



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLÓGICA

TITULACIÓN DE INGENIERO EN INDUSTRIAS AGROPECUARIAS

Efecto de la hidrólisis ácida en la extracción de antioxidantes y antiinflamatorios en subproductos de guayaba y mango.

TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN

AUTORA: Apolo Aguilar, Diana Maricela

DIRECTOR: Figueroa Hurtado, Jorge Geovanny, Ing.

LOJA – ECUADOR

2013

APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN

Ingeniero.

Jorge Geovanny Figueroa Hurtado.

DOCENTE DE LA TITULACIÓN

De mi consideración:

El presente trabajo de fin de titulación: “Efecto de la hidrólisis ácida en la extracción de antioxidantes y antiinflamatorios en subproductos de mango y guayaba” realizado por Apolo Aguilar Diana Maricela, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo.

Loja, 25 de noviembre de 2013

Jorge Geovanny Figueroa Hurtado

f):.....

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

“Yo, APOLO AGUILAR DIANA MARICELA declaro ser autora del presente trabajo de fin de titulación: EFECTO DE LA HIDRÓLISIS ÁCIDA EN LA EXTRACCIÓN DE ANTIOXIDANTES Y ANTIINFLAMATORIOS EN SUBPRODUCTOS DE MANGO Y GUAYABA, de la Titulación Ingeniero en Industrias Agropecuarias, siendo el Ing. JORGE GEOVANNY FIGUEROA HURTADO director del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 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).....

Autora: Apolo Aguilar, Diana Maricela

CI: 070489573-9

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida, por su infinito amor y bondad, por bendecirme siempre y por darme salud y bienestar para cumplir con mis metas y objetivos.

Con mucho cariño y amor a mis padres Bolívar Apolo y Yolanda Aguilar, quienes a lo largo de mi vida han velado por mi bienestar y educación, siendo el pilar fundamental en mi vida y en mis estudios. Por estar ahí dándome la motivación y las fuerzas necesarias para seguir adelante.

Diana Apolo

AGRADECIMIENTO

A Dios gracias por ser mi guía y mi luz en cada momento de mi vida y por todo lo que tan bondadosamente me regala cada día.

Mi agradecimiento a la Universidad Técnica Particular de Loja y por su intermedio a la Titulación de Ingeniero en Industrias Agropecuarias.

Mi sincero agradecimiento a mi director de tesis Ing. Geovanny Figueroa por su valiosa orientación y apoyo para llevar a cabo la realización de este trabajo

Mi gratitud a la Ing. María Del Cisne Guamán e Ing. Miguel Ángel Meneses por su colaboración.

A todos y cada uno de los docentes que formaron parte de mi formación.

Diana Apolo

ÍNDICE DE CONTENIDOS	Pág.
APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN	ii
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS	vi
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS	ix
ÍNDICE DE GRÁFICAS	ix
ÍNDICE DE ANEXOS	x
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1 INTRODUCCIÓN	3
2 REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1 La guayaba (<i>Psidium guajava</i> L.)	5
2.2 El mango (<i>Mangifera indica</i> L.)	5
2.3 Subproductos del procesamiento de mango y guayaba	6
2.4 Antioxidantes	7
2.5 Actividad antioxidante	7
2.5.1 ABTS.	7
2.5.2 DPPH.	7
2.5.3 FRAP.	8
2.6 Compuestos fenólicos	8
2.7 Compuestos antioxidantes en guayaba y mango	9
2.8 Extracción de compuestos fenólicos	10
2.9 Hidrólisis	10
2.10 Inflamación	11
2.11 Efecto antiinflamatorio	11

	Pág.
3 OBJETIVOS E HIPÓTESIS	12
3.1 Objetivo general	12
3.2 Objetivo específico	12
3.3 Hipótesis nula	12
4 MATERIALES Y MÉTODOS	13
4.1 Muestras	13
4.2 Reactivos	13
4.3 Equipos usados	13
4.4 Método experimental	14
4.4.1 Extracción de compuestos con actividad antioxidante y antiinflamatoria	14
4.4.2 Purificación de polifenoles por adsorción y desorción en columna C18	15
4.4.3 Determinación de fenoles totales	16
4.4.4 Determinación de actividad antioxidante	17
4.4.4.1 ABTS.	17
4.4.4.2 DPPH.	17
4.4.4.3 FRAP.	18
4.4.5 Determinación de carbohidratos	18
4.4.6 Determinación de la actividad antiinflamatoria	19
4.5 Análisis estadístico	20
5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
5.1 Rendimiento de extracción antes y después de la purificación	21
5.2 Fenoles totales antes y después de la purificación	23
5.3 Carbohidratos totales antes y después de la purificación	25
5.4 Actividad antioxidante antes y después de la purificación	27
5.5 Actividad antiinflamatoria antes y después de la purificación	31
5.6 Balance de materia para carbohidratos totales	33
5.7 Balance de materia para fenoles totales	34

6	CONCLUSIONES	37
7	RECOMENDACIONES	38
8	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
	LISTA DE ABREVIATURAS	48
9	ANEXOS	50

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

	Pág.
Fotografía 1. Fruto de guayaba	5
Fotografía 2. Fruto de mango	6
Fotografía 3. Proceso de maceración dinámica	14
Fotografía 4. Eliminación del solvente por evaporación al vacío	15
Fotografía 5. Purificación de polifenoles	16
Fotografía 6. Espectrofotómetro para placa con pocillos	19

ÍNDICE DE GRÁFICAS

	Pág.
Gráfica 1. Rendimiento de extracción guayaba y mango antes y después de la purificación	22
Gráfica 2. Fenoles totales en guayaba y mango antes y después de la purificación	24
Gráfica 3. Carbohidratos totales en guayaba y mango antes y después de la purificación	26
Gráfica 4. Actividad de la lipoxigenasa ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ de muestra)	32
Gráfica 5. Balance de materia para carbohidratos totales en los extractos purificados y no purificados de guayaba	33
Gráfica 6. Balance de materia para carbohidratos totales en los extractos purificados y no purificados de mango	34
Gráfica 7. Balance de materia para fenoles totales en los extractos purificados y no purificados de guayaba	35
Gráfica 8. Balance de materia para fenoles totales en los extractos purificados y no purificados de mango	36

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Actividad antioxidante de los extractos de subproductos de guayaba y mango antes y después de la purificación	28

