± 3,15	127,89 ± 43,38	48,83 ± 0,95	64,49 ± 25,44
>250<355	163,74 ± 1,87	137,45 ± 56,59	134,01 ± 3,96	117,19 ± 46,81	61,88 ± 1,79	65,61 ± 27,96
>355<500	127,11 ± 11,08	218,67 ± 20,46	103,88 ± 8,96	179,39 ± 31,60	48,74 ± 5,97	114,78 ± 15,38
>500	152,34 ± 7,38	184,20 ± 9,66	115,65 ± 4,84	168,81 ± 15,50	57,87 ± 2,08	109,05 ± 20,79
24 horas						
<125	156,58 ± 38,94	106,69 ± 11,79	117,85 ± 29,43	91,92 ± 4,88	65,85 ± 19,98	59,36 ± 1,61
>125<250	149,49 ± 10,89	134,49 ± 16,54	128,38 ± 3,67	117,23 ± 22,89	64,65 ± 1,51	69,67 ± 13,99
>250<355	133,94 ± 23,50	113,07 ± 17,28	118,62 ± 25,83	104,62 ± 18,26	59,84 ± 10,59	62,06 ± 10,25
>355<500	165,19 ± 34,30	119,04 ± 15,51	145,86 ± 34,57	104,22 ± 6,62	69,04 ± 13,22	63,92 ± 1,45
>500	135,59 ± 9,88	148,03 ± 8,55	117,19 ± 11,02	137,38 ± 23,58	56,58 ± 5,95	94,07 ± 15,55

n = 3

Fuente: Anexos 2.3.2.1; 2.3.2.2; 2.3.2.3; 2.3.3.1; 2.3.3.2; 2.3.3.3

5.3.2.1 Fracción etanólica

La tabla 5.6 muestra una síntesis del ANOVA (Anexo 3.2.2) para actividad antioxidante de la fracción etanólica.

Tabla 5.6 Resumen de ANOVA para la fracción etanólica

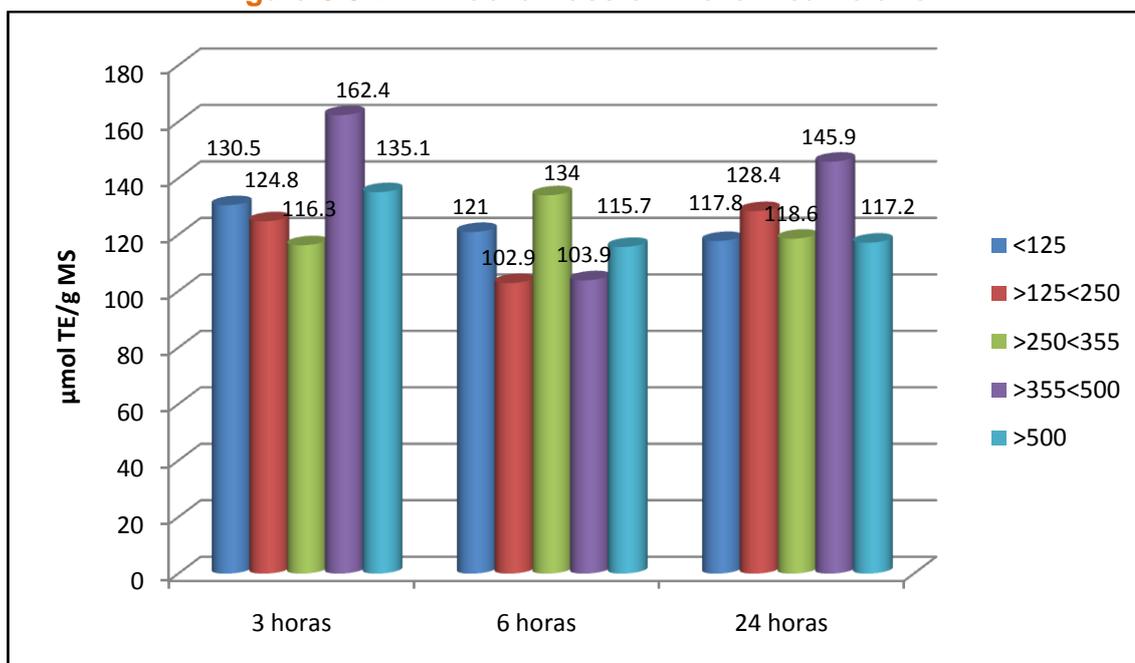
	DPPH	ABTS	FRAP
Tiempo de extracción	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Tamaño de partícula	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Interacciones	>0,05	>0,05	< 0,05

Fuente: Anexo 3.2.2

5.3.2.1.1 DPPH

De acuerdo a la figura 5.5 los valores de DPPH están en un rango de 102,9 y 162,4 $\mu\text{mol TE/g MS}$ con un promedio de: 124,96 $\mu\text{mol TE/g MS}$. En la tabla 5.6 se observa que P fue > 0,05 en la interacción de variables y que P fue < 0,05 en el análisis de efectos principales, determinando así dichos efectos si influyen significativamente en los resultados y que la mejor actividad antioxidante DPPH se encuentra a 3 horas con un tamaño de partícula de >355<500 μm (162,4 $\mu\text{mol TE/g MS}$).

Figura 5.5 DPPH de la fracción hidrofílica - etanol

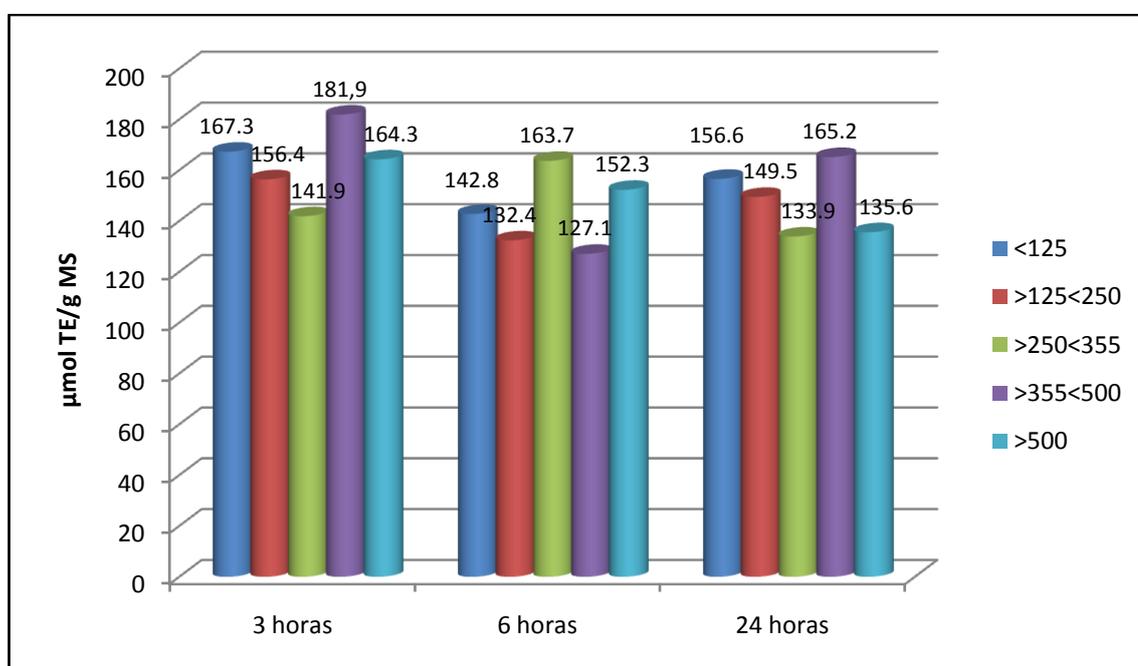


Fuente: Anexo 2.3.2.1

5.3.2.1.2 ABTS

De acuerdo a la figura 5.6 los valores de ABTS están en un rango de 127,1 y 181,9 $\mu\text{mol TE/g MS}$ con un promedio de 151,39 $\mu\text{mol TE/g MS}$. En la tabla 5.6 se observa que $P > 0,05$ en el análisis de interacción de variables y que $P < 0,05$ en el análisis de efectos principales (tiempo, tamaño de partícula), determinando que aunque no hay diferencia significativa en las interacciones, al haberla en los efectos principales esto influye y nos permite determinar que la mejor actividad antioxidante ABTS (181,9 $\mu\text{mol TE/g MS}$) se obtuvo a 3 horas con un tamaño de partícula de $>355<500\mu\text{m}$.

Figura 5.6 ABTS de la fracción hidrofílica - etanol

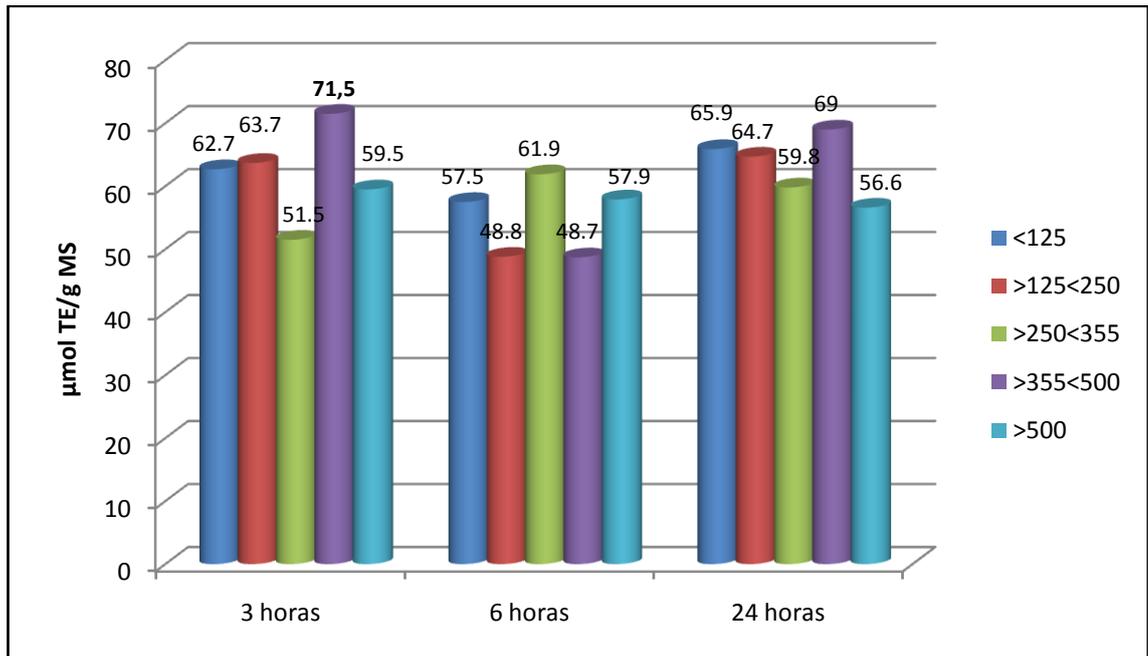


Fuente: Anexo 2.3.2.2

5.3.2.1.3 FRAP

Los valores de FRAP están entre 48,7 y 71,5 $\mu\text{mol TE/g MS}$ con un promedio de 59,98 $\mu\text{mol TE/g MS}$. La tabla 5.6 muestra un valor de $P < 0,05$ tanto en efectos principales como en la interacción, lo que muestra que hay diferencia significativa entre los datos, determinando así que la mejor actividad antioxidante FRAP (71,5 $\mu\text{mol TE/g MS}$) se obtiene a 3 horas con un tamaño de partícula de $>355<500$ (figura 5.7).

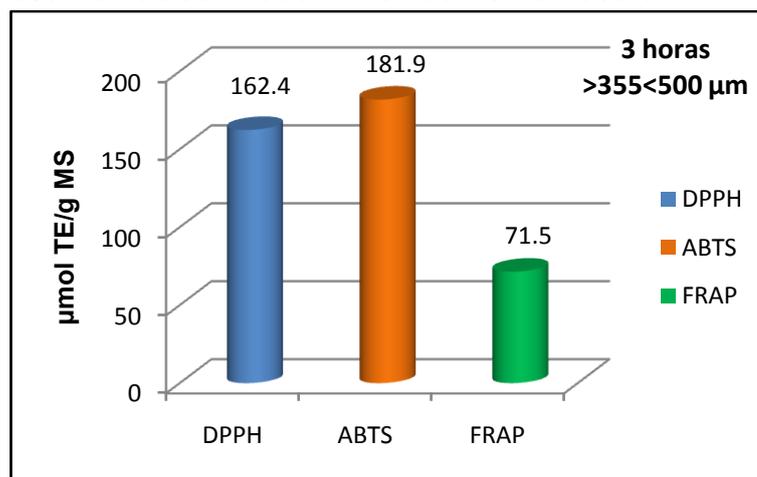
Figura 5.7 FRAP de la fracción hidrofílica - etanol



Fuente: Anexo 2.3.2.3

Las mejores condiciones de extracción en cuanto a actividad antioxidante correspondieron a un tiempo de extracción de 3 horas y un tamaño de partícula de >355<500 µm para DPPH, ABTS y FRAP como lo muestra la figura 5.8, para lo cual es necesario considerar no solo las interacciones sino también la influencia de los efectos principales.

Figura 5.8 Resumen de actividad antioxidante de fracción hidrofílica (etanol)



Fuente: Anexo 3.2.2

5.3.2.1.4 FENOLES TOTALES

La tabla 5.7 muestra el resumen de los resultados de fenoles totales en los extractos hidrofílicos analizados.

Tabla 5.7 Fenoles Totales de la fracción hidrofílica (etanol)

Fenoles totales (mg GAE/100 g MS)			
Tamaño de partícula (µm)	3 horas	6 horas	24 horas
<125	1278,53 ± 77,95	1106,58 ± 55,44	1150,78 ± 140,99
>125<250	1206,42 ± 51,26	1052,64 ± 135,33	1362,77 ± 138,40
>250<355	1247,34 ± 88,86	1363,25 ± 80,47	1265,96 ± 126,86
>355<500	1727,31 ± 735,20	1253,61 ± 79,56	1456,16 ± 199,75
>500	1398,39 ± 97,91	1209,55 ± 150,65	1309,57 ± 216,62

Fuente: Anexo 3.3.2

Luego de analizar la actividad antioxidante de la fracción hidrofílica extraída con etanol, con cada uno de los tres métodos y luego de haber determinado el contenido de compuestos fenólicos, se pudo establecer que las mejores condiciones de extracción se dan a 3 horas con un tamaño de partícula de >355<500 µm, para DPPH (162,4 µmol TE/g MS), ABTS (181,9 µmol TE/g MS), FRAP (71,5 µmol TE/g MS) y fenoles totales (1727,31 mg GAE/100 g MS).

5.3.2.2 Fracción Metanólica

Es imprescindible hacer notar que en los extractos obtenidos con metanol no se busca precisamente la mejor extracción, sino más bien hacer una contabilización de los compuestos no extraídos con etanol, debido a que hay una relación inversamente proporcional y mientras mayor sea la cantidad de compuestos extraídos con etanol, menor será la cantidad que extraiga el metanol y viceversa.

La tabla 5.8 muestra una síntesis del ANOVA (Anexo 3.2.3) para actividad antioxidante de la fracción metanólica.

Tabla 5.8 Resumen de ANOVA para la fracción metanólica

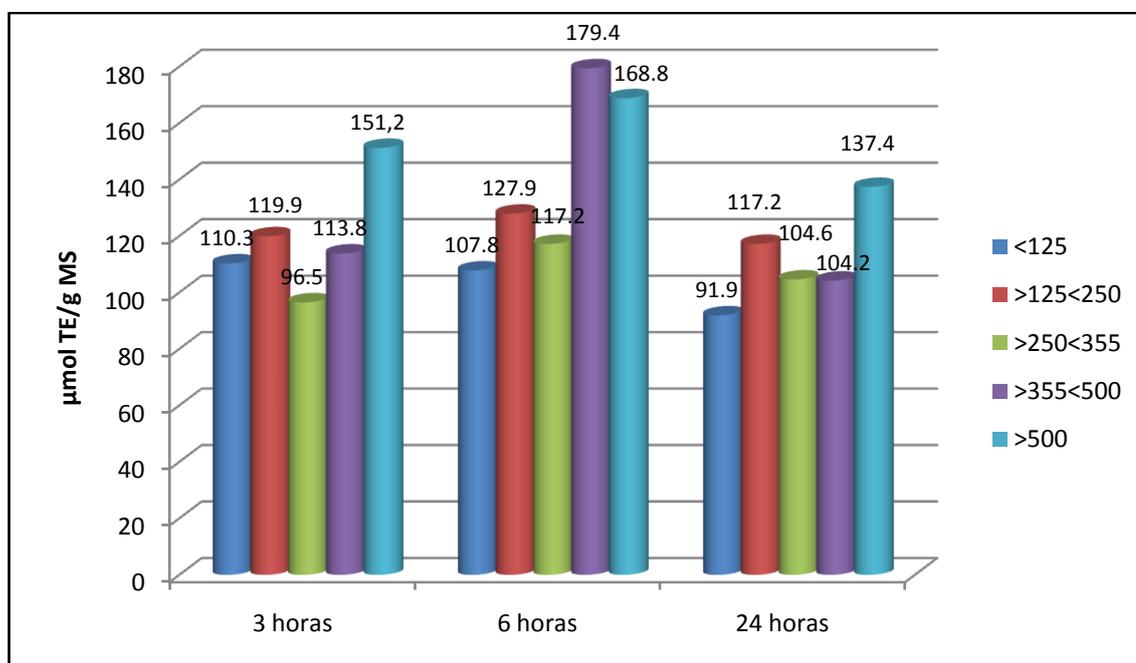
	DPPH	ABTS	FRAP
Tiempo de extracción	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Tamaño de partícula	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Interacciones	>0,05	>0,05	< 0,05

Fuente: Anexo 3.2.3

5.3.2.2.1 DPPH

Los valores de DPPH se encuentran en un rango de 91,9 y 179,4 $\mu\text{mol TE/g MS}$ con un promedio de: 123,21 $\mu\text{mol TE/g MS}$, como muestra la tabla 5.8 el valor de P fue > 0,05 en el análisis de interacciones y P fue < 0,05 en el análisis de efectos principales, lo que indica que si hay diferencia significativa en los resultados obtenidos y que la mejor actividad antioxidante DPPH (179,4 $\mu\text{mol TE/g MS}$) se obtuvo con muestra >355 <500 μm y con maceración de 6 horas como lo indica la figura 5.9.

Figura 5.9 DPPH de la fracción hidrofílica - metanol

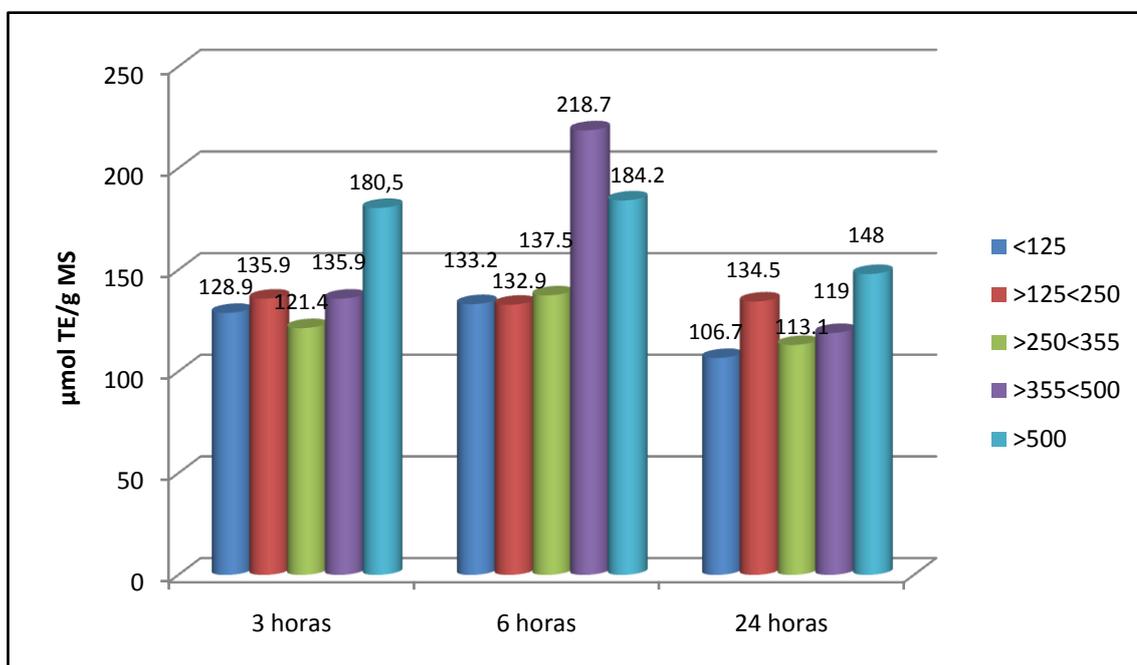


Fuente:2.3.3.1

5.3.2.2.2 ABTS

Los valores de ABTS se encuentran en un rango de 106,7 y 218,7 $\mu\text{mol TE/g MS}$ con un promedio de 142,03 $\mu\text{mol TE/g MS}$, como muestra la tabla 5.8 el valor de P fue $> 0,05$ en el análisis de interacciones y P fue $< 0,05$ en el análisis de efectos principales, lo que indica que si hay diferencia significativa en los resultados obtenidos y que la mejor actividad antioxidante ABTS (218,7 $\mu\text{mol TE/g MS}$) se obtuvo con muestra $>355 <500 \mu\text{m}$ y con maceración de 6 horas como lo indica la figura 5.10.

Figura 5.10 ABTS de la fracción hidrofílica - metanol

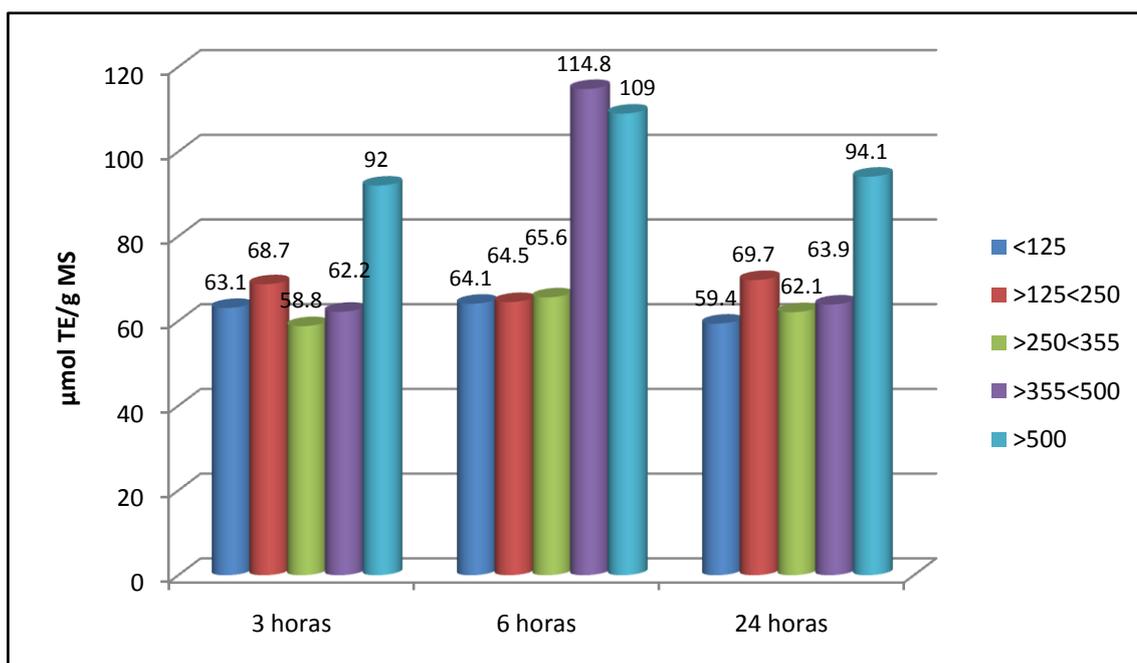


Fuente: Anexo 2.3.3.2

5.3.2.2.3 FRAP

Los valores de FRAP se encuentran en un rango de 58,8 y 114,8 $\mu\text{mol TE/g MS}$ con un promedio de 74,13 $\mu\text{mol TE/g MS}$, como muestra la tabla 5.8 el valor de P fue $> 0,05$ en el análisis de interacciones y P fue $< 0,05$ en el análisis de efectos principales, lo que indica que si hay diferencia significativa en los resultados obtenidos y que la mejor actividad antioxidante FRAP (114,8 $\mu\text{mol TE/g MS}$) se obtuvo con muestra $>355 <500 \mu\text{m}$ y con maceración de 6 horas como lo indica la figura 5.11.