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: ANEXO DETALLADO DEL MÉTODO EXPERIMENTAL	Pág.
Anexo A 1. Proceso de maceración dinámica y extracción	50
Anexo A 2. Procedimiento del fraccionamiento en columna C18	51
Anexo A 3. Esquema gráfico método fenoles totales	52
Anexo A 4. Esquema gráfico método ABTS	53
Anexo A 5. Esquema gráfico método DPPH	54
Anexo A 6. Esquema gráfico método FRAP	55
Anexo A 7. Esquema gráfico determinación de carbohidratos	56
Anexo A 8. Esquema gráfico método antiinflamatorios	57
ANEXO B: ANEXO DE FOTOGRAFÍAS	Pág.
Anexo B 1. Anexo de fotografías	59
ANEXO C: EJEMPLOS DE CÁLCULO	Pág.
Anexo C 1. Rendimiento de extracción antes del proceso de purificación	62
Anexo C 2. Rendimiento de extracción después del proceso de purificación	63
Anexo C 3. Fenoles totales antes del proceso de purificación	64
Anexo C 4. Fenoles totales luego del proceso de purificación	66
Anexo C 5. Fenoles totales fracción azúcares	69
Anexo C 6. Balance de fenoles	72
Anexo C 7. Carbohidratos totales antes del proceso de purificación	72
Anexo C 8. Carbohidratos totales después del proceso de purificación	75
Anexo C 9. Carbohidratos totales fracción azúcares	77
Anexo C 10. Balance de carbohidratos	80
Anexo C 11. Actividad antioxidante antes del proceso de purificación	80
Anexo C 12. Actividad antioxidante después del proceso de purificación	83
Anexo C 13. Antiinflamatorios antes del proceso de purificación	85
Anexo C 14. Antiinflamatorios después del proceso de purificación	87
ANEXO D: DATOS	Pág.
Anexo D 1. Rendimiento de extracción guayaba	89

	Pág.
Anexo D 2. Fenoles totales guayaba	90
Anexo D 3. Carbohidratos totales guayaba	92
Anexo D 4. ABTS guayaba	94
Anexo D 5. DPPH guayaba	95
Anexo D 6. FRAP guayaba	96
Anexo D 7. Antiinflamatorios guayaba	97
Anexo D 8. Rendimiento de extracción mango	98
Anexo D 9. Fenoles totales mango	99
Anexo D 10. Carbohidratos totales mango	101
Anexo D 11. ABTS mango	103
Anexo D 12. DPPH mango	104
Anexo D 13. FRAP mango	105
Anexo D 14. Antiinflamatorios mango	106

RESUMEN

En este estudio los subproductos de guayaba (*Psidium guajava* L.) y mango (*Mangifera indica* L.) fueron analizados para determinar el efecto de la hidrólisis ácida y purificación en columna C18, sobre su potencial antioxidante y antiinflamatorio. Las extracciones se realizaron con etanol al 57 % empleándose diferentes tratamientos acidificantes: ácido clorhídrico, acético y cítrico, además de un tratamiento sin ácido. Luego de obtener los extractos se determinó el rendimiento de extracción, fenoles totales, carbohidratos totales, actividad antioxidante (ABTS, DPPH y FRAP) y actividad antiinflamatoria (inhibición de la lipoxigenasa). Para el subproducto de guayaba el rendimiento de extracción se mejoró con el tratamiento con ácido clorhídrico en un 7 % comparado con el tratamiento sin ácido, sin embargo, se observó que la hidrólisis ácida no mejoró la extracción de compuestos fenólicos. En función a la actividad antioxidante la hidrólisis con ácido acético es el mejor tratamiento con valores de 87, 112 y 72 $\mu\text{mol TE/g}$ muestra BS medidos mediante ABTS, DPPH y FRAP respectivamente. En los subproductos de mango la hidrólisis ácida no mejoró la extracción de compuestos fenólicos y el tratamiento sin ácido permite los mejores resultados de actividad antioxidante con valores de 279, 337 y 290 $\mu\text{mol TE/g}$ muestra BS medidos mediante ABTS, DPPH y FRAP respectivamente. Con la etapa de purificación se eliminó aproximadamente el 90 % de carbohidratos totales. La hidrólisis ácida no mejora la actividad antiinflamatoria para los extractos de mango y guayaba.

Palabras claves: Hidrólisis ácida, purificación, columna C18, rendimiento de extracción, compuestos fenólicos, actividad antioxidante, actividad antiinflamatoria.

ABSTRACT

The effect of acid hydrolysis and purification in C18 column on the antioxidant and anti-inflammatory activities of by-products of guava (*Psidium guajava* L.) and mango (*Mangifera indica* L.) extracts were studied. The extractions of polyphenols were performed with ethanol (57%) acidified using different treatments: hydrochloric acid, acetic and citric acid, well as a treatment without acidification used for comparison. For each extraction treatment, were evaluated the extraction yield, the total phenolic content, the total carbohydrate content, the antioxidant activity (ABTS, DPPH and FRAP) and the antiinflammatory activity (lipoxygenase inhibition). For guava byproduct the extraction yield was improved in 7 % with hydrochloric acid compared to the treatment without acid, however, the acid hydrolysis did not improve the extraction of phenolic compounds. Considering the antioxidant activities of guava extracts, the hydrolysis treatment with acetic acid showed the best results 87, 112 and 72 $\mu\text{mol TE/g}$ sample BS for ABTS, DPPH and FRAP assays respectively. In mango byproducts, the acid hydrolysis did not improve the extraction of phenolic compounds; moreover, the treatments without acid showed the best results for antioxidant activities 279, 337 and 290 $\mu\text{mol TE/g}$ sample BS for ABTS, DPPH and FRAP assays, respectively. The purification step allowed the elimination of the 90 % of total carbohydrates. Acid hydrolysis did not improve the anti-inflammatory activity of the mango and guava extracts.

Keywords: Acid hydrolysis, purification, C18 column, extraction yield, phenolic, antioxidant activity, antiinflammatory activity.

1 INTRODUCCIÓN

Las frutas tropicales como el mango y la guayaba poseen atractivas características para las industrias, por lo cual se las explota no solo como producto fresco, sino también como producto procesado, obteniendo así: jugos clarificados, concentrados, polvos deshidratados, jaleas, mermeladas, salsas, zumos, bebidas refrescantes, puré, néctar, enlatados, etc. (Mercadante et al. 1999; Ajila et al. 2007b; Sinha et al. 2012). En la transformación de estas frutas, se generan residuos sólidos, los cuales son materia prima favorable para la obtención de extractos ricos en compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes ya que pueden contener cantidades significativas de estos componentes y su coste es prácticamente nulo (Balasundram et al. 2006; Ajila et al. 2007a; Floris et al. 2010). En algunos casos, la eliminación de estos subproductos es un costo adicional para las industrias (Yepes et al. 2008; De Araújo Sousa y Targino Pinto Correia 2010; Floris et al. 2010). Durante el procesamiento de mango y guayaba se generan grandes cantidades de subproductos como piel, semilla y pulpa (Larrauri et al. 1996; Kong et al. 2010b), los cuales son una excelente fuente de compuestos polifenólicos con propiedades antioxidantes (Jiménez - Escrig et al. 2001; Kuskoski et al. 2005; Kong et al. 2010a). No obstante, la mayoría de industrias dedicadas al procesamiento de frutas, no proporcionan un tratamiento adecuado a estos subproductos y los desechan en el ambiente sin aprovecharlos, convirtiéndose así en una fuente de contaminación, ya que este tipo de subproductos es muy inestable y deben ser tratados tan pronto sea posible (Floris et al. 2010).

Los compuestos fenólicos se encuentran de forma natural en diferentes alimentos, la guayaba por ejemplo es una fruta rica en compuestos antioxidantes y con un alto nivel de ácido ascórbico, entre 174.2 a 396.7 mg/100 g de peso fresco (Thaipong et al. 2006). También en la pulpa de mango encontramos antocianinas y polifenoles (2.7 mg/100 g de peso fresco y 544.9 mg/100 g de peso fresco, respectivamente) (Kuskoski et al. 2005). Se considera que los mecanismos naturales de defensa de los antioxidantes presentes en las frutas, se relacionan con tres grupos principales, que son: vitaminas, fenoles y carotenoides (Thaipong et al. 2006). Los mayores contribuyentes a la actividad antioxidante en el mango y en la guayaba son el ácido ascórbico y los compuestos fenólicos (Thaipong et al. 2006; Ribeiro et al. 2007).

Los compuestos antioxidantes, incluidos compuestos fenólicos, presentes en las frutas y vegetales, son de gran interés debido a los beneficios que representan sobre la salud humana (Larrauri et al. 1996; Cruz et al. 2004; Summa et al. 2006) como su potencial para

combatir enfermedades cardíacas, cáncer (Jiménez - Escrig et al. 2001; Esmailzadeh et al. 2006; Barreto et al. 2008; Masibo y He 2008), protección a las células contra el daño por estrés oxidativo (Mahattanatawee et al. 2006; Barreto et al. 2008; Masibo y He 2008), daño en el ADN, aterosclerosis, diabetes, obesidad (Masibo y He 2008), enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer (Joseph et al. 2005), al mismo tiempo mejoran la digestión y mantienen los niveles de azúcar en la sangre (Mahattanatawee et al. 2006), además de otras patologías de carácter inflamatorio (Martínez Valverde et al. 2000).

Estudios sobre los subproductos tanto de mango así como de guayaba, han demostrado que son una fuente rica de compuestos fenólicos (Martínez et al. 2012) con actividad antioxidante y antiinflamatoria, pero además de dichos compuestos también son co-extraídos carbohidratos, por lo cual, con el presente estudio se mejoró las características físicas del extracto al eliminar los hidratos de carbono del mismo, buscando obtener un extracto menos pegajoso y de fácil manejo. A la vez se evaluó la actividad que poseen estos subproductos como antioxidantes y antiinflamatorios antes y después de su purificación (eliminación de azúcares), tratándolos con diferentes ácidos que permitan mejorar la hidrólisis. Con esto se buscó promover el aprovechamiento de los subproductos que generan las empresas dedicadas al procesamiento de frutas.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 La guayaba (*Psidium guajava* L.)

La guayaba es una fruta perteneciente a la familia Mirtácea y se ha generalizado en todas las zonas tropicales y subtropicales (Musa et al. 2011), es una especie nativa de América tropical, probablemente originaria de México o Perú, ésta fruta se encuentra muy difundida en todo el mundo (Little et al. 2001). El fruto es una baya de forma redondeado o en forma de pera, de color amarillo (Fotografía 1.), comestible (Little et al. 2001), el cual es una excelente fuente de vitamina C y compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes (Miean y Mohamed 2001).



Fotografía 1. Fruto de guayaba

Fuente: La autora

En Ecuador la producción anual de guayaba según el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC) (2011) fue de 587 toneladas métricas, produciéndose mayoritariamente en la región Costa, seguida de la región Oriente y la región Sierra, con 255, 194 y 138 toneladas métricas respectivamente.

2.2 El mango (*Mangifera indica* L.)

El mango (*Mangifera indica* L.) es originario de la India y es extensamente cultivado en otras áreas tropicales como Brasil, México, Pakistán, Indonesia, Filipinas, así como también en

otras zonas subtropicales (Ueda et al. 2000). Sus frutos (Fotografía 2) son una fuente natural de antioxidantes y la cantidad de compuestos polifenólicos presentes, varía según la parte del mango: pulpa, piel, semillas; además encontramos este tipo de compuestos en la corteza, las hojas y las flores (Masibo y He 2008).



Fotografía 2. Fruto de mango

Fuente: (Wikimedia Commons 2013)

En el país la producción de mango según INEC (2011) fue de 21589 toneladas métricas. Ecuador se encuentra dentro de los principales abastecedores para el mercado norteamericano (Evans 2008). El mango se cultiva principalmente en la provincia del Guayas con una superficie estimada de 7700 hectáreas, de las cuales 6500 aproximadamente están dedicadas a exportación. Las variedades más populares que se exportan son: Kent, Tommy Atkins, Haden y Keitt (Fundación Mango Ecuador 2000).

2.3 Subproductos del procesamiento de mango y guayaba

Durante el procesamiento del mango la piel y la semilla son los principales subproductos que se generan, estos representan aproximadamente del 35 al 70 % del peso total de la fruta, esto varía según la variedad del mango y el producto elaborado (Larrauri et al. 1996). La piel del mango contiene compuestos bioactivos valiosos como: polifenoles, carotenoides, enzimas y fibra dietética (Ajila et al. 2007a).

Mientras tanto que durante la producción de puré de guayaba (variedad pera rosa) se genera aproximadamente 25% de subproductos del peso total de la fruta (Kong et al. 2010b) correspondiendo a piel y pulpa, los cuales pueden ser usados como una nueva fuente de

fibra y de compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes (Jiménez - Escrig et al. 2001).

2.4 Antioxidantes

Un antioxidante es “cualquier sustancia que, cuando está presente a bajas concentraciones respecto a las de un sustrato oxidable, retrasa o previene significativamente la oxidación de este sustrato” (Halliwell citado por Ugartondo Casadevall 2009). También se define como una sustancia capaz de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres mediante la liberación de electrones en nuestra sangre (Avello y Suwalsky 2006). Los antioxidantes son necesarios para evitar la formación y oponerse a la acción de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, los cuales causan daño al ADN, a los lípidos, proteínas, entre otros (Halliwell 1996).

Los antioxidantes naturales se encuentran presentes en la dieta humana y son resistentes a los daños oxidativos, se pueden encontrar en frutas y verduras, semillas, cereales, bayas, vino, te, bulbos de cebolla, aceite de oliva y plantas aromáticas (Dimitrios 2006).

2.5 Actividad antioxidante

La actividad antioxidante viene determinada por interacciones sinérgicas entre diferentes compuestos antioxidantes, así como por el modo de acción concreto de cada uno de ellos. Los métodos más usados para medir actividad antioxidante son el FRAP, ABTS y DPPH, (Pérez - Jiménez y Saura - Calixto 2007).

2.5.1 ABTS.

Este método de decoloración se basa en la captación de distintos radicales libres (Pérez - Jiménez y Saura - Calixto 2007), permite determinar la actividad antioxidante tanto de compuestos hidrofílicos como lipofílicos (Re et al. 1999; Arnao et al. 2001), de forma que es posible hacer una estimación de la actividad antioxidante de estos dos tipos de antioxidantes en la misma muestra. La evaluación de este método, expresa la contribución particular del ácido ascórbico y los carotenoides; además es un método fácil, preciso y rápido de aplicar (Arnao et al. 2001).