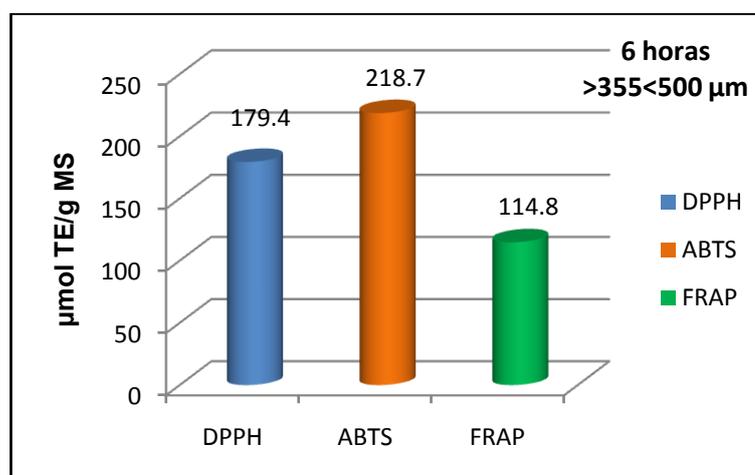
Figura 5.11 FRAP de la fracción hidrofílica - metanol



Fuente: Anexo 2.3.3.3

Las mejores condiciones de extracción en cuanto a actividad antioxidante correspondieron a un tiempo de extracción de 6 horas y un tamaño de partícula de >355<500 µm para DPPH, ABTS y FRAP como lo muestra la figura 5.13, para lo cual es necesario considerar no solo las interacciones sino también la influencia de los efectos principales.

Figura 5.12 Resumen de actividad antioxidante, fracción hidrofílica (metanol)



Fuente: Anexo 3.2.3

5.3.2.2.4 FENOLES TOTALES

Para fenoles totales, los resultados se pueden observar en la tabla 5.9, mostrando que la mayor cantidad de fenoles se obtiene a 3 horas de extracción con un tamaño de partícula >500 μm (1513,87 mg GAE/100 g MS), pudiendo también considerarse el valor de 1510,43 mg GAE/100 g MS que se obtiene a 6 horas y con un tamaño de partícula >355<500 μm .

Tabla 5.9 Fenoles Totales de la fracción hidrofílica (metanol)

Fenoles totales (mg GAE/100 g MS)			
Tamaño de partícula μm	3 horas	6 horas	24 horas
<125	966,28 \pm 115,29	865,98 \pm 73,25	886,20 \pm 17,31
>125<250	990,70 \pm 93,08	903,96 \pm 239,38	962,60 \pm 111,97
>250<355	954,68 \pm 127,30	964,88 \pm 212,20	854,26 \pm 199,19
>355<500	1035,93 \pm 368,02	1510,43 \pm 142,44	830,08 \pm 132,26
>500	1513,87 \pm 151,79	1483,12 \pm 10,99	1159,51 \pm 189,68

Fuente: Anexo 3.3.3

Luego de analizar la actividad antioxidante y la cantidad de fenoles totales de la fracción hidrofílica (extraída con metanol) se determinó que las mejores condiciones de extracción se dan a 6 horas y utilizando un tamaño de partícula de >355<500 μm , obteniendo: DPPH (179,4 $\mu\text{mol TE/g MS}$), ABTS (218,7 $\mu\text{mol TE/g MS}$), FRAP (114,8 $\mu\text{mol TE/g MS}$) y fenoles totales 1510,43 mg GAE/100 g MS.

Es importante mencionar que lo que se busca en este trabajo es establecer una sola condición tanto en tiempo como en tamaño de partícula para la extracción de la fracción lipofílica e hidrofílica. Se consiguió una mejor extracción de la fracción lipofílica utilizando 24 horas de maceración dinámica y un tamaño de partícula >125<250 μm , la mejor extracción hidrofílica con etanol se dió con 3 horas de maceración dinámica y un tamaño de partícula >355<500 μm y la mejor extracción hidrofílica con metanol se dió a 6 horas de maceración dinámica y con un tamaño de partícula >355<500 μm , todo esto se detalla en la tabla 5.10

Tabla 5.10 Tabla resumen de mejores condiciones de extracción

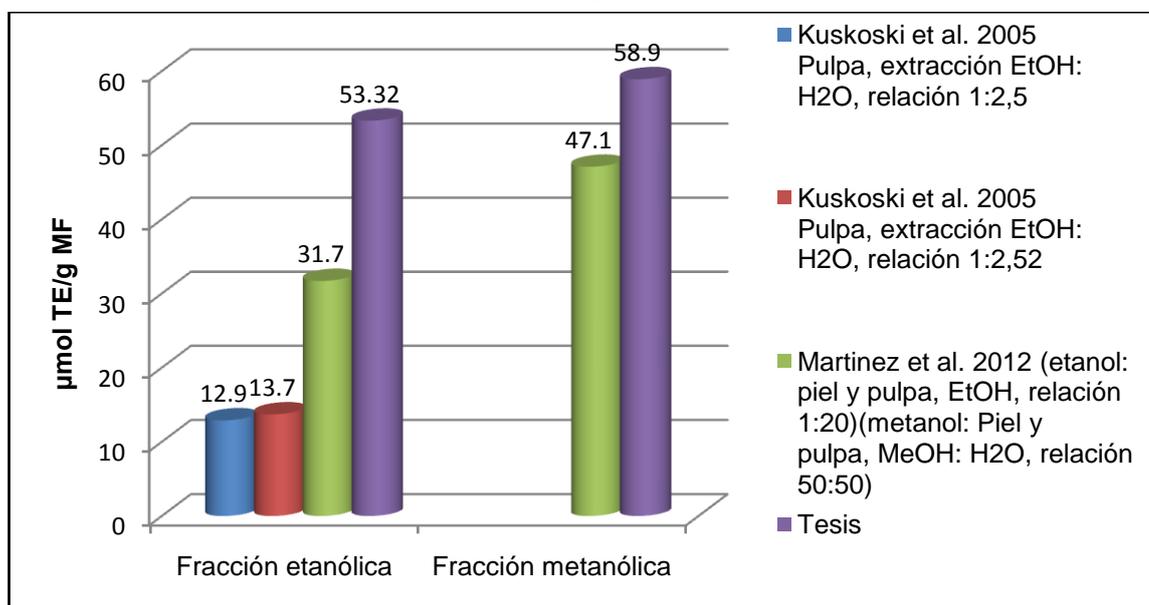
	Fracción lipofílica	Fracción hidrofílica (etanol)	Fracción hidrofílica (metanol)
Tiempo, tamaño de partícula μm	24 horas, >125<250	3 horas, >355<500	6 horas, >355<500
DPPH ($\mu\text{mol TE/g MS}$)	4,649	162,4	179,4
ABTS ($\mu\text{mol TE/g MS}$)	4,979	181,9	218,7
FRAP ($\mu\text{mol TE/g MS}$)	3,589	71,5	114,8
Fenoles totales (mg GAE/100 g MS)	50,8	1727,31	1510,43

Fuente: Anexo 3.2; 3.3

5.3.3 Comparación de resultados

➤ MÉTODO DPPH

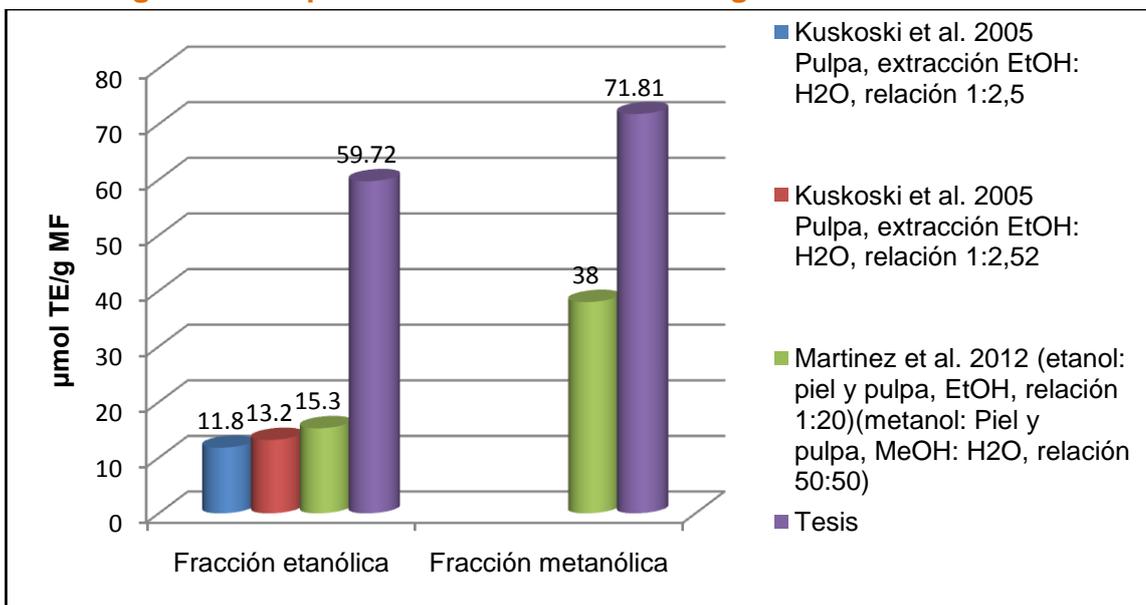
Figura 5.13 Capacidad antioxidante de mango evaluada mediante DPPH



Elaboración: La autora

➤ **MÉTODO ABTS**

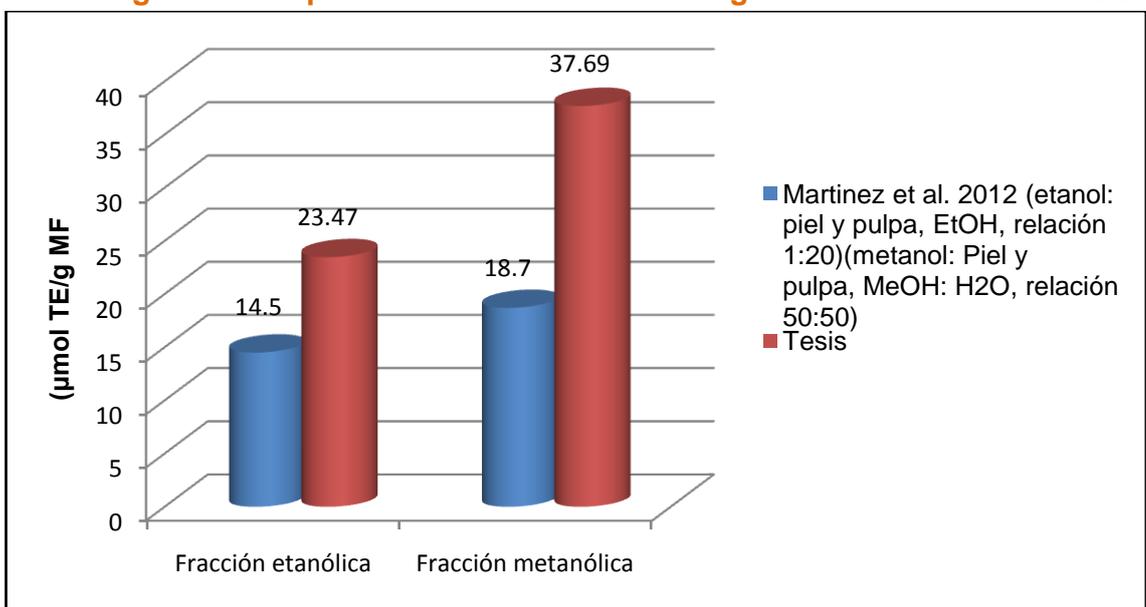
Figura 5.14 Capacidad antioxidante de mango evaluada mediante ABTS



Elaboración: La autora

➤ **MÉTODO FRAP**

Figura 5.15 Capacidad antioxidante de mango evaluada mediante FRAP



Elaboración: La autora

Las frutas contienen compuestos diferentes, por esta razón cuando se desea estimar la actividad antioxidante de materiales vegetales es necesario utilizar más

de un método para obtener una imagen completa de la capacidad antioxidante de dichos compuestos.

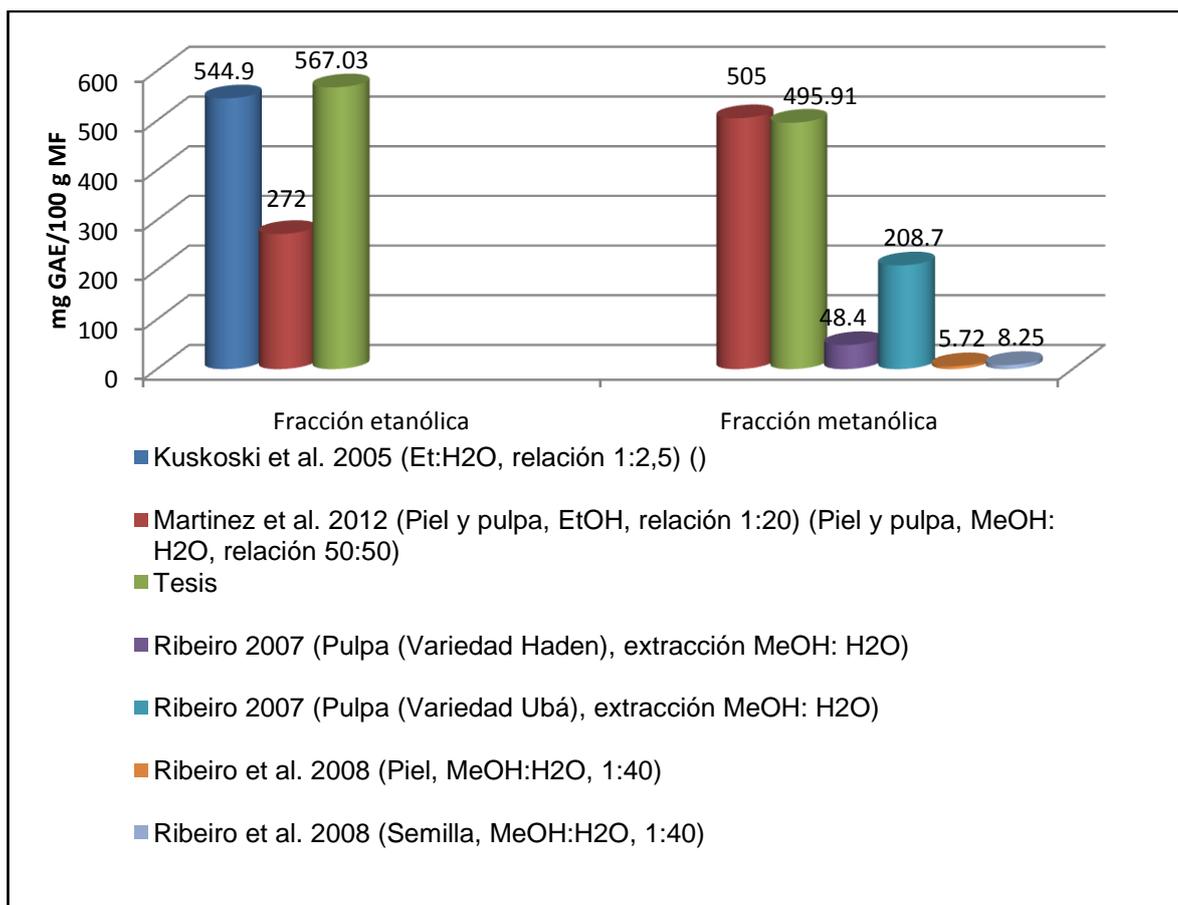
Es necesario considerar que no se han encontrado estudios que reporten la actividad antioxidante de subproductos obtenidos a partir de frutas como el mango, sin embargo, hay numerosos estudios realizados a frutas frescas, como se puede observar en las figuras 5.13, 5.14 y 5.15, pero al comparar los datos obtenidos con dichas referencias se notó que los valores son distintos, esta diferencia se debe a que en este estudio se analizaron los subproductos más no la fruta, además debido a que el contenido de compuestos antioxidantes se ve influenciado por las condiciones de extracción, estado de madurez de la fruta, variedad de la materia prima, ubicación geográfica de la misma (Hamid et al. 2010; Lim et al. 2007; Maisuthisakul & Gordon 2009), tipo de solvente utilizado, concentración de dicho solvente, tiempo de extracción, tamaño de partícula, temperatura de extracción, relación sólido: solvente y debido a que hay muchos ensayos con diferentes sustratos, cinética de reacción y métodos analíticos para evaluar la actividad antioxidante (Mahattanatawee et al. 2006).

Además se considera que a pesar de utilizar el mismo método de análisis, los resultados varían dependiendo del solvente utilizado para obtener el extracto (Hamid et al. 2010), por lo cual las comparaciones entre resultados de capacidad antioxidante sólo pueden hacerse para un mismo método y para muestras obtenidas con los mismos disolventes (Pérez-Jiménez & Saura-Calixto 2007).

➤ FENOLES TOTALES

En la tabla 5.16 se muestran algunos valores de fenoles totales en frutas de mango con diferentes condiciones de extracción.

Tabla 5.16 Comparación de fenoles totales del mango



Elaboración: La autora

El contenido fenólico, puede ser utilizado como un importante indicador de la capacidad antioxidante y se considera una característica necesaria cuando un alimento pretende usarse como fuente natural de antioxidantes.

En la figura 5.16 se muestran los datos del contenido de fenoles totales en diferentes muestras de mango, los cuales no pudieron ser comparados puesto que no se relacionan directamente, mostrando que la concentración y el tipo de sustancias fenólicas en las frutas y subproductos dependió de varios factores como: variedad de fruta, estado de madurez y época de cosecha, factores ambientales como tipo de suelo y clima, factores genéticos y principalmente debido a que el tratamiento de la muestra y las condiciones de extracción son diferentes.

La recuperación de los polifenoles está influenciada por la solubilidad de los compuestos fenólicos en el disolvente que se utilice para la extracción, lo que

depende de la polaridad del solvente, concentración del mismo, mezclas de solventes y relación soluto: solvente que se utilice.

Es importante además mencionar que pese a que los resultados no son comparables con los de la referencia, las condiciones utilizadas en el presente estudio nos dan cantidades mucho más favorables sobre todo de actividad antioxidante, lo que significa que el proceso ha mejorado si nos basamos en los resultados obtenidos por Martínez et al. (2012), Ribeiro (2007) y las demás referencias, demostrando así que las extracciones sucesivas nos permiten obtener una mayor cantidad de extracto, así como un mayor contenido de antioxidantes y que el lavado previo con hexano nos permitió extraer los compuestos lipofílicos que se encontraban en la pared de la célula, facilitando así las posteriores extracciones con etanol y metanol.

6. CONCLUSIONES:

El mejor rendimiento de extracción de la fracción lipofílica fue 32,68% (w/w) durante 24 horas utilizando un tamaño de partícula $>125<250 \mu\text{m}$. El mejor rendimiento de la fracción hidrofílica utilizando etanol como solvente fue 28,3% (w/w), que se obtuvo con un tamaño de partícula $>355<500 \mu\text{m}$, durante 3 horas y el mejor rendimiento de la fracción hidrofílica utilizando metanol como solvente fue 31,6% (w/w) obtenido con un tamaño de partícula $>355<500 \mu\text{m}$, durante 6 horas.

Se logró conocer el aporte en la actividad antioxidante de las fracciones lipofílicas e hidrofílicas en los subproductos agroindustriales de mango, de modo que la mayor actividad antioxidante de las tres fracciones estudiadas correspondió a la extraída con etanol, con valores para DPPH 162,4 $\mu\text{mol TE/g MS}$ y ABTS 181,9 $\mu\text{mol TE/g MS}$ que fueron de 34-36 veces mayores que la fracción lipofílica y de 1,34 a 1,4 veces más que la fracción hidrofílica extraída con metanol y en FRAP 71,5 $\mu\text{mol TE/g MS}$ la fracción extraída con etanol es 19 veces mayor a la lipofílica y 1,2 veces mayor a la hidrofílica extraída con metanol.

Las mejores condiciones para extracción de fracciones tanto lipofílicas como hidrofílicas fueron: $>355<500 \mu\text{m}$ de tamaño de partícula durante 3 horas de maceración dinámica, esto considerando que la fracción de mayor interés es la hidrofílica obtenida con etanol.

Las mejores condiciones para extracción de la fracción hidrofílica extraída con etanol fueron 3 horas con un tamaño de partícula $>355<500 \mu\text{m}$, obteniendo: rendimiento de 28,3%; DPPH 162,4 $\mu\text{mol TE/g MS}$; ABTS 181,9 $\mu\text{mol TE/g MS}$; FRAP 71,5 $\mu\text{mol TE/g MS}$ y fenoles totales 1727,31 mg GAE/100 g MS.

La actividad antioxidante más favorable de la fracción lipofílica se obtuvo a 24 horas con un tamaño de partícula $>125<250 \mu\text{m}$, los valores fueron: DPPH 4,649 $\mu\text{mol TE/g MS}$, ABTS 4,979 $\mu\text{mol TE/g MS}$, FRAP 3,589 $\mu\text{mol TE/g MS}$ y fenoles totales 50,8 mg GAE/100 g MS

La actividad antioxidante de la fracción hidrofílica extraída con metanol correspondiente a la mayor actividad antioxidante en el extracto etanólico, se obtuvo a 3 horas con un tamaño de partícula $>355<500 \mu\text{m}$, obteniendo: DPPH

113,8 $\mu\text{mol TE/g MS}$, ABTS 135,9 $\mu\text{mol TE/g MS}$, FRAP 62,2 $\mu\text{mol TE/g MS}$ y fenoles totales 1035,9 mg GAE/100 g MS.

7.- RECOMENDACIONES:

Para obtener mayor cantidad de compuestos fenólicos, se podría utilizar diferentes solventes con distinta polaridad, buscando reducir el tiempo de extracción y el consumo de solventes.

Es recomendable realizar los análisis de actividad antioxidante en el menor tiempo, ya que los reactivos y extractos que se utilizan tienden a degradarse al estar expuestos al ambiente.