2.5.2 DPPH.

Este método se basa en la captación de distintos radicales libres (Sánchez - Moreno et al. 1998; Pérez - Jiménez y Saura - Calixto 2007), es decir en la reducción del

radical DPPH por los antioxidantes de la muestra. Posee una banda de absorción a 515 nm. Es un método fácil y rápido para la evaluación de las actividades anti radicales de los antioxidantes (Brand - Williams et al. 1995). El radical DPPH es estable y posee una coloración púrpura, la cual se pierde progresivamente cuando se le añade las sustancias antioxidantes contenidas en la muestra. La cuantificación se realiza empleando Trólox como solución patrón y los tiempos de reacción varían según la naturaleza de los antioxidantes (Prior citado por García Alonso 2006).

2.5.3 FRAP.

Este método se basa en la capacidad de reducción férrica (Pérez - Jiménez y Saura - Calixto 2007). Fue desarrollado en el año de 1996 por Benzie y Strain como método de la medida de la actividad antioxidante plasmática, sin embargo luego se ha aplicado a muestras de alimentos. Determina la capacidad que posee una muestra para reducir un complejo de hierro férrico con la molécula tripiridil-s-triazina (TPTZ) a su forma ferrosa, de manera que se genera una coloración de intensidad proporcional a la actividad reductora de la muestra, la cual puede cuantificarse por colorimetría en base a un patrón de hierro ferroso (García Alonso 2006). Este método es de bajo costo, los reactivos son fáciles de preparar, los resultados son reproducibles, el procedimiento es sencillo y rápido (Benzie y Strain 1996).

En la determinación de la actividad antioxidante de un compuesto es necesario combinar al menos dos métodos, uno basado en la capacidad de reducción de metales y otro en la captación de radicales libre, para así obtener un conocimiento más amplio de la actividad antioxidante de una muestra (Pérez - Jiménez y Saura - Calixto 2007).

2.6 Compuestos fenólicos

Son compuestos orgánicos que poseen un anillo aromático que lleva uno o más grupos hidroxilo, su estructura varía desde una molécula fenólica sencilla a la de un polímero de elevado peso molecular. La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos, depende de la estructura, particularmente del número y las posiciones de los grupos hidroxilo y de la naturaleza de las sustituciones en los anillos aromáticos (Balasundram et al. 2006). Componen un amplio grupo de sustancias químicas, considerados metabolitos secundarios de las plantas con diferentes estructuras y actividad, englobando más de 8000 compuestos distintos (Martínez Valverde et al. 2000), se dividen en varias clases: ácidos hidroxibenzóicos, ácido hidroxicinámicos, antocianinas, proantocianidinas, flavonoles,

flavonas, flavanoles, flavanonas, isoflavonas, lignanos y estilbenos (Manach et al. 2005). Los que tienen más relevancia nutricional dada su actividad biológica son los flavonoides, abundantes en alimentos de origen vegetal (Rice - Evans et al. 1997). Las propiedades funcionales de las frutas se encuentran relacionadas con la presencia y el contenido de estos compuestos fenólicos, como: flavonoides, carotenoides, antocianinas y taninos (Espinal Ruiz 2010).

Su consumo está asociado con efectos protectores frente a algunas enfermedades tales como en el tratamiento y prevención del cáncer, enfermedades cardiovasculares, enfermedades asociadas a la inflamación, úlcera duodenal y gástrica, fragilidad vascular, infecciones, etc (Martínez Valverde et al. 2000).

2.7 Compuestos antioxidantes en guayaba y mango

La guayaba es una fruta considerada altamente nutritiva, debido a que contiene altos niveles de ácido ascórbico (50 – 300 mg/g de peso fresco), lo cual es de tres a seis veces más de lo que contiene una naranja (Thaipong et al. 2006). La pulpa de la guayaba rosa contiene varios carotenoides como: fitoflueno, β -caroteno, β -criptoxantina, licopeno, rubixantina, criptoflavina, luteína, entre otros (Mercadante et al. 1999). Además posee otros compuestos importantes como: miricetina, apigenina, quercetina, kaempferol, siendo la mayoritaria la quercetina, seguido de la miricetina y el kaempferol (Miean y Mohamed 2001). Estudios previos mostraron que los subproductos de guayaba compuestos por piel, pulpa y semillas, contienen 250 mg de ácido gálico en 100 g de subproductos en base seca (Martínez et al. 2012).

Los subproductos obtenidos durante el procesamiento del mango son una fuente rica de polifenoles que pueden ser utilizados como ingredientes alimentarios funcionales, agentes antimicrobianos o como antioxidantes (Berardini et al. 2004). El mango posee una gran cantidad de compuestos polifenólicos distintos en términos de actividad antioxidantes que son: mangiferina, catequina, quercetina, kaempferol, ramnetina, antocianinas, ácido gálico, ácido elágico, galato de propilo, galato de metilo, ácido benzoico y ácido protocatético, entre otros, cuya presencia varía de acuerdo a la parte de la fruta, ya sea en la piel, pulpa, hojas, semillas o flor (Masibo y He 2008). Los subproductos de mango, compuestos por piel y pulpa, contienen 546 mg de ácido gálico en 100 g de subproductos en base seca (Martínez et al. 2012).

2.8 Extracción de compuestos fenólicos

La extracción es el paso inicial en el aislamiento de agentes bioactivos que se encuentran en el material vegetal. El objetivo es obtener la máxima concentración de compuestos bioactivos importantes y la mayor actividad antioxidante de estos (Spigno citado por Musa et al. 2011). La extracción está influenciada por el tipo de solvente que se utilice, relación solvente – material, nivel de pH, tiempo de extracción, naturaleza de los compuestos, técnica de extracción y presencia de sustancias interferentes (Chirinos et al. 2007).

Existen diferentes técnicas de extracción (Conde 2009):

- Extracción líquido-líquido
- Extracción sólido-líquido
- Extracción en soxhlet
- Extracción con fluidos supercríticos
- Extracción asistida por ultrasonidos
- Extracción asistida por microondas
- Extracción acelerada con disolventes

Extracción sólido-líquido: La extracción de muestras sólidas con solventes es el método más utilizado en la separación de compuestos antioxidantes a partir de residuos sólidos. Estos residuos deben extraerse con solventes orgánicos y eliminar posteriormente dicho solvente para obtener un extracto concentrado (Conde 2009).

2.9 Hidrólisis

En los alimentos, los compuestos fenólicos habitualmente se presentan conjugados con moléculas de azúcar como glucosa, galactosa, ramnosa, xilosa, arabinosa, manosa, fructosa o los ácidos glucurónico y galacturónico (Duthie et al. 2003).

La hidrólisis ácida es un proceso químico que emplea catalizadores ácidos para transformar las cadenas de polisacáridos en sus monómeros elementales (azúcares fermentables o reductores). El grado de degradación de las cadenas de polisacáridos depende de la concentración del ácido, la temperatura y el tiempo de hidrólisis (Ferrer citado por Domínguez Domínguez et al. 2011).

2.10 Inflamación

La inflamación es un mecanismo de defensa del huésped normal, que lo protege de infecciones y otras lesiones, además ayuda a restaurar la homeostasis en los sitios dañados o infectados; se caracteriza por enrojecimiento, hinchazón, calor y dolor. Normalmente cuando una respuesta inflamatoria se produce, se encuentra bien regulada a fin de no causar daños graves en el huésped, es auto-limitada y se resuelve rápidamente (Calder 2009).

La inflamación crónica es un factor importante en el origen y evolución de una variedad de enfermedades como: cardiovasculares, cáncer, diabetes, osteoporosis, artritis, Alzheimer y enfermedades auto-inmunes. Además existen molestias diarias menos severas como: dolor crónico, depresión, pérdida de memoria, deterioro cognitivo general y fatiga muscular general que parecen estar relacionadas de alguna manera a un estado inflamatorio subyacente (Chaudhari 2011).

2.11 Efecto antiinflamatorio

Las prostaglandinas (PG) son mediadores lipídicos que juegan roles importantes en procesos fisiológicos y fisiopatológicos incluyendo la inflamación. La producción de la PG comienza con la liberación de ácido araquidónico a partir de fosfolípidos de membrana, en esta reacción, el ácido araquidónico es convertido a PG por acción de la ciclooxigenasa (COX). La inhibición de la actividad de la enzima COX es el mecanismo por el cual los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) ejercen su acción analgésica, antipirética, antiinflamatoria y efectos antitrombóticos, como consecuencia se inhibe la formación de PG (Lee et al. 2003; Alberto et al. 2007).

Pernía et al. (2004) observaron que el efecto antiinflamatorio se encuentra relacionado con las propiedades antioxidantes de los polifenoles contenidos en las frutas y vegetales.

3 OBJETIVOS E HIPÓTESIS

3.1 Objetivo general

Conocer el efecto de la hidrólisis ácida en el rendimiento de extracción de antioxidantes y antiinflamatorios.

3.2 Objetivo específico

Comparar la acción de los ácidos sobre el nivel de extracción de compuestos con potencial antioxidante y antiinflamatorio.

3.3 Hipótesis nula

El ácido utilizado para la hidrólisis no tiene efecto sobre la concentración de compuestos fenólicos extraídos.

4 MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Muestras

Los subproductos de mango (variedad Tommy Atkins y Haden) y guayaba (variedad Red), utilizados como materia prima, se obtuvieron de la empresa Agroficial S.A de la ciudad de Guayaquil. Los subproductos corresponden a la piel y pulpa adherida para el mango, y la piel, pulpa y semilla adheridas para la guayaba.

Estos subproductos fueron sometidos a un proceso de deshidratación hasta una humedad inferior al 10%, mediante aire caliente usando una temperatura entre 55 a 60°C por 48 horas en el caso del mango y de 45 a 50°C por 36 horas en el caso de la guayaba, para este propósito se utilizó un secador de bandejas Ecuapack. Posteriormente se trituraron utilizando un molino vibratorio de discos Retsch a fin de obtener partículas más pequeñas, y se tamizaron con la ayuda de un juego de tamices Analysensieb (modelo DIN 4188) hasta conseguir un tamaño de partícula de entre 125 y 250 μm (Pérez - Jiménez y Saura - Calixto 2007). Finalmente se almacenaron en bolsas plásticas a - 20°C (Kong et al. 2010b) hasta su posterior uso.

4.2 Reactivos

Etanol ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$), ácido cítrico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$), metanol (CH_4O), provenientes de la casa comercial Panreac. Ácido clorhídrico (HCl), Folin-Ciocalteu, ácido gálico ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$), 2, 4, 6- tri - (2-piridil-s-triazina) TPTZ ($\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_6$), 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina - 6 - ácido sulfónico) sal de diamonio (ABTS), 2,2 difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), ácido sulfúrico (H_2SO_4), adquiridos en Sigma – Aldrich. Ácido acético ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$), de la casa comercial Fisher Scientific. Carbonato de sodio (Na_2CO_3), acetato de sodio trihidratado ($\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), cloruro férrico hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), persulfato de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), fenol ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$), procedentes de la casa comercial Merck. Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico (trolox), adquiridos en Aldrich Chemistry. Glucosa ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), proveniente de Mallinckrodt Chemicals. Kit LISA para la determinación de antiinflamatorios, de la casa comercial Cayman Chemical

4.3 Equipos usados

Balanza analítica Ohaus (modelo Analytical Plus), molino vibratorio de discos Retsch, juego de tamices Analysensieb (modelo DIN 4188), secador de bandejas Ecuapack, pH-metro

Mettler Toledo (modelo Seven Easy), baño maría fabricación nacional, agitador Kika (modelo RO 15), centrífuga Dynac (modelo 420101), estufa Memmert (modelo SNB 400), rotavapor Buchi (modelo R – 200), baño de ultrasonido Fisher Scientific (modelo FS20D), liofilizador Labconco (modelo 7754047), espectrofotómetro visible Jenway (modelo 6400), espectrofotómetro Tecan (modelo Sunrise).

4.4 Método experimental

4.4.1 Extracción de compuestos con actividad antioxidante y antiinflamatoria

Para iniciar la extracción de estos compuestos, se pesó 2 g de muestra previamente tratada y se sometió a un proceso de maceración dinámica (Fotografía 3) con etanol al 57% (Makris et al. 2007) en una relación (w:v) 1:50 (Prasad et al. 2009) regulando a un pH de 2 (Kong et al. 2010a) con diferentes ácidos como: clorhídrico, acético y cítrico (adicionalmente se trabajó un blanco al cual no se le adicionó ácido). La temperatura y tiempo de extracción utilizados para el mango y la guayaba fueron 70°C por 6 horas y 60°C por 18 horas, respectivamente (Jumbo Sarango 2013; Solórzano Apolo 2013).



Fotografía 3. Proceso de maceración dinámica

Posteriormente la solución se centrifugó por 30 minutos a 1100 rpm en la centrífuga Dynac (modelo 420101) separándose la parte sólida de la parte líquida. La parte sólida se secó en la estufa Memmert (modelo SNB 400) y pesó en la balanza analítica Ohaus (modelo Analytical Plus). El sobrenadante fue llevado al rotavapor

Buchi (modelo R – 200) a 60°C (Pérez - Jiménez y Saura - Calixto 2007) a fin de eliminar el etanol por evaporación al vacío (Fotografía 4). Seguidamente la solución acuosa se liofilizó a - 60°C y 0.12 mbar con la ayuda del liofilizador Labconco (modelo 7754047) y almacenó a -20°C (Kong et al. 2010b) hasta el posterior análisis de antioxidantes, fenoles totales, antiinflamatorios y carbohidratos totales (Ver Anexo A 1).



Fotografía 4. Eliminación del solvente por evaporación al vacío

4.4.2 Purificación de polifenoles por adsorción y desorción en columna C18

La purificación se realizó de acuerdo al procedimiento descrito por Ramírez et al. (2004), se pesaron 150 mg del extracto seco para suspenderlos en 40 mL de ácido acético diluido (2.5% v/v) y se purificaron (Fotografía 5) utilizando cartuchos Sep-Pak C18 (5 g) Waters. Los cartuchos se activaron adicionando 20 mL de metanol y luego se equilibraron con 40 mL de ácido acético (2.5% v/v). A continuación la muestra se eluyó y el cartucho se lavó con 80 mL de ácido acético (2.5% v/v) a fin de eliminar los azúcares. Los polifenoles se eluyeron con 20 mL de metanol. El eluido se concentró, liofilizó y almacenó a -20°C hasta su posterior análisis de fenoles totales, antioxidantes (ABTS, DPPH, FRAP), antiinflamatorios y carbohidratos (Ver Anexo A 2).