Tanto para actividad antioxidante como para fenoles totales, es recomendable que las muestras sean leídas considerando el tiempo de reacción establecido por la técnica y de esta forma evitar resultados equívocos.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abdalla, AE; Darwish, SM; Ayad, EH ; El-Hamahmy, R. 2007. Egyptian mango by-product 2: Antioxidant and antimicrobial activities of extract and oil from mango seed kernel. *Food Chemistry*. 103(4): 1141-1152
- Acosta, J; Nuevas, L; Amaro, D ; Alvarez, J. 2009. Estudio del proceso de lixiviación de la corteza vegetal de *Mangifera indica* L . *Latin American journal of Pharmacy*. 28(1): 27-31
- Ajila, C; Naidu, K; Bhat, S ; Prasada, U. 2007. Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. *Food Chemistry*. 105(1): 982-988
- Alexandre, B ; Pinto, R. 2010. Biotechnological reuse of fruit residues as a rational strategy for agro-industrial resources. *Journal of Technology Management and innovation*. 5(2): 104-112
- Amin, I ; Mukhrizah, O. 2006. Antioxidant capacity of methanolic and water extracts prepared from food-processing by-products. *Science of Food and Agriculture*. 81(1): 778-784
- Antolovich, M; Prenzler, P; Robards, K ; Ryan, D. 2000. Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruits. *The Analyst critical review*. 125(2000): 989-1009
- Antolovich, M; Prenzler, PD; Patsalides, E; Mcdonald, S ; Robards, K. 2001. Methods for testing antioxidant activity. *The Analyst critical review*. 127(1): 183-198
- AOAC. 2005. Association of oficial analytical chemists. *Official Methods of Analysis*. Octava edición. Washington DC.
- Arnao, M; Cano, A ; Acosta, M. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry*. 73(1): 239-244
- Arslan, D ; Özcan, M. 2011. Phenolic profile and antioxidant activity of olive fruits of the Turkish variety “ Sariulak ” from different locations. Selçuk University, Faculty of Agriculture, Department of Food Engineering. Konya, Turkey. 62. 453-461
- Ashoush, I ; Gadallah, M. 2011. Utilization of mango peels and seed kernels powders as sources of phytochemicals in biscuit. *World Journal of Dairy & Food Sciences*. 6(1): 35-42
- Avello, M ; Suwalsky, M. 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea* 2(2006): 161-172
- Bally, I. 2006. *Mangifera indica* (mango) Hawaii. Consultado 2012-09-25. Disponible en <http://www.agroforestry.net/tti/Mangifera-mango.pdf>
- Barreto, J; Tresivan, M; Hull, W; Erben, G; Brito, E; Pfundstein, B; Spiegelhalder, B ; Owen, R. 2008. Characterization and quantitation of polyphenolic compounds in bark, kernel, leaves, and peel of mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56(14): 5599–5610

- Belitz, HD ; Grosch, W. 1988. Quimica de los alimentos. Zaragoza, España. 231.
- Benites, J; Lopez, J; Kusch, F; Gajardo, S; Jorqueta, G ; Salazar, G. 2010. Actividad antioxidante , antibacteriana y analgésica de extractos de *Mangifera indica* L. *Biofarbo*. 18(2): 10-19
- Benzie, IF ; Strain, JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “ antioxidant power ”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. 239(292): 70-76
- Berardini, N; Carle, R ; Schieber, A. 2004. Characterization of gallotannins and benzophenone derivatives from mango (*Mangifera indica* L. cv. 'Tommy Atkins') peels, pulp and kernels by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *Rapid communications in mass spectrometry*. 18(19): 2208-2216
- Berardini, N; Fezer, R; Conrad, J ; Beifuss, U. 2005a. Screening of Mango (*Mangifera indica* L.) cultivars for their contents of flavonol O- and xanthone C-Glycosides, anthocyanins, and pectin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(5): 1563-1570
- Berardini, N; Knodler, M; Schieber, A ; Carle, R. 2005b. Utilization of mango peels as a source of pectin and polyphenolics.
- Brand-Williams, W; Cuvelier, M ; Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*. 28(1995): 25-30
- Carrera, A; Mark, D ; Gil, R. 2007. Some physical and chemical characteristics of fruit of five varieties of mango in conditions of sheet of the condition Monogás State. *Agronomía Tropical*. 28(2007): 27-30
- Jornadas de ingeniería industrial y carreras afines. (Primera edición, 2009, San Juan). Estudio de impacto ambiental y social. Caso de una Planta Procesadora de Mango Hipólito Yrigoyen , Provincia de Salta.
- Castañeda, C; Ramos, L ; Ibáñez, V. 2008. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Revista Horizonte Médico*. 8(2008): 56-72
- Conde, E. 2009. Revalorización de residuos agroindustriales y forestales para la obtención de antioxidantes naturales con aplicaciones en la industria alimentaria, cosmética y/o farmacéutica. Ourense. Universidad de Vigo. 3-118
- Dorta, E; Lobo, MG ; Gonzalez, M. 2012. Reutilization of mango byproducts: Study of the effect of extraction solvent and temperature on their antioxidant properties. *Journal of Food Science*. 71(2012): 80-88
- Evans, EA. 2008. Tendencias recientes en la producción , comercio y consumo de mango en el mundo y en Estados Unidos. Universidad de Florida. Florida. 1-7
- FAO. 2011. Producción de mango en el año 2009 Consultado 2011-11-25. Disponible en <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>

- Finkel, T ; Holbrook, JN. 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*. 108(2000): 239
- FME. 2000. Fundación Mango Ecuador. Areas de cultivo Guayaquil. Consultado 2011-11-20. Disponible en <http://www.mangoecuador.org/areas-cultivo.php>
- García, FJ. 2006. Elaboración in vitro e in vivo de la funcionalidad de un producto rico en antioxidantes. Tesis doctoral. Murcia. Universidad de Murcia. 1-202
- González, G; Villegas, M; Cruz, M; Vásquez, F ; Ayala, J. 2005. Irradiación (UV-C) de mango fresco cortado y su efecto en la capacidad antioxidante. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. México. 277-282
- Guha, S; Ghosal, S ; Chattopadhyay, U. 1996. Antitumor, immunomodulatory and anti-HIV effect of mangiferin, a naturally occurring glucosylxanthone. *Chemotherapy*. 42(1996): 443-451
- Hamid, K; Abdullah, A; Jusoh, K ; Subramaniam, V. 2010. Antioxidant activity of pink-flesh guava (*Psidium guajava* L.): Effect of extraction techniques and solvents. *Food Analytical Methods*. 4(2010): 100-107
- IICA. 2007. Estudio de la Cadena Agroalimentaria de Mango en la República Dominicana. Secretaria de Estado de Agricultura, Instituto Interamericano de Cooperación para la agricultura, Consejo Nacional de Competitividad. Republica Dominicana. 1-59
- INEN. 1985a. Determinación de la concentración del ión hidrógeno (pH) en conservas vegetales. Ecuador. Norma 389
- INEN. 1985b. Determinación de Sólidos Solubles. Ecuador. Norma 380
- Ju, ZY ; Howard, L. 2003. Effects of solvent and temperature on pressurized liquid extraction of anthocyanins and total phenolics from dried red grape skin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(2003): 5207-5213
- Kong, K; Ismail, A; Tan, CP ; Rabaj, N. 2010a. Optimization of oven drying conditions for lycopene content and lipophilic antioxidant capacity in a by-product of the pink guava puree industry using response surface methodology. *Food Science and Technology*. 43(2010): 729-753
- Kong, K; Ismail, A; Tan, S; Murthy, K; Prasad, N ; Ismail, A. 2010b. Response surface optimisation for the extraction of phenolics and flavonoids from a pink guava puree industrial by-product. *Food Science and Technology*. 45(2010): 1739-1745
- Kosterman, A ; Bompard, J. 1993. The mangoes, their botany, nomenclature, horticulture and utilization.
- Kuskoski, M; Asuero, AG; Troncoso, AM; Mancini-filho, J ; Fett, R. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciencia y tecnología de alimentos*. 25(2005): 726-732

- Larrauri, J; Rupérez, P; B.; B ; Saura-calixto, F. 1996. Mango Peels as a New Tropical Fibre: Preparation and Characterization. *Food Science and Technology*. 29(8): 729-733
- Lim, Y; Lim, T ; Tee, J. 2007. Antioxidant properties of several tropical fruits : A comparative study. *Food Chemistry*. 103(2007): 1003-1008
- Luque de Castro, MD ; García-Ayuso, LE. 1998. Soxhlet extraction of solid materials: An outdated technique with a promising innovative future. *Analytica Chimica Acta*. 356(1998): 1-10
- Mahattanatawee, K; Manthey, JA; Luzio, G; Talcott, ST; Goodner, K ; Baldwin, EA. 2006. Total antioxidant activity and fiber content of select Florida-Grown tropical fruits. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 54(2006): 7355-7363
- Maisuthisakul, P ; Gordon, M. 2009. Antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of mango seed kernel by product. *Food Chemistry*. 117(2009): 332-341
- Makris, D; Boskou, G ; Andrikopoulos, N. 2007. Recovery of antioxidant phenolics from white vinification solid by-products employing water/ethanol mixtures. *Bioresource Technology*. 98(2007): 2963-2967
- Manach, C; Williamson, G; Morand, C; Scalbert, A ; Rémésy, C. 2005. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans . I . Review of 97 bioavailability studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 81(2005): 230-242
- Martinez, I; Periago, M ; Gaspar, R. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos latinoamericanos de nutrición*. 50(2000): 5-18
- Martínez, R; Torres, P; Meneses, M; Figueroa, J ; Pérez-Álvarez, J. 2012. Chemical, technological and *in vitro* antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. *Food Chemistry*. 153(2012): 1520-1526
- Mejía, LF; Albán, DC; Cuervo, R ; Durán, J. 2009. Hidrólisis y fermentación alcohólica simultánea (HFS) del residuo agroindustrial del mango común (*Mangifera indica* L) utilizando levaduras *Saccharomyces cerevisiae* spp y cepa recombinante RH 218. *Revista científica Guillermo de Ockham*. 7(2009): 51-64
- Milner, JA. 2000. Functional foods: the US perspective. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 71(2000): 1654-1659
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science and Technology*. 26(2004): 211-219
- Nantitanon, W; Yotsawimonwat, S ; Okonogi, S. 2010. Factors influencing antioxidant activities and total phenolic content of guava leaf extract. *Food Science and Technology*. 43(2010): 1095-1103

- Pérez-Jiménez, J ; Saura-Calixto, F. 2007. Metodología para la evaluación de capacidad antioxidante en frutas y hortalizas. Departamento de metabolismo y nutrición. Instituto del Frío. Madrid. 1150-1160
- Prakash, A. 2001. Antioxidant activity. Analytical Progress Press. 19(2001): 1-6
- Prasad, NK; Yang, B; Zhao, M; Wang, BS; Chen, F ; Jiang, Y. 2009. Effects of high-pressure treatment on the extraction yield , phenolic content and antioxidant activity of litchi (*Litchi chinensis* Sonn .) fruit pericarp. International Journal of Food Science and Technology. 44(2009): 960-966
- Prior, R; Wu, X ; Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. Journal Agricultural Food Chemistry. 53(2005): 4290- 4302
- Pulido, R; Bravo, L ; Saura-Calixto, F. 2000. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. Journal Agricultural Food Chemistry. 48(2000): 3396-3402
- RDS. 2003. Cadena agroalimentaria del mango. Red para el desarrollo sostenible de México. México. 1-213
- 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(1999): 1231-1237
- Repo, R ; Encina, C. 2008. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. Rev Soc Quím Perú. 74(2): 108-124
- Ribeiro, S. 2007. Antioxidant in mango (*Mangifera indica*) Pulp. Plant Foods for Human Nutrition. 62(2007): 13-17
- Ribeiro, S; Barbosa, L; Queiroz, J; Knödler, M ; Schieber, A. 2008. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. Food Chemistry. 110(2008): 620-26
- Rojas, D; Narváez, C ; Restrepo, L. 2008. Evaluación del contenido de vitamina c , fenoles totales y actividad antioxidante en pulpa de guayaba (*Psidium Guajava* L.) de las variedades pera , regional roja y regional blanca. Departamento de Química, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Bogota. 49-60
- SAGARPA. 2005. Plan rector, sistema nacional mango. Secretaria de Agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. Acapulco. 6-10
- Sáiz, MJ ; López, N. 2010. Obtención y aplicación de extractos naturales. Centro Nacional de Tecnología y Seguridad Alimentaria. 1-44
- Sanchez-Moreno, C. 2002. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. Food Science and Technology. 8(2002): 121-137

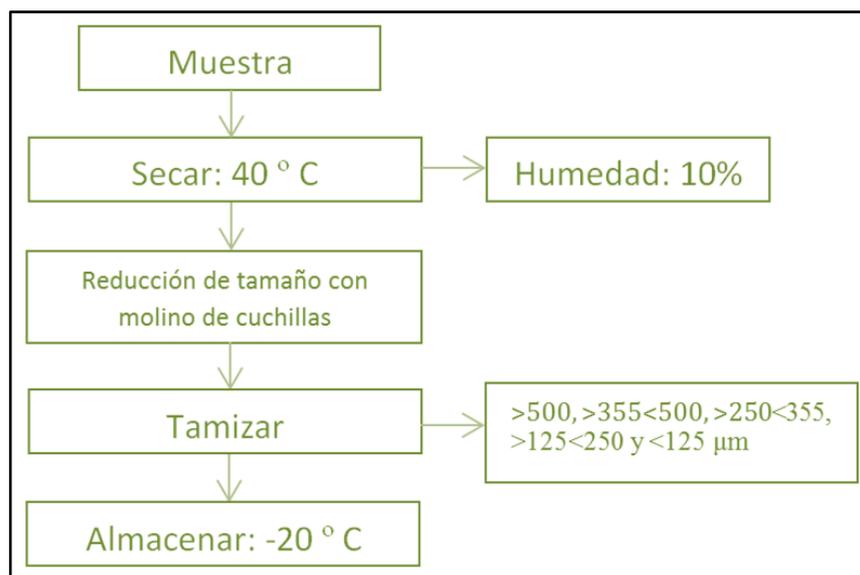
- Sanchez-Moreno, C; Larrauri, JA ; Saura-Calixto, F. 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Science of Food and Agriculture*. 76(1998): 270-276
- Saura-Calixto, F ; Goñi, I. 2006. Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. *Food Chemistry*. 94(2006): 442-447
- Sawa, T; Nakao, M; Akaike, T; Ono, K ; Maeda, H. 1999. Alkylperoxyl radical-scavenging activity of various flavonoids and other phenolic compounds, implications for the anti-tumor- promoter effect of vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47(1999): 397-402
- Schieber, A; Berardini, N ; Carle, R. 2003. Identification of flavonol and xanthone glycosides from mango (*Mangifera indica* L. Cv. "Tommy Atkins") peels by High-Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 51(2003): 5006-5011
- Schieber, A; Stintzing, F ; Carle, R. 2001. By-products of plant food processing as a source of functional compounds — recent developments. *Food Science and Technology*. 12(2001): 401-413
- Sharapin, N. 2000. *Fundamentos de tecnología de productos Fitoterapéuticos*. Primera edición. Colombia.
- Sohal, RS ; Weindruch, R. 1996. Oxidative stress, caloric restriction and aging. *National Institutes of Health*. 273(1996): 59-63
- Soong, Y-Y ; Barlow, PJ. 2006. Quantification of gallic acid and ellagic acid from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) seed and mango (*Mangifera indica* L.) kernel and their effects on antioxidant activity. *Food Chemistry*. 97(2006): 524-530
- Spigno, G; Tramelli, L ; De Faveri, D. 2007. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*. 81(2007): 200-208
- Swain, T ; Hillis, W. 1959. The Phenolic constituents of *prunus domestica*. *Science of Food and Agriculture*. 10(1959): 63-68
- Thaipong, K; Boonprakob, U; Crosby, K; Cisneros-zevallos, L ; Hawkins, 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(2006): 669-675
- Torres, J. 2007. *Optimización de las condiciones de operación de tratamientos osmóticos destinados al procesado mínimo de mango (*Mangifera indica* L.)*. Tesis doctoral. Valencia. Universidad Politécnica de Valencia. 7-246
- Torres, J; Caballero, B; Burgos, JS ; Fernández, JM. 2010. Análisis del aprovechamiento de subproductos del mango (*Mangifera indica* L.) para a obtención de compuestos farmacológicos y nutricionales. *Alimentaria*. 417(2010): 95-98

- Torres, J; Talens, P; Escriche, A ; Chiralt, A. 2006. Influence of process conditions on mechanical properties of osmotically dehydrated mango. *Journal of Food Engineering*. 74(2006): 240-246
- Tsimidou, M. 1998. Polyphenols and quality of virgin olive oil in retrospect. *Italiano Journal of Food Science*. 10(1998): 99-116
- USDA. 2006. National Nutrient Database for Standard Reference. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. 669-675
- Yepes, SM; Montoya, LJ ; Orozco, F. 2008. Valorización de residuos agroindustriales - frutas - en Medellín y el sur del valle de Aburrá, Colombia. *Red de revistas científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal*. 61(2008): 4422-4431
- Zhang, S-q; Bi, H-B ; Liu, C-j. 2007. Extraction of bio-active components from rhodiola sachalinensis under ultrahigh hydrostatic pressure. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 57(2007): 277-282

9. ANEXOS:

ANEXO 1. Esquemas

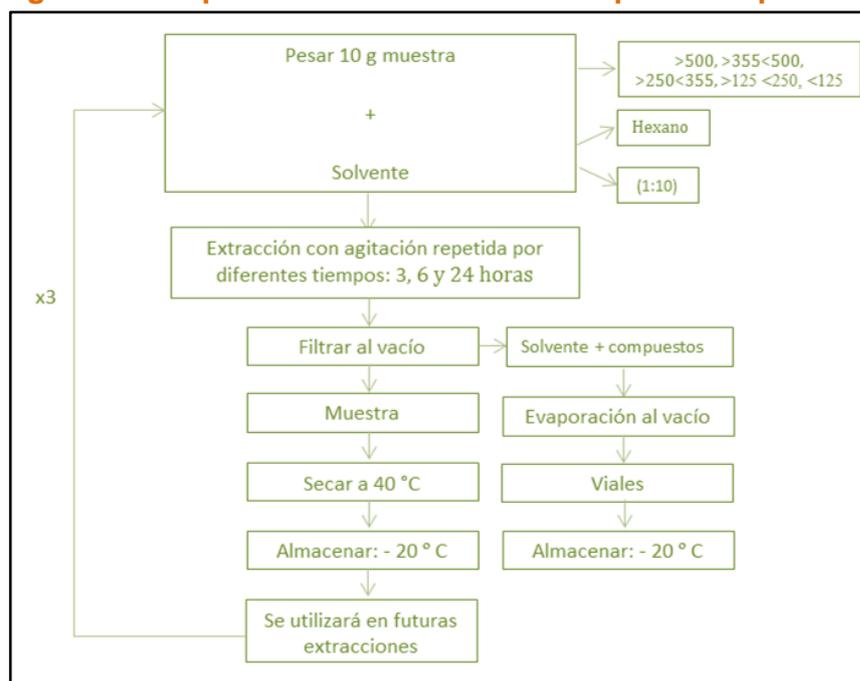
Figura 1.1 Preparación de materia prima



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

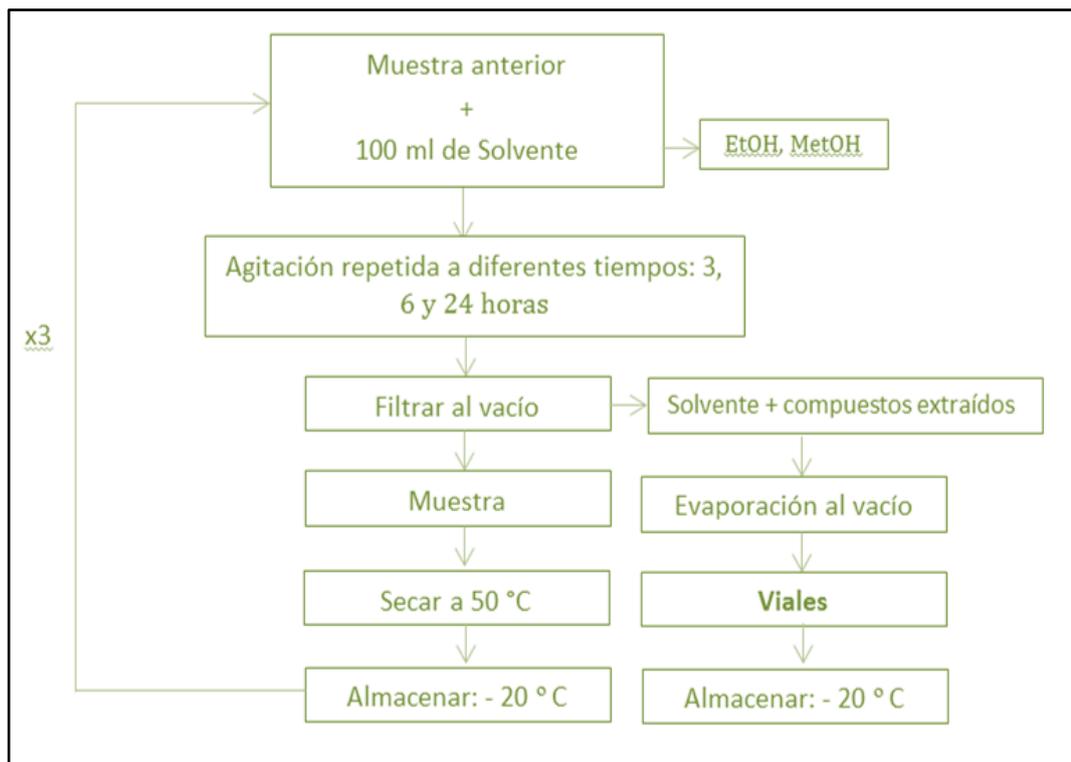
Figura 1.2 Esquema de extracción de compuestos lipofílicos



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

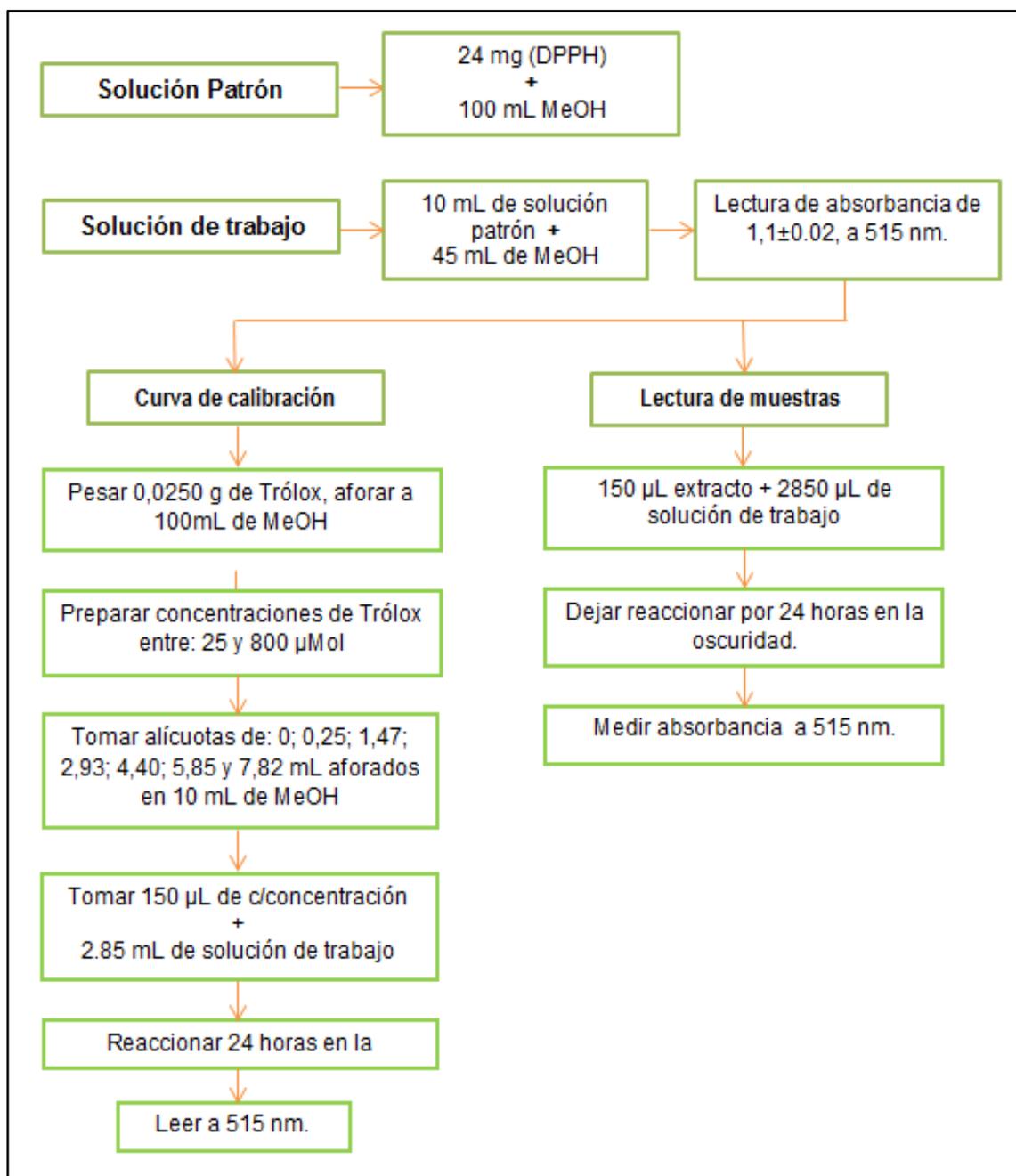
Figura 1.3 Extracción de compuestos fenólicos hidrofílicos