Fotografía 5. Purificación de polifenoles

4.4.3 Determinación de fenoles totales

Para la determinación del contenido de fenoles totales se empleó el método de Folin - Ciocalteu, con modificaciones descritas por Thaipong et al. (2006).

Se tomaron y mezclaron 150 μL de la muestra previamente diluida (1 mg/mL) con 2400 μL de agua destilada y 150 μL de Folin-Ciocalteu 0.25 N. Esta mezcla se agitó durante cinco minutos y se dejó reaccionar por 3 minutos en la oscuridad, luego se adicionó 300 μL de carbonato de sodio 1N y se volvió a mezclar. Se dejó reposar la solución a temperatura ambiente protegida de la luz por dos horas. Empleando un espectrofotómetro visible Jenway (modelo 6400) se midió la absorbancia a 725 nm. Además se empleó una curva estándar de ácido gálico y los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico (GAE) por cada 100 g de muestra seca (mg GAE/100 g base seca) (Ver Anexo A 3). Para la preparación de la curva estándar se pesaron 50 mg de ácido gálico y aforaron a 25 mL de metanol. Se tomaron alícuotas de 50, 100, 200, 300, 400 y 500 μL (correspondientes a 10, 20, 40, 60, 80 y 100 ppm), y aforó a 10 mL con MeOH. De cada alícuota se tomó 150 μL y se siguió el mismo procedimiento descrito anteriormente.

4.4.4 Determinación de actividad antioxidante

4.4.4.1 ABTS.

Para la determinación de la actividad antioxidante evaluada mediante ABTS, se siguió el método descrito por Arnao et al. (2001) con modificaciones descritas por Thaipong et al. (2006).

Para la preparación de la solución patrón se pesaron por separado las soluciones de ABTS y persulfato de potasio. Se pesaron 101.5 mg de ABTS y se aforó a 25 mL con agua destilada. También se pesaron 17.57 mg de persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$) y aforaron a 25 mL con agua destilada. Seguidamente se mezclaron ambas soluciones en cantidades iguales y se dejó reaccionar por 12 horas bajo oscuridad y a temperatura ambiente. Para preparar la solución de trabajo se tomó 1 mL de la solución patrón más 60 mL de metanol hasta obtener una lectura en absorbancia de 1.1 ± 0.02 unidades a una longitud de onda de 734 nm (Ver Anexo A 4). Para analizar las muestras se tomaron 150 μ L (1 mg/mL) de cada extracto (1 mg/mL) y se les adicionó 2850 μ L de la solución de trabajo, se dejó reaccionar por dos horas en la oscuridad y finalmente se midió la absorbancia con una longitud de onda de 734 nm. Para la preparación de la curva estándar se pesaron 25 mg de trolox y aforaron a 100 mL con metanol. De esta dilución se tomaron alícuotas de 0.25, 1.5, 3, 4.5, 6, y 8 mL (25, 150, 300, 450, 600 y 800 μ mol trolox) y aforaron a 10 mL con metanol. En la lectura se siguió el mismo procedimiento que las muestras. Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de trolox por gramo de muestra (μ mol TE/g de muestra).

4.4.4.2 DPPH.

Este método está basado en lo descrito por Brand – Williams et al. (1995) y modificado por Thaipong et al. (2006).

Para preparar la solución patrón se pesó 24 mg de DPPH, se disolvió en 100 mL con metanol. Para la solución de trabajo se tomó 10 mL de la solución patrón más 45 mL de metanol y se ajustó hasta obtener una lectura en absorbancia de 1.1 ± 0.02 unidades a una longitud de onda de 515 nm. Para analizar las muestras se tomaron 150 μ L (1 mg/mL) del extracto más 2850 μ L de la solución de trabajo (solución DPPH) y se dejó reaccionar 24 horas protegido de la luz para finalmente leer a 515 nm (Ver Anexo A 5). La curva estándar se preparó de igual manera que en el método

ABTS y se dejó reaccionar de forma igual a la muestra. Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de trolox por gramo de muestra ($\mu\text{mol TE/ g}$ de muestra).

4.4.4.3 FRAP.

Para este método se siguió el procedimiento descrito por Benzie y Strain (1996). Se preparó la solución de trabajo mediante la mezcla de 25 mL de buffer acetato 300 mM (3.1 g de acetato de sodio y 16 mL de ácido acético, aforados a 1000 mL) más 2.5 mL de TPTZ 10 mM en HCl 40 mM y 2.5 mL de cloruro férrico hexahidratado 20 mM. Una vez mezclada la solución de trabajo se calentó a 37°C hasta que los componentes se encuentren bien diluidos. A continuación, para analizar las muestras se tomaron 150 μL (1 mg/mL) del extracto (1 mg/mL) más 2850 μL de la solución FRAP y se dejó reaccionar 30 minutos protegido de la luz para finalmente leer a 593 nm (Ver Anexo A 6). La curva estándar se preparó de igual manera que en el método ABTS y se dejó reaccionar como la muestra. Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de trolox por gramo de muestra ($\mu\text{mol TE/ g}$ de muestra).

4.4.5 Determinación de carbohidratos

En la determinación de los carbohidratos totales se siguió el método fenol - ácido sulfúrico, descrito por Dubois et al. (2002). Se tomaron 200 μL de la muestra diluida (0 – 100 μg glucosa / 2 mL), se adicionaron 50 μL de fenol al 80 % y se agitó. Se agregaron rápidamente 5 mL de ácido sulfúrico al 98 % y se agitó nuevamente. Se dejó reposar por 10 minutos a temperatura ambiente y otros 10 minutos a 25 °C y luego se agitó. Finalmente se leyó a una absorbancia de 490 nm. Para la recta de calibración se pesaron 50 mg de glucosa y aforó a 500 mL de agua destilada, se tomaron alícuotas de 0.2, 0.4, 0.6, 0.1 y 1 mL (20, 40, 60, 80 y 100 μg glucosa / 2 mL) y se aforó a 2 mL de agua destilada. A cada alícuota se le adicionó 50 μL de fenol al 80 % y se siguió el mismo procedimiento que la muestra (Ver Anexo A 7). Los resultados se expresaron como gramos equivalentes de glucosa por 100 gramos de muestra (g EGI / 100 g de muestra).