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

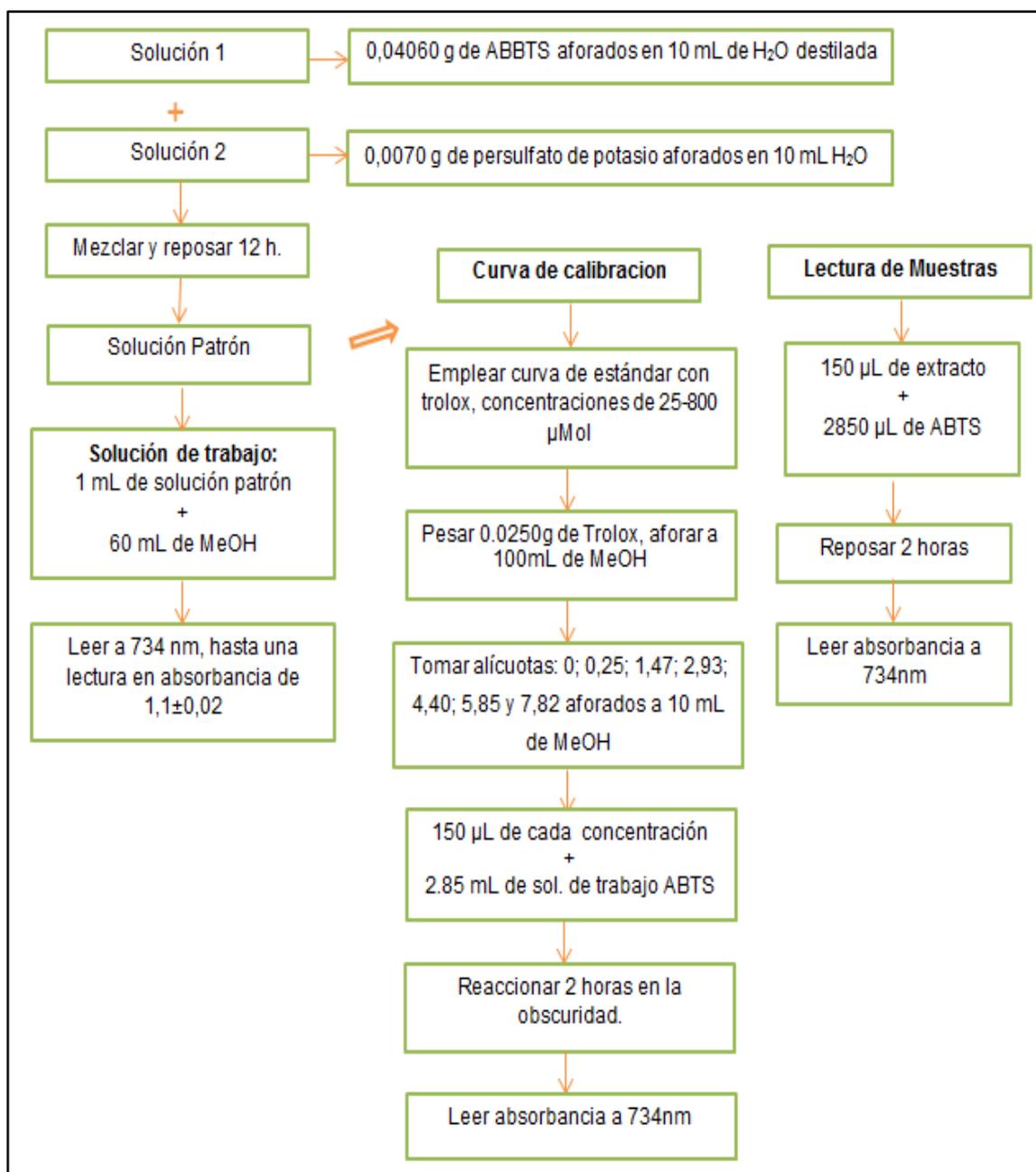
Figura 1.4 Esquema de determinación de actividad antioxidante (DPPH)



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

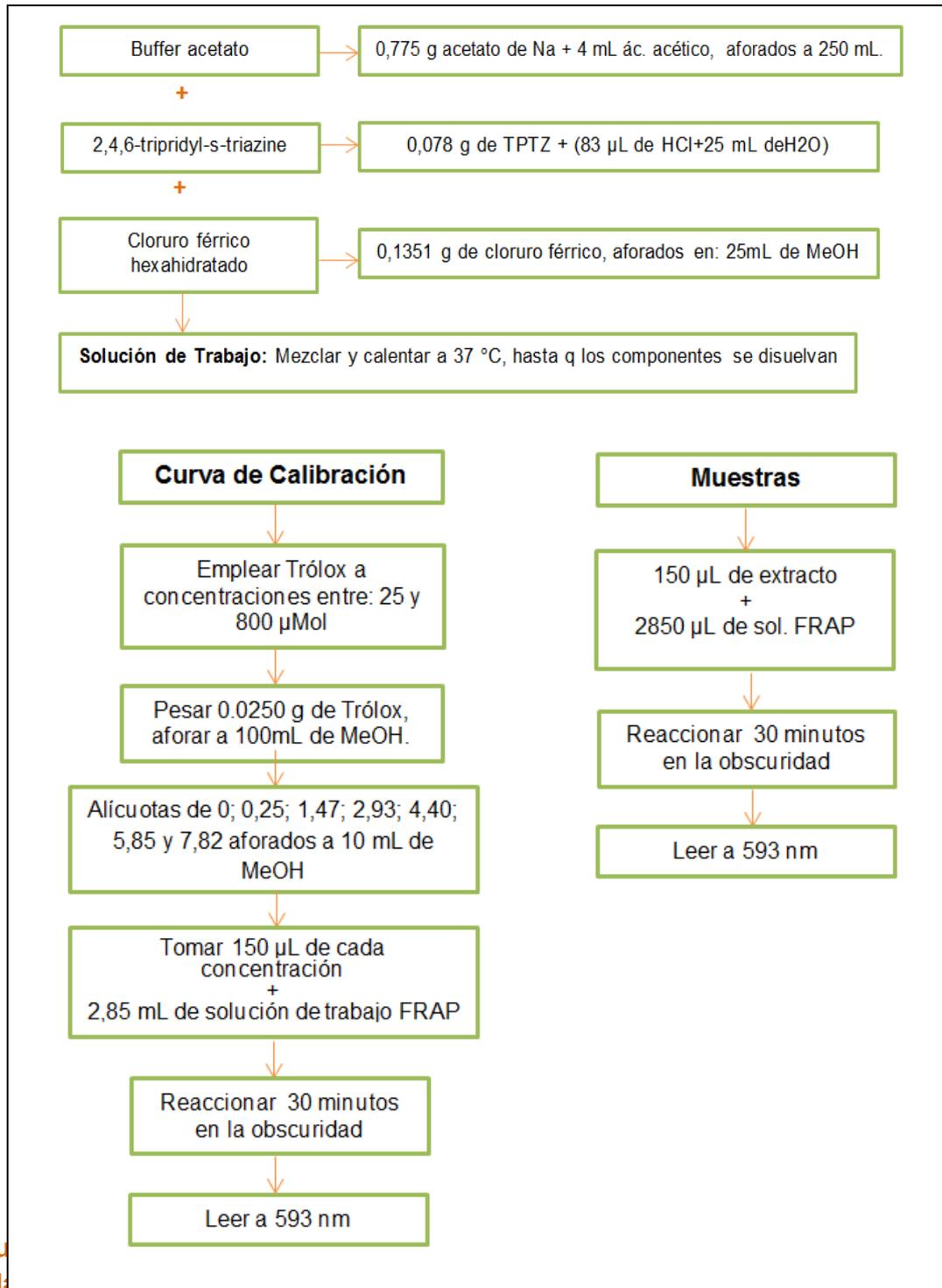
Figura 1.5 Esquema de determinación de actividad antioxidante (ABTS)



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

Figura 1.6 Esquema de determinación de actividad antioxidante (FRAP)

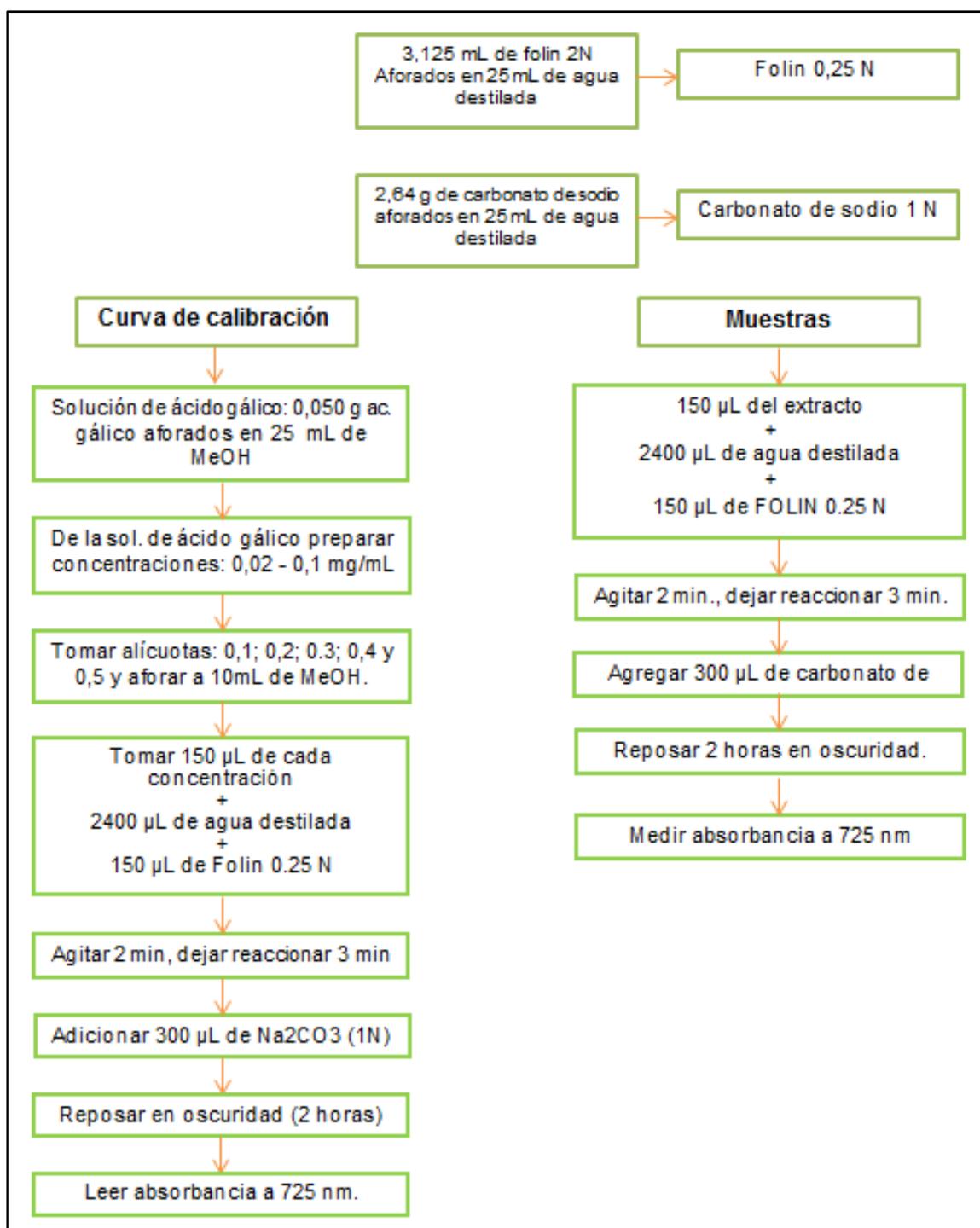


Fu
El

Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

Figura 1.7 Esquema de determinación de fenoles totales en extractos lipofílicos e hidrofílicos.



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

ANEXO 2. RESULTADOS

2.1 RENDIMIENTOS

Tabla A 2.1.1 Rendimiento de extracción de la fracción lipofílica

Rendimiento de extracción de la fracción lipofílica (%)															
Tamaño de partícula	3 horas					6 horas					24 horas				
	W. muestra	W. balon	balon+ extr	W extracto	Rendimiento	W. muestra	W. balon	balon+extr	W extracto	Rendimiento	W. muestra	W. balon	balon+ extr	W extracto	Rendimiento
>500	10,018	73,302	73,379	0,077	0,767	10,043	73,299	73,412	0,114	1,130	10,049	74,741	74,902	0,162	1,608
	10,340	73,881	73,958	0,076	0,737	10,020	73,862	73,980	0,118	1,178	10,054	73,831	73,979	0,148	1,469
	10,102	73,327	73,404	0,077	0,757	10,080	73,299	73,413	0,115	1,136	10,008	73,164	73,303	0,139	1,390
>355<500	10,075	73,156	73,286	0,131	1,296	10,069	74,751	74,883	0,132	1,314	10,013	73,861	74,027	0,166	1,661
	10,036	74,741	74,915	0,175	1,739	10,011	73,833	73,999	0,166	1,654	10,054	73,299	73,458	0,159	1,584
	10,026	73,301	73,472	0,172	1,714	10,027	73,172	73,320	0,148	1,477	10,004	73,862	74,028	0,167	1,667
>250<355	10,002	73,323	73,451	0,128	1,279	10,082	73,882	74,047	0,165	1,640	10,059	73,171	73,391	0,220	2,185
	10,043	73,836	73,970	0,133	1,327	10,014	73,862	74,015	0,153	1,530	10,010	73,327	73,529	0,202	2,019
	10,054	73,164	73,296	0,132	1,316	10,082	73,331	73,500	0,169	1,672	10,018	74,743	74,968	0,225	2,244
>125<250	10,032	73,858	74,045	0,187	1,865	10,010	73,860	74,043	0,183	1,830	10,086	73,167	73,446	0,279	2,766
	10,092	73,295	73,484	0,189	1,877	10,010	73,831	74,008	0,177	1,766	10,020	74,747	74,969	0,222	2,217
	10,090	73,870	74,052	0,182	1,806	10,020	73,168	73,358	0,190	1,899	10,021	73,712	74,018	0,305	3,047
<125	10,038	73,305	73,486	0,182	1,810	10,043	73,298	73,491	0,193	1,926	10,006	73,832	74,100	0,268	2,681
	10,003	73,299	73,485	0,186	1,862	10,050	73,858	74,051	0,193	1,923	10,020	73,845	74,100	0,255	2,542
	10,039	73,862	74,050	0,188	1,875	10,005	73,299	73,491	0,192	1,921	10,010	73,835	74,092	0,257	2,565

Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

Tabla A 2.1.2 Rendimiento de extracción de la fracción hidrofílica – etanol

Rendimiento de extracción de la fracción hidrofílica - etanol(%)															
Tamaño de partícula	3 horas					6 horas					24 horas				
	W. muestra	W. balon	W balon+ extr	W extracto	Rendimiento	W. muestra	W. balon	W balon+e xtr	W extracto	Rendimiento	W. muestra	W. balon	W balon+ extr	W extracto	Rendimiento
>500	10,068	73,312	75,901	2,589	25,715	10,023	73,297	75,718	2,422	24,159	10,049	73,304	75,886	2,582	25,691
	10,015	74,750	77,344	2,595	25,910	10,020	73,295	75,675	2,380	23,753	10,054	74,756	77,420	2,664	26,497
	10,015	73,837	76,401	2,564	25,603	10,080	73,857	76,290	2,434	24,143	10,008	74,759	77,119	2,360	23,582
>355<500	10,007	73,870	76,412	2,541	25,395	10,069	73,303	75,705	2,402	23,856	10,013	73,300	75,861	2,562	25,587
	10,036	73,835	76,900	3,065	30,539	10,011	73,179	75,853	2,674	26,713	10,077	73,172	75,697	2,524	25,052
	10,026	73,318	76,213	2,895	28,878	10,027	74,749	77,404	2,655	26,474	10,096	73,317	75,884	2,567	25,428
>250<355	10,048	73,183	75,686	2,503	24,910	10,008	74,759	77,405	2,646	26,438	10,059	73,301	75,740	2,439	24,249
	10,043	73,314	75,932	2,618	26,065	10,082	73,801	76,399	2,598	25,763	10,010	73,320	75,760	2,440	24,375
	10,054	73,837	76,334	2,496	24,829	10,082	73,335	75,975	2,640	26,186	10,018	73,835	76,382	2,547	25,423
>125<250	10,032	73,341	75,887	2,547	25,387	10,010	73,859	75,901	2,042	20,398	10,086	73,301	75,811	2,510	24,885
	10,092	73,883	76,492	2,609	25,855	10,010	73,838	76,104	2,266	22,632	10,020	74,756	77,481	2,726	27,200
	10,090	73,346	75,915	2,570	25,468	10,020	73,298	75,642	2,344	23,387	10,021	73,295	76,115	2,820	28,140
<125	10,038	73,879	76,464	2,585	25,753	10,043	73,859	76,186	2,327	23,167	10,006	73,303	75,837	2,534	25,330
	10,003	73,298	75,856	2,558	25,569	10,050	73,297	75,597	2,300	22,889	10,001	73,837	76,628	2,791	27,912
	10,039	73,878	76,442	2,564	25,539	10,005	73,857	76,214	2,358	23,565	10,020	73,333	75,926	2,592	25,870

Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

Tabla A 2.1.3 Rendimiento de extracción de la fracción hidrofílica – metanol

Rendimiento de extracción de la fracción hidrofílica - metanol(%)															
Tamaño de partícula	3 horas					6 horas					24 horas				
	W. muestra	W. balon	W balon+ extr	W extracto	Rendimiento	W. muestra	W. balon	W balon+e xtr	W extracto	Rendimiento	W. muestra	W. balon	W balon+ extr	W extracto	Rendimiento
>500	10,068	73,306	76,152	2,846	28,273	10,029	74,738	77,272	2,535	25,273	10,049	73,867	75,879	2,012	20,017
	10,015	74,139	77,059	2,920	29,160	10,020	73,298	75,745	2,446	24,414	10,054	73,862	75,960	2,098	20,870
	10,015	73,167	75,902	2,735	27,311	10,080	73,868	76,462	2,594	25,731	10,008	73,864	75,902	2,038	20,363
>355<500	10,075	73,834	76,418	2,584	25,645	10,069	73,297	76,522	3,225	32,025	10,013	73,859	76,440	2,581	25,774
	10,036	73,163	75,728	2,565	25,558	10,011	73,865	77,185	3,320	33,168	10,054	73,299	75,821	2,523	25,090
	10,007	73,338	76,101	2,764	27,616	10,027	73,295	76,270	2,975	29,666	10,096	73,882	76,432	2,550	25,261
>250<355	10,048	73,168	75,699	2,532	25,198	10,008	74,763	77,930	3,168	31,651	10,059	73,171	75,434	2,264	22,502
	10,043	73,834	76,423	2,589	25,780	10,082	73,870	76,650	2,781	27,578	10,010	73,890	76,504	2,614	26,118
	10,054	73,315	75,979	2,664	26,499	10,082	73,317	75,905	2,588	25,667	10,035	73,337	75,900	2,564	25,547
>125<250	10,038	73,857	76,676	2,819	28,085	10,010	73,863	76,065	2,202	21,999	10,002	73,857	76,098	2,241	22,407
	10,003	73,302	76,105	2,803	28,022	10,010	74,738	77,380	2,643	26,398	10,020	73,832	76,425	2,594	25,885
	10,039	73,873	76,685	2,812	28,014	10,020	74,737	76,979	2,242	22,375	10,021	74,741	77,414	2,673	26,675
<125	10,038	73,298	75,985	2,687	26,765	10,043	73,298	75,741	2,443	24,325	10,006	73,848	76,235	2,388	23,864
	10,003	73,859	76,715	2,857	28,560	10,050	73,860	76,296	2,435	24,231	10,001	73,166	75,896	2,729	27,292
	10,039	73,299	76,111	2,812	28,008	10,005	73,296	75,722	2,425	24,243	10,010	74,743	77,400	2,656	26,535

Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

2.2 CURVAS DE CALIBRACION

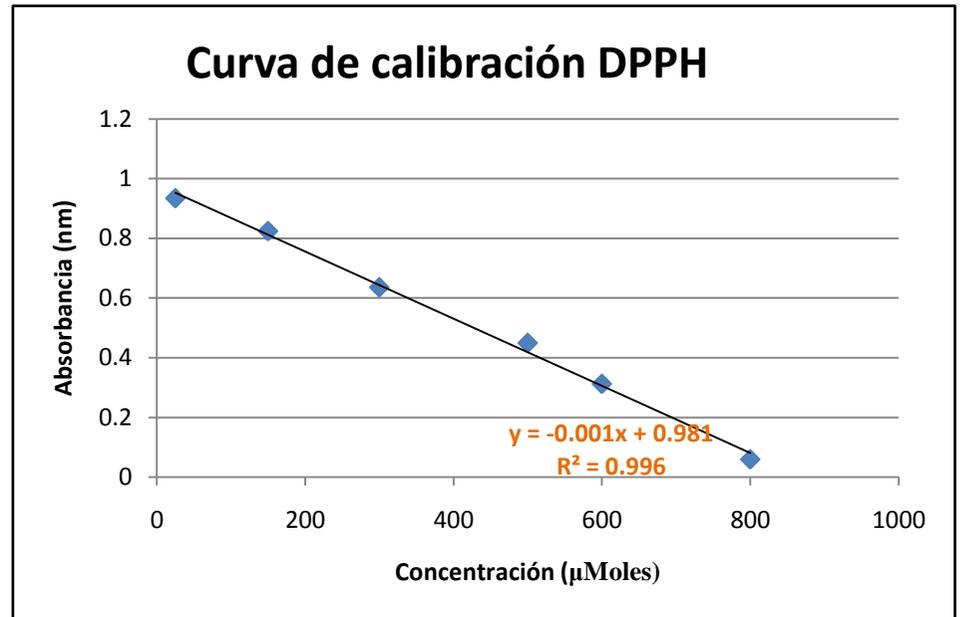
2.2.1 Curva de calibración DPPH

Datos de curva de calibración DPPH

Concent. (umol)	Absorba. (nm)	Promedio
25,00	0,93	0,935
	0,937	
	0,937	
149,99	0,824	0,824
	0,824	
	0,825	
299,98	0,635	0,636
	0,636	
	0,637	
499,97	0,451	0,449
	0,449	
	0,448	
600,00	0,312	0,312
	0,312	
	0,312	
800,00	0,059	0,059
	0,059	
	0,059	

Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora



* Esta curva se utilizó para las tres fracciones.

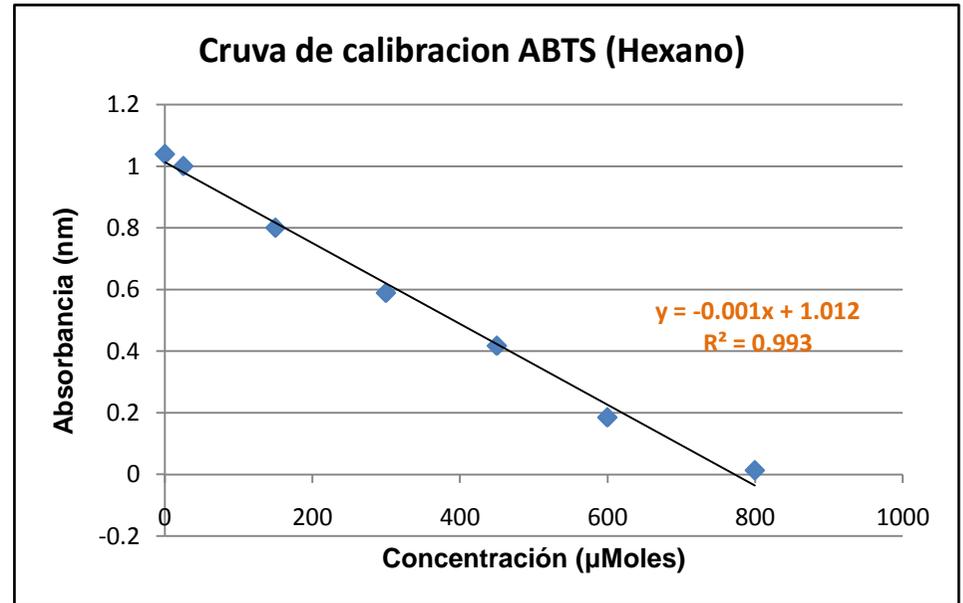
2.2.2 Curva de calibración ABTS

Datos de curva de calibración ABTS (Hexano)

Concent. (umol)	Absorba. (nm)	Promedio
0	1,039	1,039
	1,038	
	1,039	
25,06	1,000	1,000
	1,001	
	0,999	
149,84	0,799	0,800
	0,801	
	0,800	
299,68	0,590	0,589
	0,588	
	0,588	
450,04	0,417	0,417
	0,417	
	0,417	
599,88	0,186	0,185
	0,184	
	0,184	
799,84	0,014	0,013
	0,014	
	0,011	

Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora



Para resumir las siguientes tablas de ABTS podemos escribir una tabla:

ABTS	Ecuación
Fracción de hexano	$abs = -0,0013(conc.) + 1,026$ $R^2 = 0,9931$
Fracción de etanol	$abs = -0,0012(conc.) + 0,9907$ $R^2 = 0,9947$
Fracción de metanol	$abs = -0,0013(conc.) + 0,9989$ $R^2 = 0,9982$

*Se hicieron diferentes curvas, debido a que los análisis se realizaron en fechas diferentes preparando nuevos reactivos y soluciones.

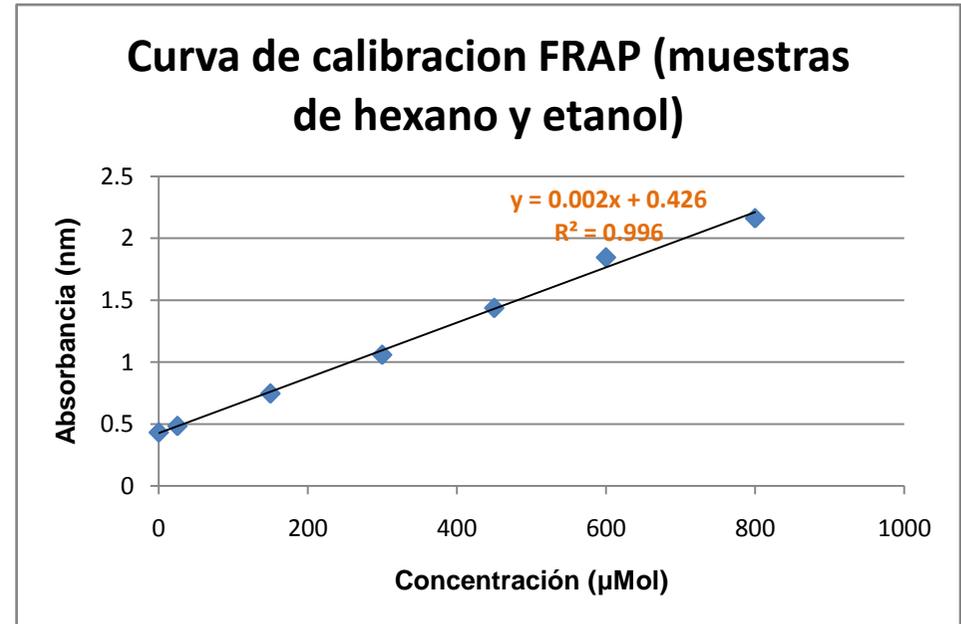
2.2.3 Curva de calibración FRAP

Datos de curva de calibración FRAP (hexano y etanol)

Concent. (umol)	Absorba. (nm)	Promedio
0,00	0,433	0,433
	0,433	
	0,433	
25,06	0,485	0,485
	0,485	
	0,485	
149,84	0,746	0,747
	0,748	
	0,747	
299,68	1,058	1,060
	1,061	
	1,060	
450,038	1,437	1,438
	1,438	
	1,438	
599,88	1,848	1,846
	1,845	
	1,845	
799,84	2,165	2,162
	2,161	
	2,160	

Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora



*Se hicieron diferentes curvas, debido a que los análisis se realizaron en fechas diferentes preparando nuevos reactivos y soluciones.

Para resumir las siguientes tablas de FRAP podemos escribir una tabla:

FRAP	Ecuación
Fracción de hexano	$abs = 0,0022(conc.) + 0,4261$
Fracción de etanol	$R^2 = 0,9961$
Fracción de metanol	$abs = 0,0021(conc.) + 0,5671$
	$R^2 = 0,9984$

*Se hicieron diferentes curvas, debido a que los análisis se realizaron en fechas diferentes preparando nuevos reactivos y soluciones.

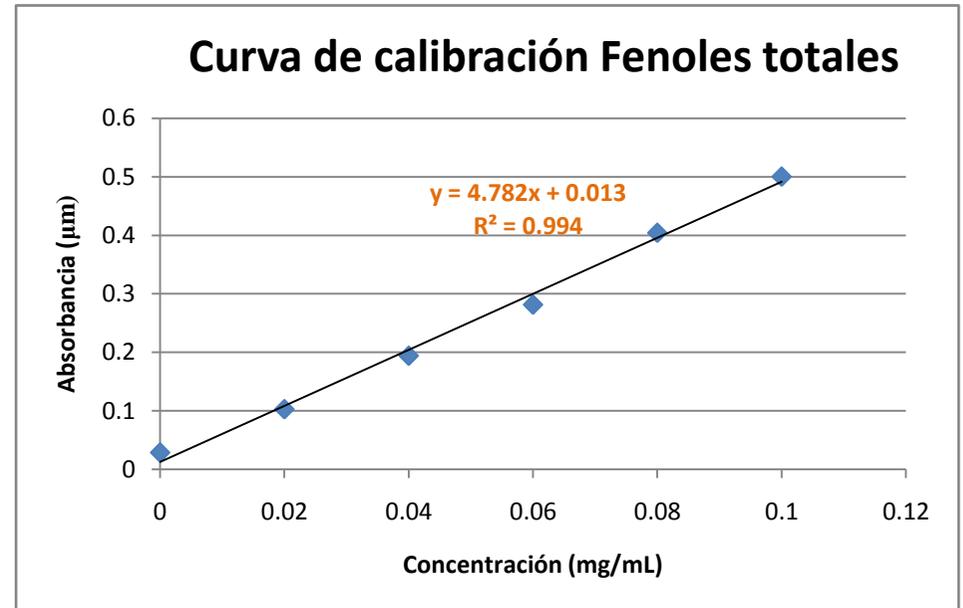
2.2.4 Curva de calibración fenoles totales

Datos de curva de calibración de Fenoles Totales

Conc. (mg/ml)	Absorban. (nm)	Promedio
0,00	0,030	0,029
	0,028	
	0,029	
0,02	0,102	0,103
	0,104	
	0,103	
0,04	0,191	0,194
	0,196	
	0,196	
0,06	0,279	0,282
	0,285	
	0,281	
0,08	0,404	0,404
	0,404	
	0,405	
0,10	0,50	0,500
	0,501	
	0,50	

Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora



* Esta curva se utilizó para las tres fracciones.

2.3 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

2.3.1 Fracción lipofílica

2.3.1.1 DPPH

MUESTRA	LECTURA	X	X prom. (μMol)	Conc.(μ Mol Trolox/	LECTURA	X	X prom. (uMol)	Conc.(u Mol Trolox/g	LECTURA	X	X prom. (uMol)	Conc.(u Mol Trolox/
	3 horas				6 horas				24 horas			
H-A1	0,825	142,000	139,879	1,072	0,864	106,545	102,303	1,156	0,771	191,091	188,364	3,029
	0,828	139,273			0,872	99,273			0,776	186,545		
	0,829	138,364			0,870	101,091			0,775	187,455		
H-A2	0,850	119,273	117,152	0,863	0,799	165,636	163,515	1,926	0,800	164,727	159,576	2,344
	0,852	117,455			0,802	162,909			0,807	158,364		
	0,855	114,727			0,803	162,000			0,810	155,636		
H-A3	0,842	126,545	126,545	0,958	0,820	146,545	147,152	1,672	0,811	154,727	150,788	2,096
	0,843	125,636			0,820	146,545			0,816	150,182		
	0,841	127,455			0,818	148,364			0,819	147,455		
H-B1	0,824	142,909	135,939	1,762	0,828	139,273	139,879	1,838	0,812	153,818	151,394	2,515
	0,835	132,909			0,826	141,091			0,816	150,182		
	0,836	132,000			0,828	139,273			0,816	150,182		
H-B2	0,798	166,545	166,848	2,901	0,834	133,818	135,030	2,234	0,805	160,182	157,455	2,495
	0,797	167,455			0,833	134,727			0,809	156,545		
	0,798	166,545			0,831	136,545			0,810	155,636		
H-B3	0,824	142,909	137,152	2,350	0,816	150,182	145,030	2,142	0,846	122,909	119,879	1,999
	0,833	134,727			0,820	146,545			0,851	118,364		
	0,834	133,818			0,829	138,364			0,851	118,364		
H-C1	0,841	127,455	122,303	1,564	0,779	183,818	186,545	3,060	0,780	182,909	178,061	3,891
	0,849	120,182			0,771	191,091			0,787	176,545		
	0,850	119,273			0,778	184,727			0,789	174,727		
H-C2	0,845	123,818	122,606	1,627	0,847	122,000	117,758	1,802	0,817	149,273	145,333	2,934
	0,846	122,909			0,852	117,455			0,823	143,818		
	0,848	121,091			0,856	113,818			0,824	142,909		
H-C3	0,865	105,636	105,333	1,386	0,822	144,727	142,606	2,385	0,837	131,091	129,879	2,914
	0,865	105,636			0,823	143,818			0,838	130,182		
	0,866	104,727			0,828	139,273			0,840	128,364		
H-D1	0,853	116,545	118,061	2,202	0,809	156,545	154,121	2,821	0,749	211,091	208,667	5,772
	0,853	116,545			0,813	152,909			0,751	209,273		
	0,848	121,091			0,813	152,909			0,755	205,636		
H-D2	0,804	161,091	164,121	3,080	0,819	147,455	145,939	2,578	0,827	140,182	137,455	3,048
	0,799	165,636			0,820	146,545			0,831	136,545		
	0,799	165,636			0,823	143,818			0,832	135,636		
H-D3	0,839	129,273	126,242	2,280	0,798	166,545	163,515	3,105	0,795	169,273	167,152	5,093
	0,843	125,636			0,801	163,818			0,798	166,545		
	0,845	123,818			0,805	160,182			0,799	165,636		
H-E1	0,852	117,455	115,636	2,093	0,857	112,909	109,576	2,110	0,874	97,455	98,061	2,629
	0,854	115,636			0,861	109,273			0,871	100,182		
	0,856	113,818			0,864	106,545			0,875	96,545		
H-E2	0,825	142,000	139,273	2,594	0,833	134,727	134,424	2,585	0,861	109,273	107,758	2,739
	0,828	139,273			0,833	134,727			0,865	105,636		
	0,831	136,545			0,834	133,818			0,862	108,364		
H-E3	0,837	131,091	127,758	2,395	0,775	187,455	185,333	3,560	0,823	143,818	142,606	3,657
	0,841	127,455			0,778	184,727			0,824	142,909		
	0,844	124,727			0,779	183,818			0,826	141,091		

Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

2.3.1.2 ABTS

MUESTRA	LECTURA	Lec. Prom	X prom. (uMol)	Conc.(u Mol Trolox/	LECTURA	Lec. Prom	X prom. (uMol)	Conc.(u Mol Trolox/	LECTURA	X	Lec. Prom	X prom. (uMol)
	3 horas				6 horas				24 horas			
H-A1	0,780	0,778	180,205	1,381	0,862	0,862	115,846	1,309	0,802	0,802	161,744	2,601
	0,777				0,861				0,802			
	0,778				0,863				0,803			
H-A2	0,772	0,772	185,077	1,364	0,792	0,794	168,410	1,983	0,775	0,776	182,000	2,674
	0,772				0,794				0,776			
	0,772				0,795				0,777			
H-A3	0,752	0,752	200,462	1,518	0,834	0,837	134,821	1,532	0,765	0,767	189,179	2,629
	0,752				0,839				0,765			
	0,752				0,839				0,770			
H-B1	0,784	0,785	175,333	2,273	0,835	0,836	135,590	1,781	0,808	0,811	155,333	2,580
	0,785				0,836				0,813			
	0,785				0,838				0,811			
H-B2	0,806	0,806	158,667	2,759	0,782	0,784	175,846	2,909	0,775	0,776	182,000	2,884
	0,807				0,785				0,776			
	0,806				0,785				0,777			
H-B3	0,794	0,793	169,179	2,899	0,824	0,825	144,564	2,135	0,765	0,767	189,179	3,154
	0,792				0,825				0,765			
	0,792				0,825				0,770			
H-C1	0,814	0,814	152,769	1,953	0,830	0,832	139,179	2,283	0,808	0,811	155,333	3,394
	0,814				0,832				0,813			
	0,814				0,833				0,811			
H-C2	0,822	0,820	148,410	1,970	0,888	0,889	94,821	1,451	0,801	0,803	161,487	3,260
	0,818				0,890				0,804			
	0,819				0,890				0,803			
H-C3	0,793	0,792	169,436	2,230	0,862	0,863	114,821	1,920	0,772	0,772	185,077	4,153
	0,792				0,865				0,772			
	0,792				0,863				0,772			
H-D1	0,814	0,813	153,538	2,864	0,765	0,765	190,205	3,481	0,729	0,731	216,615	5,992
	0,813				0,766				0,732			
	0,812				0,765				0,732			
H-D2	0,722	0,721	224,051	4,205	0,823	0,822	146,359	2,585	0,836	0,836	135,590	3,007
	0,720				0,823				0,837			
	0,722				0,821				0,836			
H-D3	0,831	0,831	139,949	2,527	0,794	0,795	167,641	3,184	0,763	0,760	194,051	5,912
	0,829				0,794				0,758			
	0,832				0,796				0,760			
H-E1	0,835	0,835	136,359	2,468	0,882	0,883	99,949	1,925	0,863	0,863	115,077	3,085
	0,836				0,883				0,862			
	0,835				0,883				0,864			
H-E2	0,827	0,827	143,026	2,664	0,786	0,787	173,282	3,333	0,805	0,804	160,205	4,072
	0,826				0,787				0,805			
	0,827				0,789				0,803			
H-E3	0,802	0,802	162,000	3,037	0,794	0,794	167,897	3,226	0,790	0,790	171,487	4,398
	0,802				0,794				0,788			
	0,802				0,795				0,791			

Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

2.3.1.3 FRAP

MUESTRA	LECTURA	X	X prom. (μMol)	Conc.(μ Mol Trolox/	LECTURA	X	X prom. (μMol)	Conc.(μ Mol Trolox/	LECTURA	X	X prom. (μMol)	Conc.(μ Mol Trolox/
	3 horas				6 horas				24 horas			
H-A1	0,725	0,728	137,38	1,053	0,688	0,688	118,89	1,344	0,669	0,672	111,62	1,795
	0,730				0,687				0,672			
	0,730				0,688				0,674			
H-A2	0,739	0,745	144,80	1,067	0,795	0,797	168,74	1,987	0,709	0,715	131,17	1,927
	0,746				0,798				0,716			
	0,749				0,799				0,719			
H-A3	0,813	0,816	177,23	1,342	0,775	0,780	160,86	1,827	0,794	0,800	169,96	2,362
	0,815				0,782				0,802			
	0,820				0,783				0,804			
H-B1	0,708	0,709	128,59	1,667	0,709	0,712	129,80	1,705	0,735	0,739	142,38	2,365
	0,708				0,712				0,740			
	0,711				0,714				0,743			
H-B2	0,710	0,712	129,80	2,257	0,789	0,791	165,71	2,741	0,778	0,782	161,77	2,563
	0,711				0,791				0,783			
	0,714				0,792				0,785			
H-B3	0,710	0,710	129,20	2,214	0,768	0,771	156,92	2,318	0,685	0,686	118,14	1,970
	0,710				0,772				0,686			
	0,711				0,774				0,687			
H-C1	0,696	0,698	123,44	1,578	0,676	0,677	114,20	1,873	0,716	0,718	132,53	2,896
	0,697				0,678				0,719			
	0,700				0,678				0,718			
H-C2	0,721	0,723	134,80	1,789	0,692	0,692	121,02	1,851	0,750	0,754	149,05	3,009
	0,722				0,692				0,755			
	0,725				0,693				0,757			
H-C3	0,744	0,745	144,96	1,907	0,713	0,712	130,11	2,176	0,780	0,782	161,62	3,627
	0,744				0,711				0,781			
	0,747				0,713				0,784			
H-D1	0,639	0,641	97,68	1,822	0,707	0,708	128,29	2,348	0,693	0,696	122,53	3,389
	0,640				0,709				0,695			
	0,644				0,709				0,699			
H-D2	0,721	0,723	134,80	2,530	0,764	0,765	154,20	2,723	0,732	0,733	139,50	3,093
	0,724				0,765				0,732			
	0,723				0,767				0,735			
H-D3	0,696	0,697	122,99	2,221	0,817	0,818	178,14	3,383	0,729	0,734	140,11	4,269
	0,697				0,818				0,739			
	0,697				0,819				0,735			
H-E1	0,646	0,646	99,96	1,809	0,679	0,680	115,26	2,219	0,689	0,691	120,56	3,232
	0,645				0,679				0,691			
	0,647				0,681				0,694			
H-E2	0,707	0,707	127,53	2,375	0,716	0,716	131,92	2,537	0,693	0,693	121,47	3,087
	0,706				0,716				0,693			
	0,707				0,717				0,694			
H-E3	0,658	0,658	105,56	1,979	0,715	0,717	132,23	2,540	0,682	0,685	117,53	3,014
	0,657				0,717				0,685			
	0,660				0,719				0,687			

Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

2.3.1.4 Fenoles totales

MUESTRA	LECTURA	Lectura prom.	X (mg/mL)	Conc.(mg ac. gal/ 100 gMS)	LECTURA	Lectura prom.	X (mg/mL)	Conc.(mg ac. gal/ 100 gMS)	LECTURA	Lectura prom.	X (mg/mL)	Conc.(mg ac. gal/ 100 gMS)
	3 horas				6 horas				24 horas			
H-A1	0,098	0,097	0,018	13,517	0,076	0,076	0,013	14,964	0,085	0,087	0,016	24,992
	0,098				0,076				0,090			
	0,096				0,077				0,087			
H-A2	0,109	0,109	0,020	14,843	0,106	0,106	0,019	22,818	0,084	0,084	0,015	21,706
	0,110				0,106				0,084			
	0,109				0,105				0,083			
H-A3	0,097	0,095	0,017	12,983	0,084	0,083	0,015	16,625	0,086	0,086	0,015	21,310
	0,094				0,083				0,085			
	0,094				0,082				0,088			
H-B1	0,098	0,097	0,018	22,767	0,085	0,085	0,015	19,687	0,111	0,110	0,020	33,800
	0,097				0,084				0,110			
	0,096				0,085				0,110			
H-B2	0,085	0,085	0,015	26,053	0,117	0,118	0,022	36,201	0,102	0,102	0,019	29,593
	0,086				0,117				0,105			
	0,083				0,119				0,100			
H-B3	0,098	0,097	0,018	30,213	0,089	0,088	0,016	23,263	0,091	0,090	0,016	26,728
	0,098				0,088				0,089			
	0,096				0,088				0,089			
H-C1	0,092	0,091	0,016	20,853	0,087	0,087	0,015	25,267	0,101	0,101	0,018	40,050
	0,089				0,087				0,102			
	0,092				0,086				0,099			
H-C2	0,078	0,078	0,014	17,945	0,097	0,096	0,017	26,443	0,116	0,115	0,021	42,916
	0,078				0,095				0,115			
	0,077				0,095				0,113			
H-C3	0,096	0,095	0,017	22,651	0,067	0,066	0,011	18,531	0,103	0,104	0,019	42,692
	0,097				0,066				0,104			
	0,093				0,065				0,105			
H-D1	0,078	0,077	0,013	24,957	0,116	0,117	0,022	39,795	0,124	0,125	0,023	64,580
	0,078				0,120				0,124			
	0,075				0,115				0,126			
H-D2	0,121	0,119	0,022	41,461	0,090	0,089	0,016	28,064	0,089	0,089	0,016	35,390
	0,118				0,089				0,090			
	0,117				0,088				0,089			
H-D3	0,100	0,098	0,018	32,216	0,106	0,105	0,019	36,530	0,096	0,095	0,017	52,445
	0,101				0,105				0,096			
	0,094				0,104				0,094			
H-E1	0,074	0,074	0,013	23,085	0,085	0,085	0,015	28,988	0,064	0,065	0,011	29,329
	0,075				0,085				0,067			
	0,073				0,085				0,065			
H-E2	0,089	0,088	0,016	29,335	0,064	0,062	0,010	19,704	0,108	0,105	0,019	48,712
	0,088				0,061				0,103			
	0,088				0,061				0,103			
H-E3	0,099	0,099	0,018	33,707	0,080	0,080	0,014	26,778	0,132	0,130	0,025	62,912
	0,098				0,079				0,128			
	0,100				0,080				0,131			

Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

2.3.2 Fracción hidrofílica (etanol)

2.3.2.1 DPPH

MUESTRA	LECTURA	X	X prom. (μMol)	Conc. (μMol ET/g)	LECTURA	X	X prom. (μMol)	Conc. (μMol ET/g)	LECTURA	X	X prom. (μMol)	Conc. (μMol ET/g)
	3 horas				6 horas				24 horas			
E-A1	0,386	541,09	542,00	1403,2	0,439	492,91	491,70	1190,6	0,518	421,09	419,58	1083,3
	0,385	542,00			0,439	492,91			0,520	419,27		
	0,384	542,91			0,443	489,27			0,521	418,36		
E-A2	0,442	490,18	491,70	1275,9	0,435	496,55	497,15	1183,2	0,506	432,00	432,00	1150,8
	0,439	492,91			0,435	496,55			0,506	432,00		
	0,440	492,00			0,433	498,36			0,506	432,00		
E-A3	0,387	540,18	541,09	1387,4	0,479	456,55	455,94	1109,5	0,380	546,55	548,36	1294,2
	0,386	541,09			0,480	455,64			0,379	547,46		
	0,385	542,00			0,480	455,64			0,375	551,09		
E-B1	0,513	425,64	426,55	1084,0	0,548	393,82	393,82	946,0	0,211	700,18	700,79	1795,3
	0,511	427,46			0,547	394,73			0,210	701,09		
	0,512	426,55			0,549	392,91			0,210	701,09		
E-B2	0,224	688,36	690,18	2115,3	0,522	417,46	416,85	1114,7	0,498	439,27	440,18	1111,2
	0,220	692,00			0,522	417,46			0,497	440,18		
	0,222	690,18			0,524	415,64			0,496	441,09		
E-B3	0,340	582,91	581,70	1684,2	0,538	402,91	401,70	1066,3	0,341	582,00	582,00	1494,2
	0,342	581,09			0,540	401,09			0,342	581,09		
	0,342	581,09			0,540	401,09			0,340	582,91		
E-C1	0,548	393,82	401,39	1004,6	0,405	523,82	523,52	1385,2	0,573	371,09	371,39	905,9
	0,535	405,64			0,407	522,00			0,572	372,00		
	0,536	404,73			0,404	524,73			0,573	371,09		
E-C2	0,416	513,82	513,82	1345,1	0,422	508,36	507,46	1318,1	0,414	515,64	514,73	1255,9
	0,416	513,82			0,423	507,46			0,418	512,00		
	0,416	513,82			0,424	506,55			0,413	516,55		
E-C3	0,471	463,82	463,52	1157,1	0,425	505,64	507,46	1339,7	0,376	550,18	552,00	1405,9
	0,472	462,91			0,422	508,36			0,373	552,91		
	0,471	463,82			0,422	508,36			0,373	552,91		
E-D1	0,458	475,64	477,15	1215,2	0,426	504,73	503,82	1028,7	0,399	529,27	530,79	1332,3
	0,457	476,55			0,428	502,91			0,397	531,09		
	0,454	479,27			0,427	503,82			0,396	532,00		
E-D2	0,450	482,91	481,70	1256,9	0,496	441,09	440,79	998,6	0,476	459,27	458,67	1250,1
	0,451	482,00			0,497	440,18			0,479	456,55		
	0,453	480,18			0,496	441,09			0,475	460,18		
E-D3	0,427	503,82	505,03	1297,8	0,482	453,82	453,52	1062,8	0,479	456,55	455,94	1285,7
	0,424	506,55			0,483	452,91			0,481	454,73		
	0,426	504,73			0,482	453,82			0,479	456,55		
E-E1	0,401	527,46	526,85	1362,0	0,387	540,18	542,00	1261,1	0,570	373,82	373,82	947,4
	0,403	525,64			0,384	542,91			0,571	372,91		
	0,401	527,46			0,384	542,91			0,569	374,73		
E-E2	0,464	470,18	469,88	1201,8	0,418	512,00	511,09	1175,7	0,556	386,55	386,55	1079,0
	0,464	470,18			0,418	512,00			0,555	387,46		
	0,465	469,27			0,421	509,27			0,557	385,64		
E-E3	0,398	530,18	531,39	1362,5	0,418	512,00	511,39	1205,7	0,338	584,73	583,52	1512,6
	0,396	532,00			0,419	511,09			0,341	582,00		
	0,396	532,00			0,419	511,09			0,339	583,82		

Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

2.3.2.2 ABTS

MUESTRA	LECTUR A	Lec. Prom	X prom. (μMol)	Conc.(μ Mol ET/g)	LECTUR A	Lec. Prom	X prom. (μMol)	Conc.(μ Mol ET/g)	LECTUR A	Lec. Prom	X prom. (μMol)	Conc.(μ Mol ET/g)
	3 horas				6 horas				24 horas			
E-A1	0,301	0,297	578,08	1496,6	0,194	0,192	665,86	1612,4	0,407	0,406	487,25	1258,0
	0,296				0,190				0,405			
	0,294				0,191				0,406			
E-A2	0,151	0,149	701,42	1820,0	0,246	0,243	623,36	1483,5	0,374	0,371	516,14	1374,9
	0,148				0,242				0,371			
	0,148				0,240				0,369			
E-A3	0,234	0,229	634,47	1626,9	0,257	0,255	613,36	1492,6	0,254	0,254	614,19	1449,6
	0,228				0,254				0,256			
	0,226				0,253				0,251			
E-B1	0,43	0,428	469,19	1192,4	0,414	0,413	481,42	1156,5	0,111	0,109	735,03	1883,1
	0,429				0,413				0,108			
	0,424				0,412				0,107			
E-B2	0,07	0,067	769,47	2358,4	0,380	0,378	510,58	1365,4	0,395	0,388	501,97	1267,2
	0,07				0,378				0,386			
	0,062				0,376				0,384			
E-B3	0,199	0,195	663,08	1919,8	0,401	0,401	491,42	1304,5	0,134	0,133	714,75	1835,0
	0,193				0,401				0,133			
	0,193				0,401				0,132			
E-C1	0,385	0,387	503,36	1259,9	0,257	0,256	612,25	1620,0	0,463	0,460	442,53	1079,5
	0,388				0,255				0,459			
	0,387				0,256				0,457			
E-C2	0,28	0,276	595,31	1558,4	0,221	0,219	642,81	1669,7	0,291	0,288	585,58	1428,8
	0,276				0,220				0,287			
	0,273				0,217				0,286			
E-C3	0,293	0,290	584,19	1458,4	0,242	0,240	625,31	1650,8	0,279	0,274	596,97	1520,5
	0,289				0,240				0,272			
	0,287				0,239				0,272			
E-D1	0,287	0,283	590,03	1502,6	0,317	0,315	562,81	1149,2	0,320	0,317	561,14	1408,5
	0,28				0,316				0,316			
	0,281				0,313				0,316			
E-D2	0,273	0,268	601,97	1570,8	0,303	0,301	574,75	1302,2	0,343	0,339	542,81	1479,4
	0,268				0,300				0,336			
	0,264				0,300				0,339			
E-D3	0,224	0,219	643,08	1652,6	0,211	0,209	651,14	1525,9	0,305	0,303	572,81	1615,3
	0,218				0,209				0,303			
	0,215				0,208				0,302			
E-E1	0,206	0,203	656,69	1697,7	0,272	0,272	599,19	1394,1	0,456	0,456	445,58	1129,3
	0,204				0,270				0,455			
	0,198				0,273				0,457			
E-E2	0,204	0,200	658,64	1684,5	0,244	0,244	622,25	1431,4	0,187	0,184	671,97	1875,7
	0,199				0,244				0,184			
	0,198				0,244				0,182			
E-E3	0,224	0,219	643,08	1648,9	0,243	0,241	624,75	1472,9	0,213	0,205	654,47	1696,6
	0,218				0,240				0,203			
	0,215				0,240				0,200			

Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

2.3.2.3 FRAP

MUESTRA	LECTURA	X	X prom. (μMol)	Conc.(μ Mol ET/g)	LECTURA	X	X prom. (μMol)	Conc.(μ Mol ET/g)	LECTURA	X	X prom. (μMol)	Conc.(μ Mol ET/g)
	3 horas				6 horas				24 horas			
E-A1	0,888	0,893	212,08	549,04	0,940	0,948	237,38	574,81	0,851	0,855	194,96	503,33
	0,893				0,950				0,856			
	0,897				0,955				0,858			
E-A2	0,952	0,959	242,23	628,53	0,975	0,983	253,29	602,80	0,901	0,907	218,44	581,90
	0,960				0,984				0,907			
	0,965				0,991				0,912			
E-A3	0,945	0,951	238,59	611,77	0,930	0,937	232,38	565,49	0,997	1,002	261,92	618,19
	0,951				0,939				1,004			
	0,957				0,943				1,006			
E-B1	0,850	0,855	194,80	495,05	0,815	0,823	180,41	433,38	1,115	1,123	316,77	811,54
	0,855				0,822				1,124			
	0,859				0,832				1,130			
E-B2	1,094	1,069	292,23	895,65	0,872	0,879	205,71	550,10	0,903	0,908	219,05	552,96
	1,103				0,878				0,909			
	1,010				0,886				0,912			
E-B3	0,999	1,004	262,83	760,98	0,820	0,827	182,23	483,74	1,034	1,042	279,96	718,73
	1,004				0,827				1,043			
	1,010				0,834				1,049			
E-C1	0,785	0,789	165,11	413,24	0,916	0,925	226,77	600,04	0,854	0,858	196,47	479,25
	0,789				0,925				0,859			
	0,794				0,934				0,862			
E-C2	0,936	0,944	235,26	615,86	0,960	0,968	246,47	640,21	1,009	1,015	267,68	653,14
	0,946				0,968				1,016			
	0,949				0,977				1,020			
E-C3	0,882	0,888	209,96	524,13	0,942	0,949	237,53	627,08	0,998	1,003	262,08	667,51
	0,888				0,947				1,002			
	0,894				0,957				1,008			
E-D1	0,968	0,975	249,35	635,02	0,951	0,960	242,83	495,84	0,986	0,992	257,23	645,64
	0,976				0,960				0,993			
	0,980				0,970				0,997			
E-D2	0,932	0,938	232,53	606,77	0,881	0,890	211,02	478,08	0,936	0,940	233,74	637,07
	0,938				0,890				0,940			
	0,943				0,900				0,945			
E-D3	1,003	1,010	265,26	681,66	0,880	0,889	210,41	493,09	0,939	0,945	235,86	665,11
	1,009				0,889				0,946			
	1,017				0,898				0,950			
E-E1	1,003	1,010	265,26	685,74	0,959	0,967	246,02	572,40	0,954	0,955	184,87	468,54
	1,010				0,967				0,955			
	1,016				0,976				0,957			
E-E2	0,930	0,935	231,47	592,01	0,961	0,968	246,47	566,98	1,048	1,049	229,48	640,56
	0,935				0,967				1,048			
	0,941				0,977				1,051			
E-E3	0,943	0,948	237,23	608,25	0,977	0,979	251,17	592,15	1,271	1,271	335,03	868,50
	0,947				0,985				1,270			
	0,954				0,974				1,271			

Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

2.3.2.4 Fenoles totales

MUESTRA	LECTURA A	Lectura prom.	X (mg/mL)	Conc.(mg ac. gal/ 100 gMS)	LECTURA A	Lectura prom.	X (mg/mL)	Conc.(mg ac. gal/ 100 gMS)	LECTURA A	Lectura prom.	X (mg/mL)	Conc.(mg ac. gal/ 100 gMS)
	3 horas				6 horas				24 horas			
E-A1	0,287	0,285	0,0569	147,23	0,265	0,264	0,053	127,25	0,234	0,234	0,046	119,12
	0,283				0,264				0,234			
	0,285				0,264				0,233			
E-A2	0,254	0,250	0,0496	128,76	0,278	0,279	0,056	132,36	0,226	0,227	0,045	119,01
	0,250				0,282				0,227			
	0,247				0,277				0,227			
E-A3	0,284	0,283	0,0565	144,93	0,220	0,219	0,043	104,64	0,331	0,329	0,066	156,10
	0,285				0,216				0,330			
	0,281				0,220				0,327			
E-B1	0,201	0,201	0,0392	99,71	0,281	0,279	0,056	133,43	0,327	0,327	0,066	168,19
	0,201				0,277				0,327			
	0,200				0,278				0,327			
E-B2	0,399	0,399	0,0808	247,56	0,240	0,240	0,047	126,92	0,279	0,279	0,056	140,39
	0,399				0,238				0,280			
	0,400				0,242				0,278			
E-B3	0,300	0,298	0,0595	172,32	0,223	0,224	0,044	117,11	0,257	0,257	0,051	130,79
	0,299				0,223				0,255			
	0,294				0,226				0,258			
E-C1	0,235	0,234	0,0462	115,65	0,274	0,274	0,055	144,21	0,246	0,247	0,049	119,17
	0,235				0,274				0,246			
	0,232				0,273				0,248			
E-C2	0,254	0,256	0,0509	133,18	0,252	0,251	0,050	129,07	0,249	0,249	0,049	120,23
	0,258				0,250				0,248			
	0,257				0,250				0,249			
E-C3	0,257	0,257	0,0509	127,18	0,263	0,263	0,052	137,99	0,282	0,279	0,056	141,47
	0,257				0,263				0,279			
	0,256				0,263				0,275			
E-D1	0,248	0,248	0,0491	124,95	0,224	0,225	0,044	90,65	0,305	0,303	0,061	152,19
	0,249				0,225				0,302			
	0,246				0,227				0,302			
E-D2	0,240	0,240	0,0474	123,66	0,239	0,241	0,048	108,16	0,250	0,250	0,049	134,86
	0,238				0,241				0,250			
	0,241				0,244				0,249			
E-D3	0,230	0,229	0,0451	115,88	0,253	0,253	0,050	117,43	0,222	0,223	0,044	123,62
	0,230				0,252				0,222			
	0,226				0,253				0,224			
E-E1	0,257	0,258	0,0513	132,61	0,255	0,255	0,051	117,56	0,198	0,200	0,039	98,91
	0,258				0,253				0,198			
	0,260				0,256				0,203			
E-E2	0,236	0,235	0,0465	118,89	0,238	0,238	0,047	108,22	0,222	0,222	0,044	121,98
	0,238				0,239				0,223			
	0,232				0,237				0,221			
E-E3	0,261	0,261	0,0519	133,13	0,230	0,231	0,046	107,29	0,243	0,243	0,048	124,66
	0,263				0,232				0,243			
	0,260				0,230				0,243			

Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

2.3.3 Fracción hidrofílica (metanol)

2.3.3.1 DPPH

MUESTRA	LECTUR A	X	X prom. (μMol)	Conc.(μ Mol ET/g)	LECTUR A	X	X prom. (μMol)	Conc.(μ Mol ET/g)	LECTUR A	X	X prom. (μMol)	Conc.(μ Mol ET/g)
	3 horas				6 horas				24 horas			
M-A1	0,469	465,64	467,46	1330,6	0,325	596,55	597,15	1513,5	0,300	619,27	620,18	1247,6
	0,465	469,27			0,323	598,36			0,298	621,09		
	0,467	467,46			0,325	596,55			0,299	620,18		
M-A2	0,341	582,00	582,30	1700,5	0,183	725,64	726,55	1777,3	0,113	789,27	788,67	1654,8
	0,341	582,00			0,181	727,46			0,115	787,46		
	0,340	582,91			0,182	726,55			0,113	789,27		
M-A3	0,371	554,73	555,03	1518,1	0,221	691,09	692,30	1795,6	0,314	606,55	605,94	1234,9
	0,370	555,64			0,220	692,00			0,316	604,73		
	0,371	554,73			0,218	693,82			0,314	606,55		
M-B1	0,406	522,91	521,70	1347,9	0,490	446,55	448,67	1446,8	0,571	372,91	374,73	967,0
	0,407	522,00			0,487	449,27			0,568	375,64		
	0,409	520,18			0,486	450,18			0,568	375,64		
M-B2	0,708	248,36	248,36	637,1	0,350	573,82	575,03	1909,3	0,510	428,36	429,27	1082,9
	0,708	248,36			0,348	575,64			0,508	430,18		
	0,708	248,36			0,348	575,64			0,509	429,27		
M-B3	0,408	521,09	521,39	1440,9	0,228	684,73	686,85	2043,2	0,509	429,27	428,97	1094,0
	0,407	522,00			0,224	688,36			0,510	428,36		
	0,408	521,09			0,225	687,46			0,509	429,27		
M-C1	0,621	327,46	328,36	831,4	0,397	531,09	531,39	1683,4	0,423	507,46	506,55	1146,6
	0,618	330,18			0,396	532,00			0,425	505,64		
	0,621	327,46			0,397	531,09			0,424	506,55		
M-C2	0,568	375,64	374,42	969,5	0,554	388,36	388,67	1080,7	0,492	444,73	445,33	1164,3
	0,568	375,64			0,553	389,27			0,491	445,64		
	0,572	372,00			0,554	388,36			0,491	445,64		
M-C3	0,522	417,46	416,24	1109,0	0,655	296,55	296,85	768,2	0,618	330,18	327,15	838,7
	0,525	414,73			0,653	298,36			0,622	326,55		
	0,523	416,55			0,656	295,64			0,624	324,73		
M-D1	0,568	375,64	377,76	1065,0	0,560	382,91	384,73	847,2	0,277	640,18	639,88	1434,0
	0,565	378,36			0,556	386,55			0,278	639,27		
	0,564	379,27			0,558	384,73			0,277	640,18		
M-D2	0,490	446,55	445,64	1249,1	0,228	684,73	649,27	1715,8	0,551	391,09	389,27	1009,7
	0,492	444,73			0,286	632,00			0,554	388,36		
	0,491	445,64			0,287	631,09			0,554	388,36		
M-D3	0,475	460,18	460,49	1295,1	0,353	571,09	570,49	1279,1	0,537	403,82	403,21	1077,8
	0,475	460,18			0,352	572,00			0,540	401,09		
	0,474	461,09			0,356	568,36			0,536	404,73		
M-E1	0,567	376,55	378,06	1015,8	0,548	393,82	395,03	965,1	0,576	368,36	367,15	876,6
	0,565	378,36			0,546	395,64			0,576	368,36		
	0,564	379,27			0,546	395,64			0,580	364,73		
M-E2	0,573	371,09	371,70	1061,9	0,491	445,64	445,94	1086,0	0,586	359,27	356,24	972,3
	0,572	372,00			0,490	446,55			0,591	354,73		
	0,572	372,00			0,491	445,64			0,591	354,73		
M-E3	0,496	441,09	441,09	1240,3	0,440	492,00	491,39	1191,8	0,603	343,82	342,61	910,0
	0,498	439,27			0,441	491,09			0,605	342,00		
	0,494	442,91			0,441	491,09			0,605	342,00		

Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

2.3.3.2 ABTS

MUESTRA	LECTUR A	Lec. Prom	X prom. (μMol)	Conc.(μ Mol ET/g)	LECTUR A	Lec. Prom	X prom. (μMol)	Conc.(μ Mol ET/g)	LECTUR A	Lec. Prom	X prom. (μMol)	Conc.(μ Mol ET/g)
	3 horas				6 horas				24 horas			
M-A1	0,291	0,289	546,08	1554,4	0,106	0,105	687,87	1743,5	0,045	0,045	733,77	1476,1
	0,288				0,105				0,044			
	0,288				0,103				0,046			
M-A2	0,071	0,068	716,08	2091,2	0,010	0,010	760,95	1861,4	0,020	0,020	752,74	1579,4
	0,065				0,010				0,022			
	0,068				0,009				0,019			
M-A3	0,153	0,151	652,49	1784,6	0,023	0,024	749,92	1945,0	0,106	0,104	688,13	1402,4
	0,149				0,024				0,106			
	0,150				0,025				0,101			
M-B1	0,192	0,189	623,00	1609,6	0,207	0,203	611,97	1973,4	0,486	0,486	394,80	1018,8
	0,187				0,204				0,487			
	0,188				0,199				0,484			
M-B2	0,614	0,616	294,54	755,5	0,075	0,075	710,69	2359,7	0,359	0,358	492,74	1243,0
	0,615				0,076				0,359			
	0,619				0,074				0,357			
M-B3	0,188	0,186	625,31	1728,0	0,017	0,016	756,08	2249,1	0,321	0,321	521,46	1329,9
	0,185				0,016				0,320			
	0,185				0,015				0,322			
M-C1	0,422	0,421	444,28	1124,8	0,173	0,173	635,31	2012,5	0,289	0,285	549,41	1243,6
	0,419				0,174				0,283			
	0,423				0,172				0,282			
M-C2	0,371	0,369	484,28	1253,9	0,441	0,440	429,67	1194,7	0,392	0,389	468,90	1225,9
	0,368				0,440				0,388			
	0,369				0,440				0,388			
M-C3	0,375	0,374	480,95	1281,4	0,532	0,529	361,46	935,4	0,527	0,525	364,54	934,5
	0,372				0,527				0,522			
	0,374				0,528				0,526			
M-D1	0,452	0,450	421,97	1189,7	0,535	0,535	357,10	786,4	0,111	0,110	683,77	1532,4
	0,449				0,535				0,110			
	0,450				0,534				0,109			
M-D2	0,333	0,331	513,51	1439,4	0,128	0,125	672,23	1776,4	0,390	0,387	470,69	1220,9
	0,330				0,124				0,385			
	0,331				0,123				0,386			
M-D3	0,324	0,323	519,67	1461,5	0,172	0,171	637,10	1428,4	0,373	0,373	481,46	1287,0
	0,320				0,171				0,373			
	0,326				0,169				0,373			
M-E1	0,419	0,419	446,08	1198,5	0,237	0,235	587,62	1435,5	0,487	0,487	393,51	939,6
	0,418				0,235				0,489			
	0,420				0,233				0,486			
M-E2	0,424	0,424	442,23	1263,4	0,307	0,306	533,00	1298,0	0,480	0,480	399,41	1090,2
	0,422				0,307				0,479			
	0,426				0,304				0,480			
M-E3	0,345	0,344	503,51	1415,8	0,317	0,315	525,82	1275,3	0,426	0,425	441,46	1172,6
	0,341				0,315				0,423			
	0,347				0,314				0,426			

Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

2.3.3.3 FRAP

MUESTRA	LECTURA	X	X prom. (μMol)	Conc. (μMol ET/g)	LECTURA	X	X prom. (μMol)	Conc. (μMol ET/g)	LECTURA	X	X prom. (μMol)	Conc. (μMol ET/g)
	3 horas				6 horas				24 horas			
M-A1	1,126	1,135	270,59	770,2	1,285	1,295	346,62	878,5	1,387	1,397	395,35	795,3
	1,136				1,295				1,398			
	1,144				1,305				1,407			
M-A2	1,327	1,338	366,94	1071,6	1,662	1,678	528,84	1293,7	1,664	1,676	527,89	1107,6
	1,339				1,680				1,675			
	1,347				1,691				1,688			
M-A3	1,269	1,279	339,16	927,6	1,455	1,468	429,16	1113,1	1,513	1,525	456,14	929,6
	1,279				1,470				1,524			
	1,290				1,480				1,538			
M-B1	1,156	1,166	285,19	736,8	1,195	1,204	303,13	977,5	1,086	1,092	250,11	645,4
	1,166				1,204				1,092			
	1,176				1,212				1,099			
M-B2	0,833	0,837	128,37	329,3	1,336	1,343	369,32	1226,2	1,081	1,088	248,21	626,1
	0,837				1,342				1,088			
	0,840				1,350				1,096			
M-B3	1,172	1,181	292,49	808,3	1,437	1,450	420,59	1251,1	1,101	1,108	257,41	656,5
	1,181				1,454				1,107			
	1,191				1,460				1,115			
M-C1	1,028	1,037	223,60	566,1	1,205	1,214	308,21	976,3	1,150	1,158	281,38	636,9
	1,037				1,216				1,158			
	1,045				1,222				1,166			
M-C2	1,042	1,056	232,81	602,8	0,969	0,976	194,71	541,4	1,136	1,143	274,24	717,0
	1,057				0,977				1,142			
	1,069				0,982				1,151			
M-C3	1,036	1,043	226,46	603,4	0,935	0,940	177,57	459,5	0,983	0,988	200,59	514,2
	1,043				0,940				0,987			
	1,049				0,945				0,995			
M-D1	0,997	1,003	207,57	585,2	0,913	0,919	167,41	368,7	1,362	1,369	382,02	856,1
	1,003				0,920				1,367			
	1,009				0,923				1,379			
M-D2	1,077	1,083	245,83	689,0	1,248	1,258	329,16	869,8	1,041	1,049	229,32	594,8
	1,082				1,259				1,049			
	1,091				1,268				1,056			
M-D3	1,148	1,158	281,38	791,4	1,213	1,222	311,70	698,9	1,066	1,071	240,11	641,8
	1,157				1,222				1,071			
	1,169				1,230				1,077			
M-E1	1,014	1,020	215,51	579,0	1,094	1,100	253,76	619,9	1,100	1,106	256,46	612,4
	1,021				1,100				1,105			
	1,024				1,106				1,112			
M-E2	1,041	1,047	228,68	653,3	1,117	1,125	265,67	647,0	1,013	1,019	215,03	586,9
	1,048				1,125				1,016			
	1,053				1,133				1,027			
M-E3	1,056	1,065	237,25	667,1	1,131	1,140	272,65	661,3	1,022	1,028	219,32	582,5
	1,068				1,140				1,028			
	1,072				1,148				1,033			

Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

2.3.3.4 Fenoles totales

MUESTRA	LECTURA	Lectura prom.	X (mg/mL)	Conc. (mg ac. gal/ 100 gMS)	LECTURA	Lectura prom.	X (mg/mL)	Conc. (mg ac. gal/ 100 gMS)	LECTURA	Lectura prom.	X (mg/mL)	Conc. (mg ac. gal/ 100 gMS)
	3 horas				6 horas				24 horas			
M-A1	0,244	0,244	0,048	137,67	0,297	0,295	0,059	149,26	0,288	0,288	0,058	115,80
	0,245				0,293				0,288			
	0,244				0,294				0,289			
M-A2	0,289	0,287	0,057	167,30	0,306	0,305	0,061	149,34	0,323	0,323	0,065	135,99
	0,286				0,306				0,322			
	0,286				0,303				0,324			
M-A3	0,277	0,276	0,055	150,59	0,286	0,286	0,057	148,22	0,242	0,242	0,048	97,44
	0,276				0,287				0,243			
	0,276				0,286				0,240			
M-B1	0,258	0,258	0,051	132,16	0,215	0,215	0,042	135,97	0,141	0,141	0,027	69,06
	0,258				0,216				0,142			
	0,257				0,213				0,140			
M-B2	0,129	0,129	0,024	62,03	0,236	0,238	0,047	155,96	0,177	0,175	0,034	85,27
	0,128				0,240				0,172			
	0,129				0,237				0,175			
M-B3	0,217	0,217	0,043	117,87	0,277	0,275	0,055	162,74	0,194	0,193	0,038	96,16
	0,218				0,274				0,193			
	0,216				0,273				0,193			
M-C1	0,167	0,166	0,032	81,17	0,195	0,196	0,038	120,98	0,227	0,228	0,045	101,75
	0,165				0,195				0,227			
	0,167				0,197				0,230			
M-C2	0,206	0,205	0,040	103,76	0,163	0,163	0,031	87,01	0,182	0,182	0,035	92,20
	0,205				0,162				0,182			
	0,203				0,163				0,181			
M-C3	0,198	0,198	0,039	102,87	0,167	0,166	0,032	82,96	0,131	0,131	0,025	63,25
	0,198				0,165				0,132			
	0,197				0,167				0,130			
M-D1	0,164	0,165	0,032	89,60	0,153	0,155	0,030	65,23	0,244	0,245	0,049	108,71
	0,167				0,154				0,246			
	0,164				0,157				0,245			
M-D2	0,184	0,184	0,036	100,21	0,217	0,217	0,043	112,90	0,175	0,174	0,034	87,13
	0,186				0,218				0,173			
	0,182				0,217				0,173			
M-D3	0,197	0,197	0,038	108,19	0,214	0,212	0,042	93,44	0,179	0,180	0,035	93,33
	0,196				0,210				0,182			
	0,198				0,213				0,179			
M-E1	0,183	0,182	0,035	94,75	0,197	0,199	0,039	95,01	0,186	0,187	0,036	87,03
	0,184				0,200				0,188			
	0,178				0,200				0,188			
M-E2	0,157	0,158	0,030	86,41	0,170	0,171	0,033	80,62	0,168	0,168	0,032	88,45
	0,158				0,172				0,169			
	0,158				0,172				0,167			
M-E3	0,199	0,199	0,039	109,54	0,182	0,181	0,035	85,02	0,175	0,176	0,034	90,52
	0,200				0,180				0,176			
	0,199				0,180				0,177			

Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

ANEXO 3. ANOVA

3.1 RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN

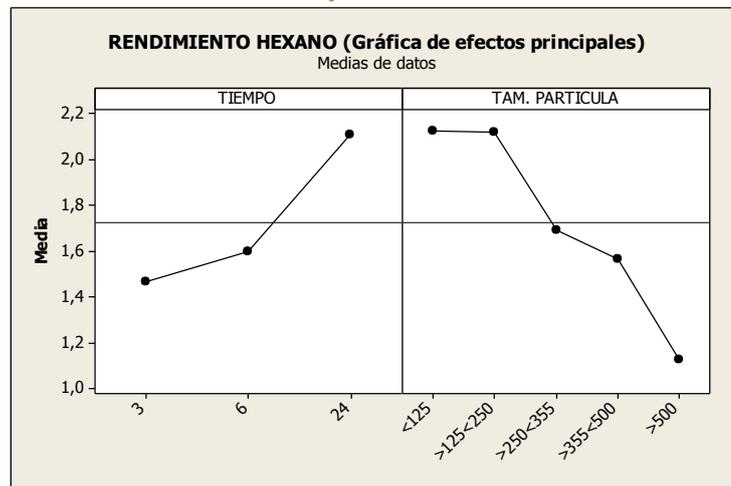
3.1.1 Rendimiento de fracción lipofílica

Análisis de varianza para RENDIMIENTO %, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC sec.	SC ajust.	MC ajust.	F	P
TIEMPO	2	3,44199	3,44199	1,72100	81,63	0,000
TAM. PARTICULA	4	6,24071	6,24071	1,56018	74,00	0,000
TIEMPO*TAM. PARTICULA	8	0,91149	0,91149	0,11394	5,40	0,000
Error	30	0,63250	0,63250	0,02108		
Total	44	11,22670				

S = 0,145201 R-cuad. = 94,37% R-cuad. (ajustado) = 91,74%

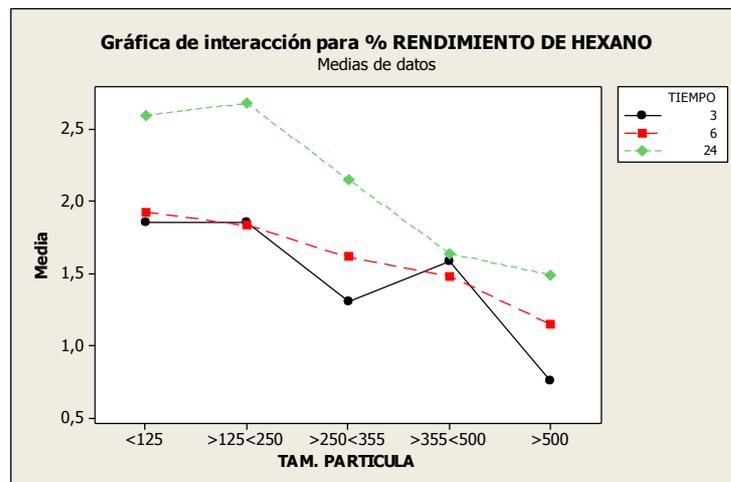
Gráfica de efectos principales del rendimiento de extracción de la fracción lipofílica.



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

Gráfica de interacción del rendimiento de extracción de la fracción lipofílica.



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

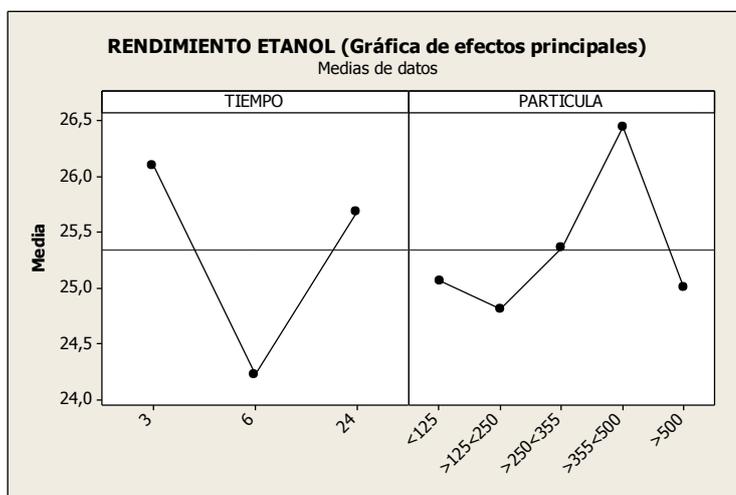
3.1.2 Rendimiento de fracción hidrofílica – etanol

Análisis de varianza para RENDIMIENTO%, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC sec.	SC ajust.	MC ajust.	F	P
TIEMPO	2	28,607	28,607	14,303	10,67	0,000
PARTICULA	4	14,951	14,951	3,738	2,79	0,044
TIEMPO*PARTICULA	8	45,348	45,348	5,668	4,23	0,002
Error	30	40,197	40,197	1,340		
Total	44	129,103				

S = 1,15754 R-cuad. = 68,86% R-cuad.(ajustado) = 54,33%

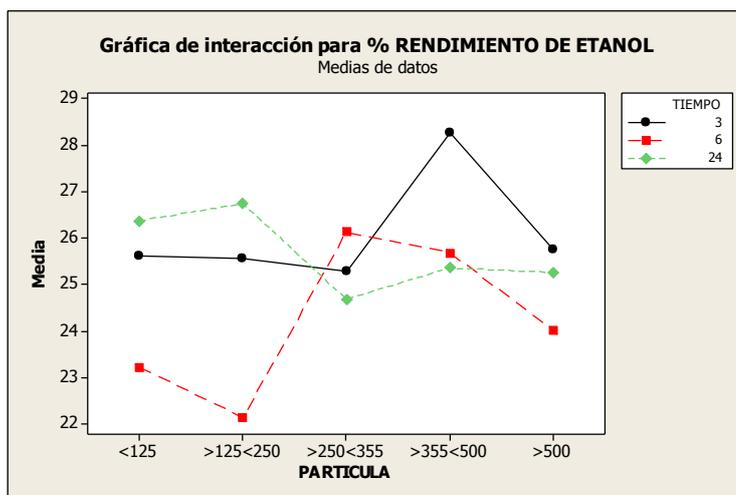
Gráfica de efectos principales del rendimiento de extracción con Etanol



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

Gráfica de interacción del rendimiento de extracción con Etanol



Fuente:La experimentación

Elaboración:La Autora

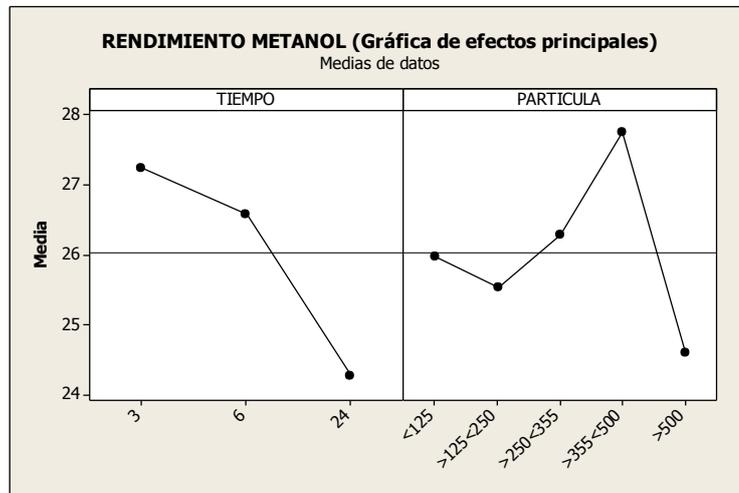
3.1.3 Rendimiento de fracción hidrofílica – metanol

Análisis de varianza para RENDIMIENTO %, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC sec.	SC ajust.	MC ajust.	F	P
TIEMPO	2	72,229	72,229	36,115	15,52	0,000
PARTICULA	4	47,926	47,926	11,982	5,15	0,003
TIEMPO*PARTICULA	8	159,170	159,170	19,896	8,55	0,000
Error	30	69,804	69,804	2,327		
Total	44	349,130				

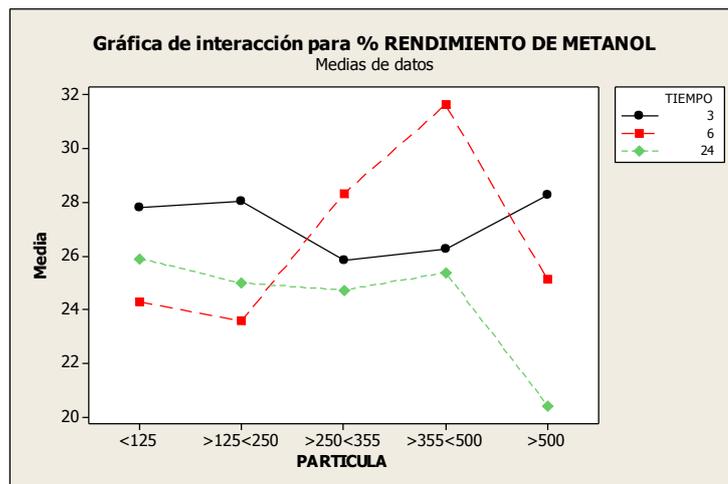
S = 1,52539 R-cuad. = 80,01% R-cuad.(ajustado) = 70,68%

Gráfica de efectos principales del rendimiento de extracción con Metanol



Fuente: La experimentación
Elaboración: La Autora

Gráfica de interacción del rendimiento de extracción con Metanol



Fuente: La experimentación
Elaboración: La Autora

3.2 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

3.2.1 Actividad antioxidante fracción lipofílica

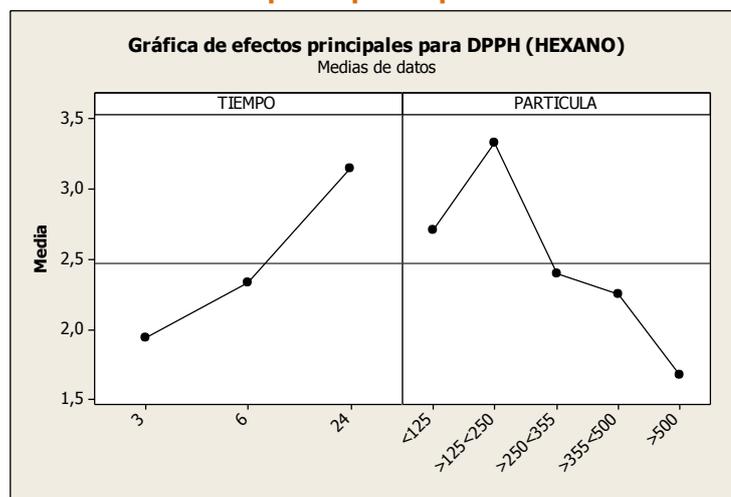
3.2.1.1 DPPH

Análisis de varianza para DPPH-HEX, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC sec.	SC ajust.	MC ajust.	F	P
TIEMPO	2	11,2764	11,2764	5,6382	17,55	0,000
PARTICULA	4	13,2884	13,2884	3,3221	10,34	0,000
TIEMPO*PARTICULA	8	5,3061	5,3061	0,6633	2,06	0,072
Error	30	9,6407	9,6407	0,3214		
Total	44	39,5116				

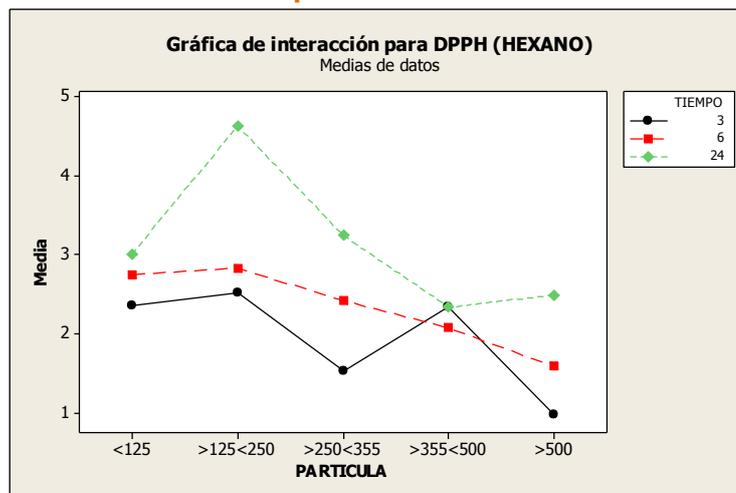
S = 0,566882 R-cuad. = 75,60% R-cuad.(ajustado) = 64,21%

Gráfica de efectos principales para DPPH de Hexano



Fuente: La experimentación
Elaboración: La Autora

Gráfica de interacción para DPPH de extractos de Hexano



Fuente: La experimentación
Elaboración: La Autora

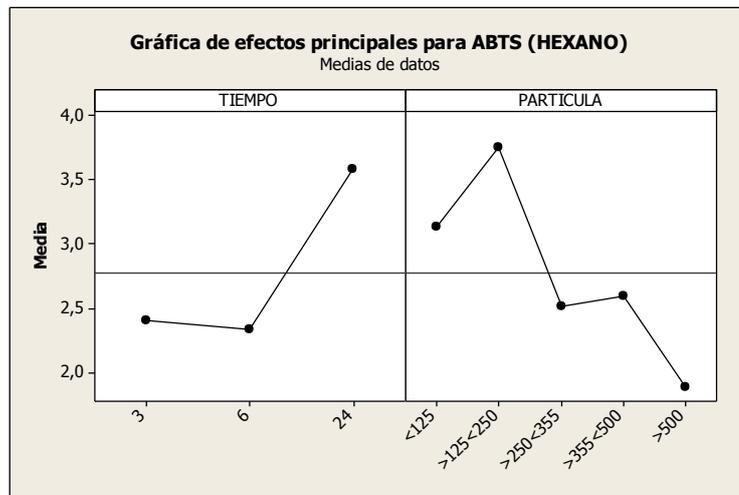
3.2.1.2 ABTS

Análisis de varianza para ABTS, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC sec.	SC ajust.	MC ajust.	F	P
TIEMPO	2	14,7936	14,7936	7,3968	18,09	0,000
PARTICULA	4	17,7123	17,7123	4,4281	10,83	0,000
TIEMPO*PARTICULA	8	2,7444	2,7444	0,3430	0,84	0,576
Error	30	12,2680	12,2680	0,4089		
Total	44	47,5182				

S = 0,639478 R-cuad. = 74,18% R-cuad.(ajustado) = 62,13%

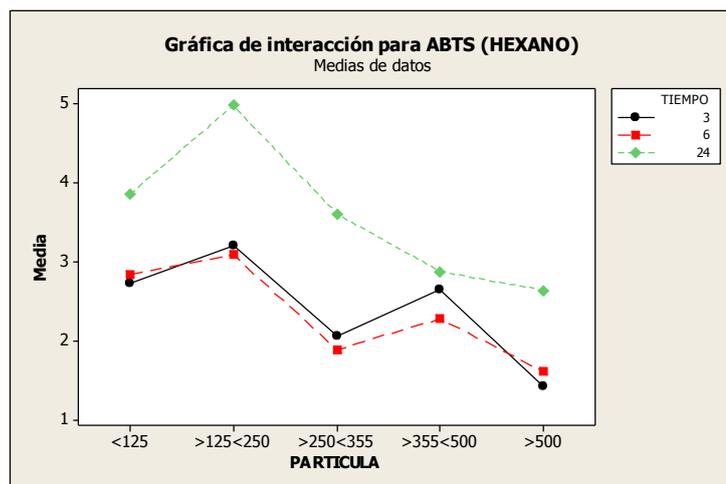
Gráfica de efectos principales para ABTS de Hexano



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

Gráfica de interacción para ABTS de extractos de Hexano



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

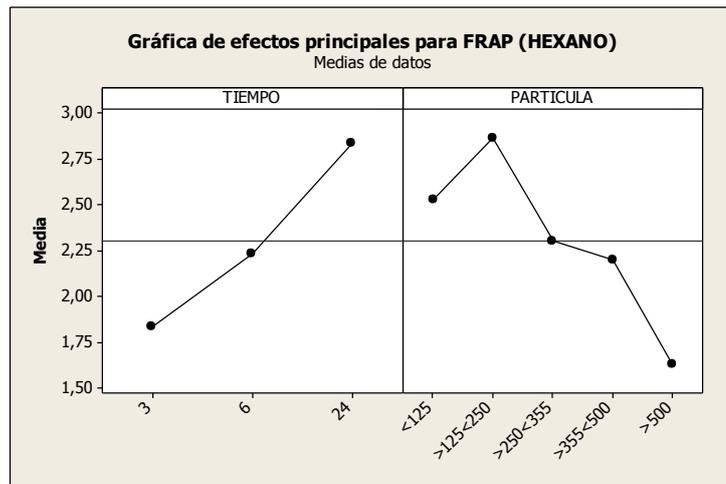
3.2.1.3 FRAP

Análisis de varianza para FRAP-HEXA, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC sec.	SC ajust.	MC ajust.	F	P
TIEMPO	2	7,5909	7,5909	3,7955	31,32	0,000
PARTICULA	4	7,4340	7,4340	1,8585	15,34	0,000
TIEMPO*PARTICULA	8	1,8588	1,8588	0,2323	1,92	0,094
Error	30	3,6352	3,6352	0,1212		
Total	44	20,5190				

S = 0,348102 R-cuad. = 82,28% R-cuad.(ajustado) = 74,02%

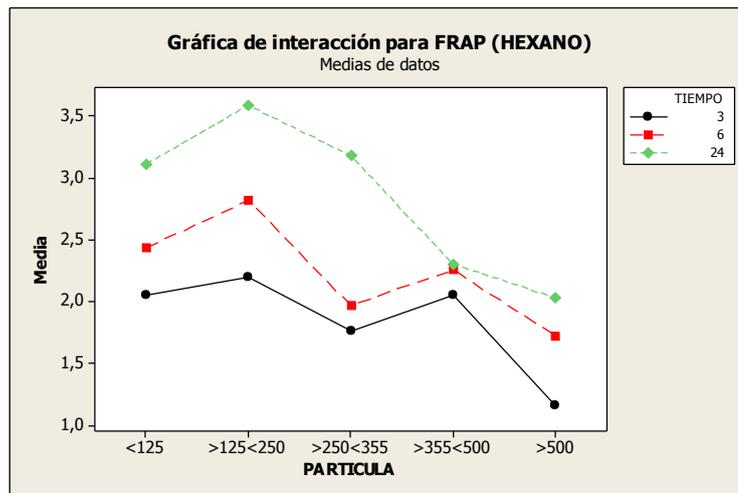
Gráfica de efectos principales para FRAP de Hexano



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

Gráfica de interacción para FRAP de extractos de Hexano



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

3.2.2 Actividad antioxidante fracción hidrofílica – etanol

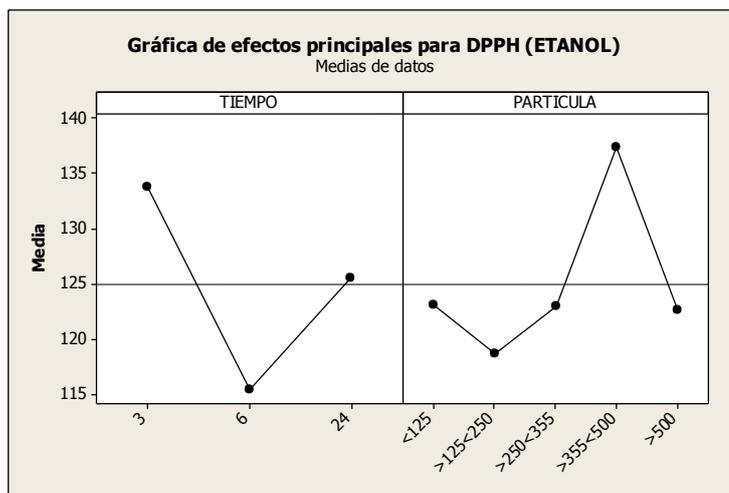
3.2.2.1 DPPH

Análisis de varianza para DPPH-ETOH, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC sec.	SC ajust.	MC ajust.	F	P
TIEMPO	2	2528,6	2528,6	1264,3	3,12	0,059
PARTICULA	4	1854,6	1854,6	463,7	1,14	0,356
TIEMPO*PARTICULA	8	5585,5	5585,5	698,2	1,72	0,134
Error	30	12173,8	12173,8	405,8		
Total	44	22142,5				

S = 20,1443 R-cuad. = 45,02% R-cuad.(ajustado) = 19,36%

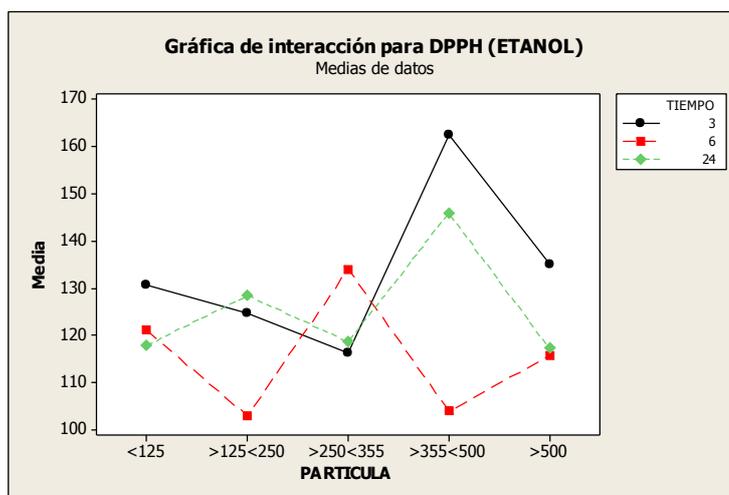
Gráfica de efectos principales para DPPH de Etanol



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

Gráfica de interacción para DPPH de extractos de Etanol



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

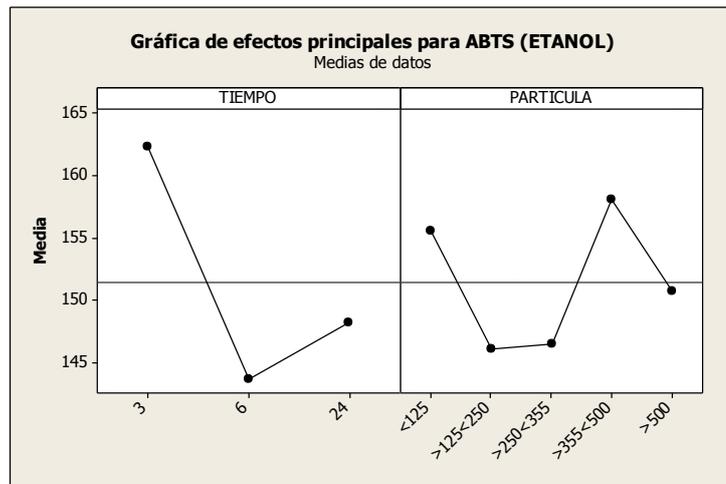
3.2.2.2 ABTS

Análisis de varianza para ABTS, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC sec.	SC ajust.	MC ajust.	F	P
TIEMPO	2	2845,7	2845,7	1422,9	2,67	0,086
PARTICULA	4	1026,4	1026,4	256,6	0,48	0,749
TIEMPO*PARTICULA	8	6373,7	6373,7	796,7	1,49	0,201
Error	30	16001,6	16001,6	533,4		
Total	44	26247,4				

S = 23,0952 R-cuad. = 39,04% R-cuad.(ajustado) = 10,59%

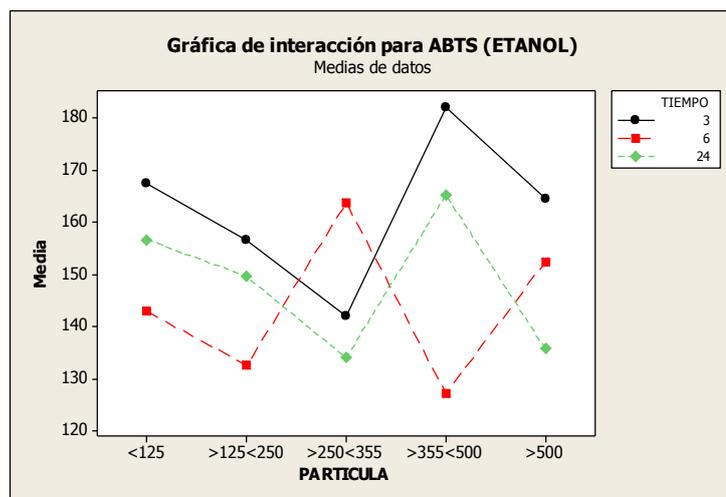
Gráfica de efectos principales para ABTS de Etanol



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

Gráfica de interacción para ABTS de extractos de Etanol



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

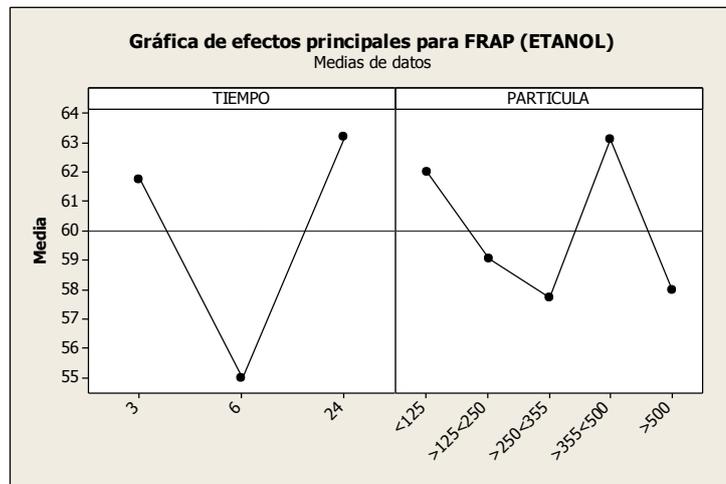
3.2.2.3 FRAP

Análisis de varianza para FRAP-ETOH, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC sec.	SC ajust.	MC ajust.	F	P
TIEMPO	2	579,22	579,22	289,61	3,24	0,053
PARTICULA	4	214,59	214,59	53,65	0,60	0,665
TIEMPO*PARTICULA	8	1128,43	1128,43	141,05	1,58	0,173
Error	30	2677,99	2677,99	89,27		
Total	44	4600,22				

S = 9,44808 R-cuad. = 41,79% R-cuad.(ajustado) = 14,62%

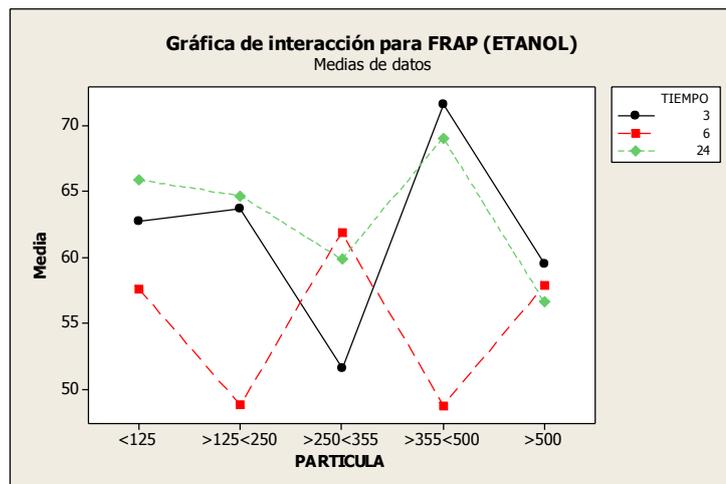
Gráfica de efectos principales para FRAP de Etanol



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

Gráfica de interacción para FRAP de extractos de Etanol



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

3.2.3 Actividad antioxidante fracción hidrofílica – metanol

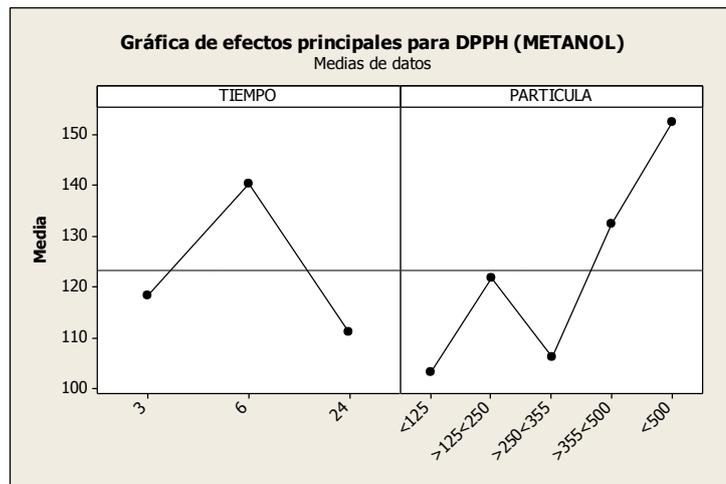
3.2.3.1 DPPH

Análisis de varianza para DPPH-MEOH, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC sec.	SC ajust.	MC ajust.	F	P
TIEMPO	2	6898,8	6898,8	3449,4	5,35	0,010
PARTICULA	4	14677,8	14677,8	3669,4	5,69	0,002
TIEMPO*PARTICULA	8	6071,3	6071,3	758,9	1,18	0,345
Error	30	19357,2	19357,2	645,2		
Total	44	47005,1				

S = 25,4016 R-cuad. = 58,82% R-cuad.(ajustado) = 39,60%

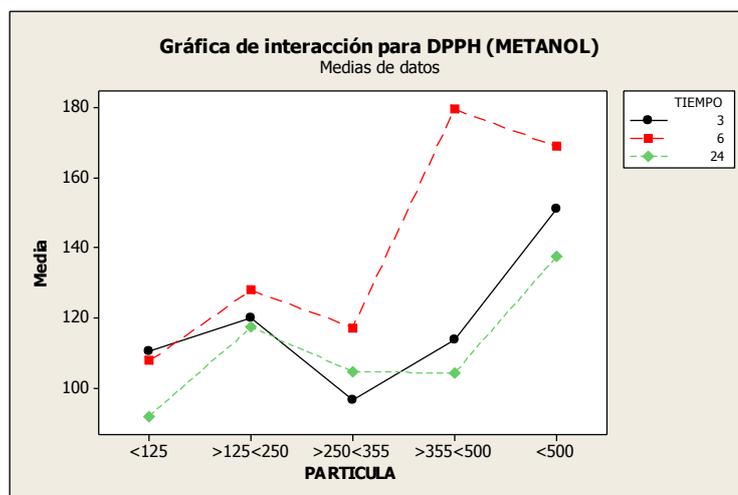
Gráfica de efectos principales para DPPH de Metanol



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

Gráfica de interacción para DPPH de extractos de Metanol



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

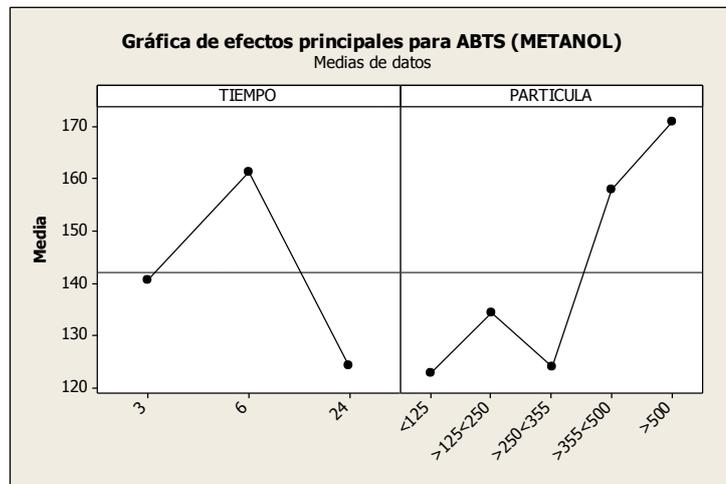
3.2.3.2 ABTS

Análisis de varianza para ABTS, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC sec.	SC ajust.	MC ajust.	F	P
TIEMPO	2	10321,4	10321,4	5160,7	6,86	0,004
PARTICULA	4	16493,6	16493,6	4123,4	5,48	0,002
TIEMPO*PARTICULA	8	11262,6	11262,6	1407,8	1,87	0,103
Error	30	22580,9	22580,9	752,7		
Total	44	60658,5				

S = 27,4353 R-cuad. = 62,77% R-cuad.(ajustado) = 45,40%

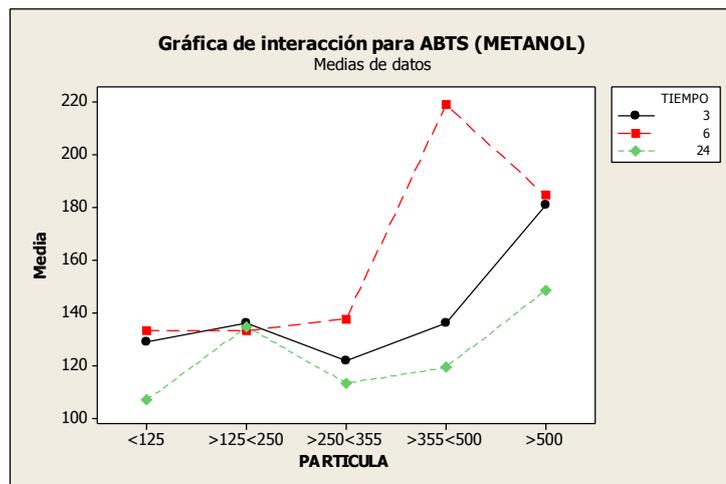
Gráfica de efectos principales para ABTS de Metanol



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

Gráfica de interacción para ABTS de extractos de Metanol



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

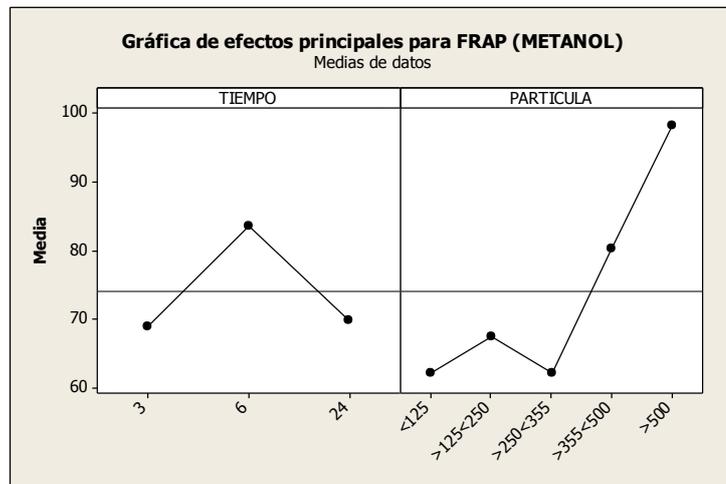
3.2.3.3 FRAP

Análisis de varianza para FRAP-MEOH, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC sec.	SC ajust.	MC ajust.	F	P
TIEMPO	2	2022,2	2022,2	1011,1	4,12	0,026
PARTICULA	4	8595,2	8595,2	2148,8	8,76	0,000
TIEMPO*PARTICULA	8	3998,2	3998,2	499,8	2,04	0,076
Error	30	7359,0	7359,0	245,3		
Total	44	21974,6				

S = 15,6620 R-cuad. = 66,51% R-cuad.(ajustado) = 50,88%

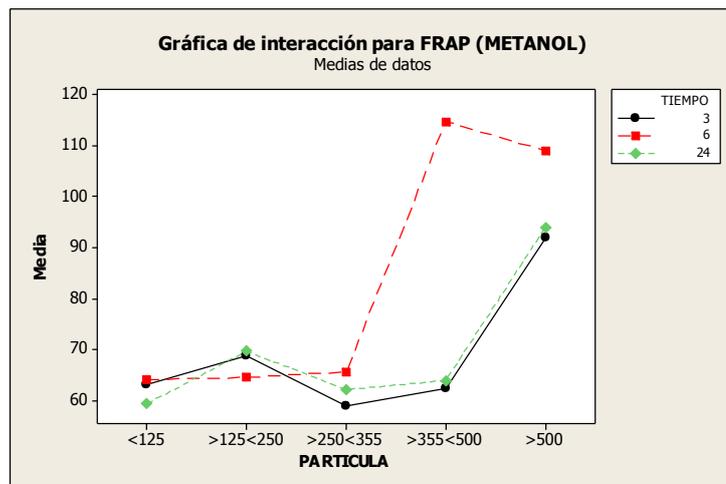
Gráfica de efectos principales para FRAP de Metanol



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

Gráfica de interacción para FRAP de extractos de Metanol



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

3.3 FENOLES TOTALES

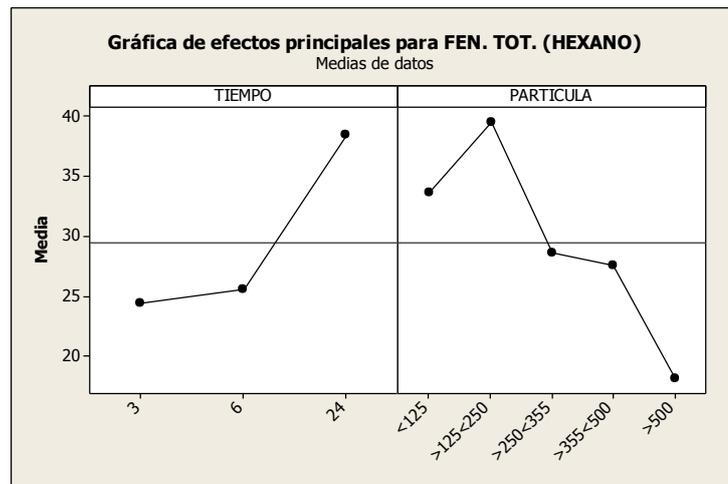
3.3.1 Fenoles totales fracción lipofílica

Análisis de varianza para FENOLES-H, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC sec.	SC ajust.	MC ajust.	F	P
TIEMPO	2	1823,83	1823,83	911,92	16,95	0,000
PARTICULA	4	2241,71	2241,71	560,43	10,42	0,000
TIEMPO*PARTICULA	8	534,05	534,05	66,76	1,24	0,310
Error	30	1613,82	1613,82	53,79		
Total	44	6213,41				

S = 7,33443 R-cuad. = 74,03% R-cuad.(ajustado) = 61,91%

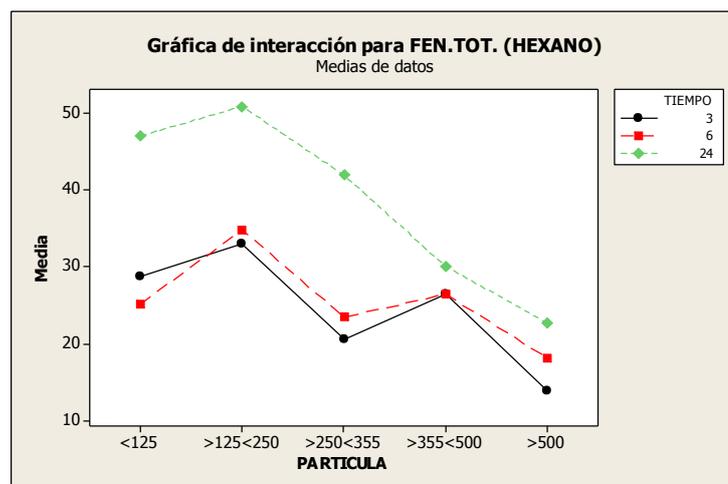
Gráfica de efectos principales para fenoles totales de Hexano



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

Gráfica de interacciones para fenoles totales de Hexano



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

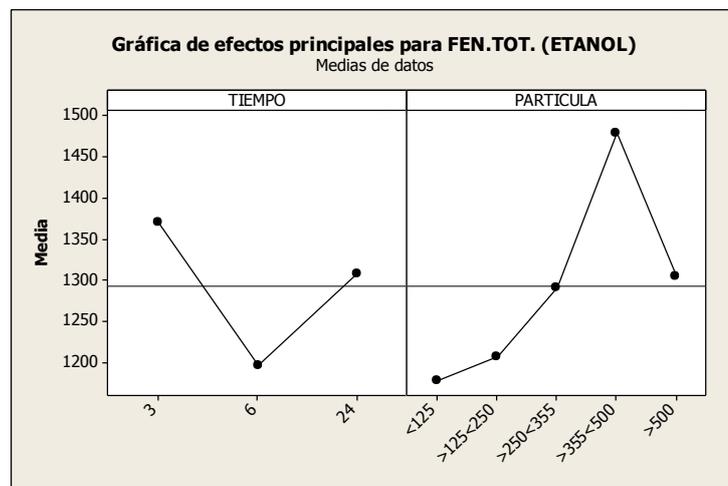
3.3.2 Fenoles totales fracción hidrofílica – etanol

Análisis de varianza para FEN.TOT. (ETANOL), utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC sec.	SC ajust.	MC ajust.	F	P
TIEMPO	2	234393	234393	117196	2,30	0,118
PARTICULA	4	496791	496791	124198	2,43	0,069
TIEMPO*PARTICULA	8	373462	373462	46683	0,91	0,518
Error	30	1531072	1531072	51036		
Total	44	2635719				

S = 225,911 R-cuad. = 41,91% R-cuad.(ajustado) = 14,80%

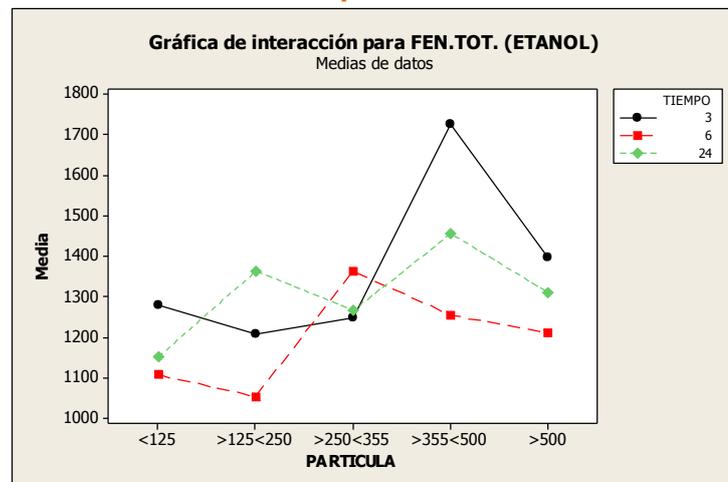
Gráfica de efectos principales para fenoles totales de Etanol



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

Gráfica de interacciones para fenoles totales de Etanol



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

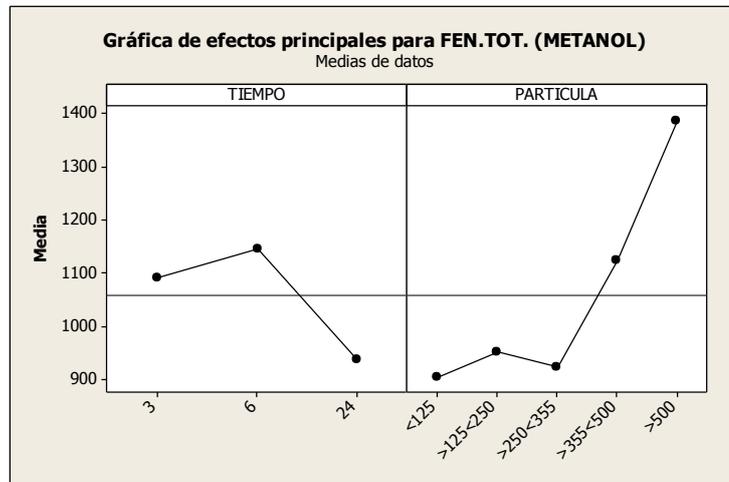
3.3.3 Fenoles totales fracción hidrofílica – metanol

Análisis de varianza para FEN.TOT. (METANOL), utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC sec.	SC ajust.	MC ajust.	F	P
TIEMPO	2	347003	347003	173501	6,04	0,006
PARTICULA	4	1474255	1474255	368564	12,84	0,000
TIEMPO*PARTICULA	8	665687	665687	83211	2,90	0,016
Error	30	861449	861449	28715		
Total	44	3348393				

S = 169,455 R-cuad. = 74,27% R-cuad.(ajustado) = 62,27%

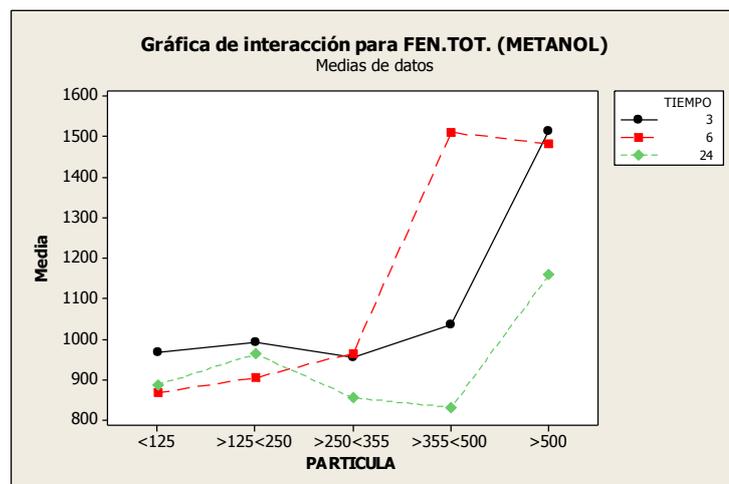
Gráfica de efectos principales para fenoles totales de Metanol



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora

Gráfica de interacciones para fenoles totales de Metanol



Fuente: La experimentación

Elaboración: La Autora