4.4.6 Determinación de la actividad antiinflamatoria

Para la determinación de la actividad antiinflamatoria se utilizó el Kit LISA (Cayman Chemical) (Sone et al. 2011). Este método se basa en la inhibición de la enzima lipoxigenasa. El buffer de ensayo se diluyó diez veces utilizando agua de grado HPLC. El cromógeno se preparó mezclando volúmenes iguales del reactivo 1 y del reactivo 2 (nombres propios del kit). Para preparar la lipoxigenasa se transfirieron 10 μL de esta enzima a otro vial y se diluyó con 990 μL de buffer de ensayo. Además se preparó un sustrato mezclando 25 μL de ácido araquidónico más 25 μL de hidróxido de potasio y se diluyó con 950 μL de agua grado HPLC. En el desarrollo del método se utilizó la placa de pocillos propia del kit (96 platos), un pocillo funcionó como blanco (100 μL de buffer de ensayo), un pocillo como control positivo (90 μL de estándar del 15-LOX más 10 μL del buffer de ensayo) y otro como 100 % de actividad inicial (90 μL del 15-LOX más 10 μL del solvente usado, metanol). En los pocillos restantes se colocaron 90 μL del 15-LOX más 10 μL de las muestras. Se inició la reacción mediante la adición de 10 μL del sustrato a todos los pocillos y se agitó por 5 minutos fuera del equipo. Para detener la catálisis enzimática se añadieron 100 μL de cromógeno a cada pocillo y se agitó nuevamente durante 5 minutos dentro del equipo. Finalmente se midió (Fotografía 6) la absorbancia a 492 nm en un espectrofotómetro Tecan (modelo Sunrise) (Ver Anexo A 8). Los resultados se expresaron como actividad de la lipoxigenasa en micromoles por minuto y gramo de muestra ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ de muestra).



Fotografía 6. Espectrofotómetro para placa con pocillos

4.5 Análisis estadístico

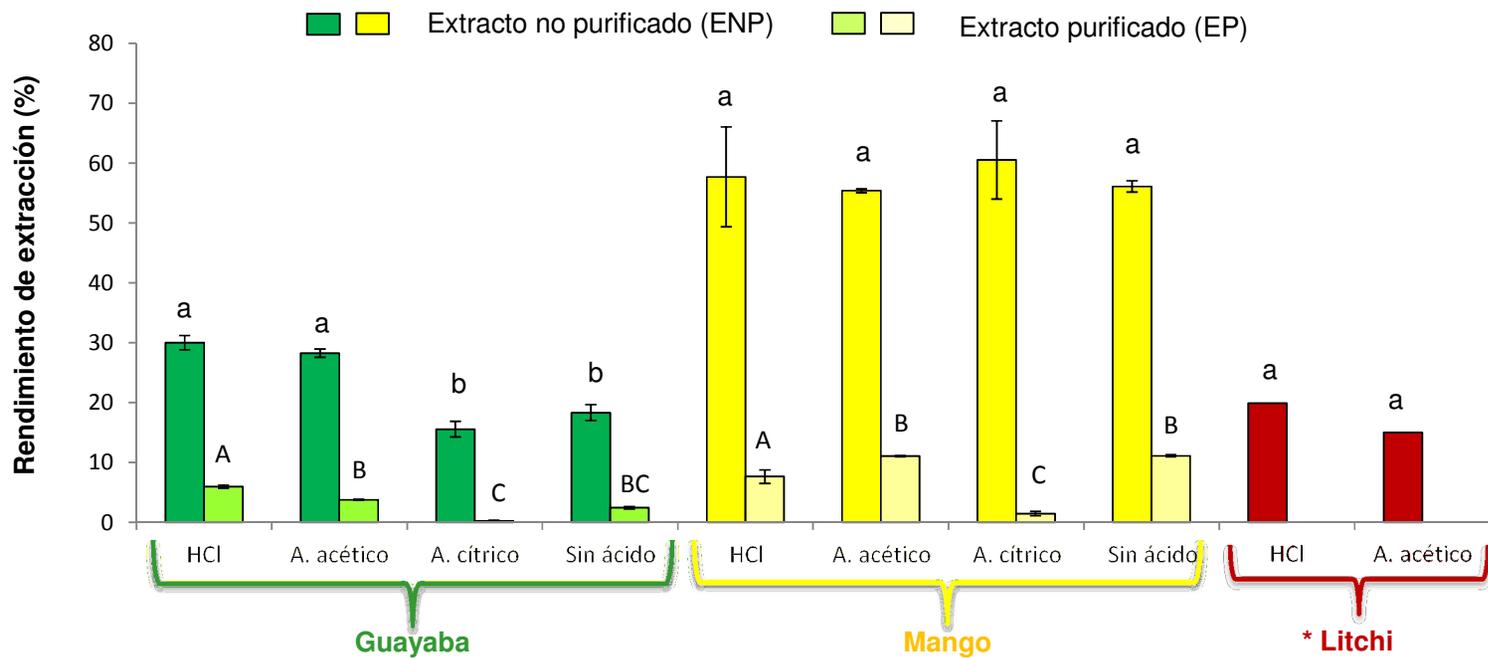
Los resultados de fenoles totales, actividad antioxidante (ABTS, DPPH, FRAP), actividad antiinflamatoria y carbohidratos totales, se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia del 95 % ($P < 0.05$) y un análisis de comparación múltiple, Test de Tukey. Se empleó el programa estadístico Minitab 16 para Windows con licencia educativa. Cada análisis se realizó por triplicado y el resultado se expresó como promedio \pm desviación estándar.

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Rendimiento de extracción antes y después de la purificación

La Gráfica 1 muestra los resultados de rendimiento de extracción de los subproductos de guayaba y mango expresados en porcentaje (w/w) para los diferentes tratamientos ácidos. La hidrólisis ácida permitió mejorar el rendimiento de extracción ($p < 0.05$) para el extracto de guayaba, pasando del 18 % (w/w) en el tratamiento sin ácido hasta el 28 – 30 % a través de acidificación con ácido acético y ácido clorhídrico; sin embargo, la acidificación con ácido cítrico no mostró mejora significativa ($p > 0.05$), obteniendo solo 16 % de rendimiento de extracción. Similar efecto de la hidrólisis ácida ha sido reportado por Prasad et al. (2009), en la extracción a partir de Litchi, en donde se utiliza como solvente etanol al 85 % acidificado con ácido clorhídrico y ácido acético en una relación 1:50 (w/v), reportando que el uso de estos dos ácidos mejora el rendimiento de extracción sin diferencias significativas entre ellos. Por otra parte el rendimiento de extracción en subproductos de mango no mostró mejoramiento ($p > 0.05$) con la hidrólisis ácida frente al tratamiento sin ácido. El rendimiento de extracción en mango estuvo entre 55 al 61 %.

En la Gráfica 1 también se muestran los resultados de rendimiento luego de la purificación en columna C18. Al comparar los resultados de los extractos no purificados de guayaba con aquellos obtenidos luego de la purificación, se observa que el tratamiento con ácido clorhídrico continúa presentando el valor más alto de rendimiento ($p < 0.05$), seguido de los tratamientos con ácido acético, sin ácido y con ácido cítrico (6, 4, 2 y 0.3 % respectivamente). Para el mango, después del proceso de purificación, los tratamientos con ácido acético y sin ácido son los que presentan el rendimiento de extracción más alto, ambos con el 11 %, los cuales difieren de la hidrólisis con ácido clorhídrico (8 %) y ácido cítrico, el cual presenta el rendimiento de extracción más bajo, con el 1 %. La disminución de la cantidad de extracto obtenido luego del proceso de purificación en promedio para guayaba fue del 88 % y para mango del 86 %, estos valores son cercanos a los reportados por Shibano et al. (2008), en donde el rendimiento de extracción luego de purificar mediante columna sep-pak C18, disminuye en un 81 %.



Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas para cada extracto no purificado y letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas para cada extracto purificado

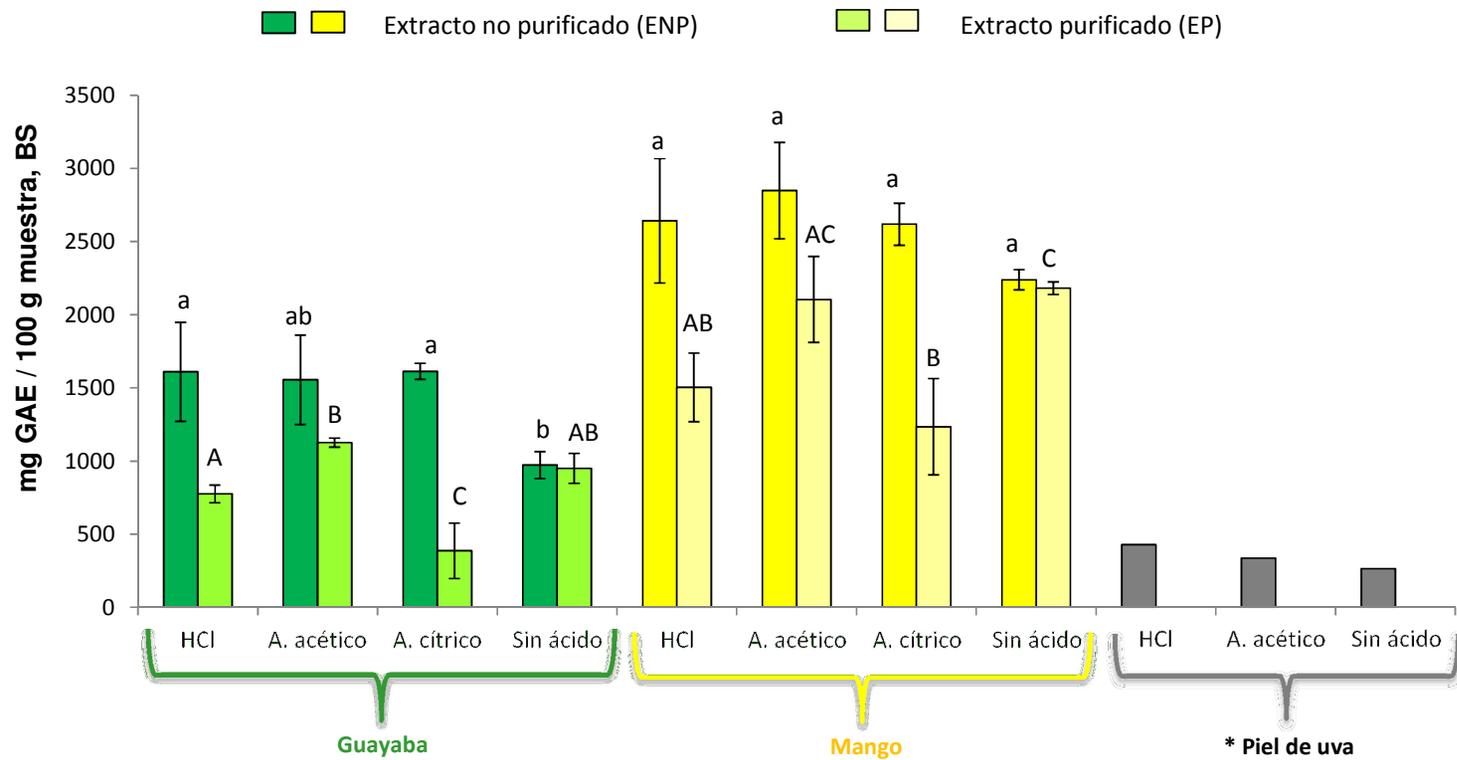
Gráfica 1. Rendimiento de extracción guayaba y mango antes y después de la purificación

Fuente: * Prasad et al. (2009)

5.2 Fenoles totales antes y después de la purificación

El contenido de fenoles totales del tratamiento sin ácido para guayaba y para mango (Gráfica 2) fue de 973 y 2239 mg GAE/100 g muestra BS (311 y 468 mg GAE/100 g muestra BH) respectivamente. Si estos resultados se comparan con los reportados por Martínez et al. (2012) de 39 y 283 mg GAE/100 g muestra BH en subproductos de guayaba y mango respectivamente, el aumento en la concentración de compuestos fenólicos extraídos puede atribuirse al empleo de la mezcla etanol-agua (57 %) como solvente de extracción en lugar de etanol (100 %), en este sentido Musa et al. (2011) y Dorta et al. (2012) indican que los mejores solventes de extracción de compuestos fenólicos a partir de materiales vegetales son mezclas de agua con metanol, etanol o acetona.

Para los tratamientos acidificados se evidenció que existe una mayor extracción de fenoles totales debido a que la hidrólisis ácida permite liberar los compuestos fenólicos que se encuentran entrecruzados con los polisacáridos de la pared celular (Naczki y Shahidi 2004), similar mejoramiento de extracción fue mencionado por Kong et al. (2010a). Sin embargo los diferentes tratamientos de hidrólisis se comportaron de manera distinta para los dos subproductos. Para guayaba se mejoró la extracción de fenoles totales ($p < 0.05$) con los tratamientos de hidrólisis con ácido clorhídrico 1610.3 mg GAE/100 g de muestra BS, ácido acético 1555 mg GAE/100 g de muestra BS y ácido cítrico 1613 mg GAE/100 g de muestra BS, frente al tratamiento sin ácido 973 mg GAE/100 g de muestra BS. Estudios previos también han reportado el mejoramiento de extracción de fenoles en materias vegetales mediante la acidificación del solvente de extracción, Makris et al. (2007) estudiaron la extracción de subproductos de piel de uva, con etanol al 57 %, obteniendo un incremento en la extracción de compuestos fenólicos desde 265 mg GAE/100 g muestra BS para la solución sin ácido hasta 337 y 429 mg GAE/100 g muestra BS para la solución acidificada con ácido acético (1 %, pH 3.28) y ácido clorhídrico (0.1 %, pH 1.5) respectivamente, por otro lado Kong et al. (2010a) obtuvieron una mayor concentración de fenoles al acidificar el solvente de extracción (etanol 80 %) hasta un pH de 2.



Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas para cada extracto no purificado y letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas para cada extracto purificado

Gráfica 2. Fenoles totales en guayaba y mango antes y después de la purificación

Fuente: * Makris et al. (2007)

Se observó que entre los ácidos empleados para los extractos de subproductos de guayaba no existió diferencia ($p>0.05$) en la concentración de fenoles totales, es decir que el mejoramiento de extracción responde a la acidificación del medio de extracción más no al ácido empleado para la acidificación, así como lo mencionaron Makris et al. (2007).

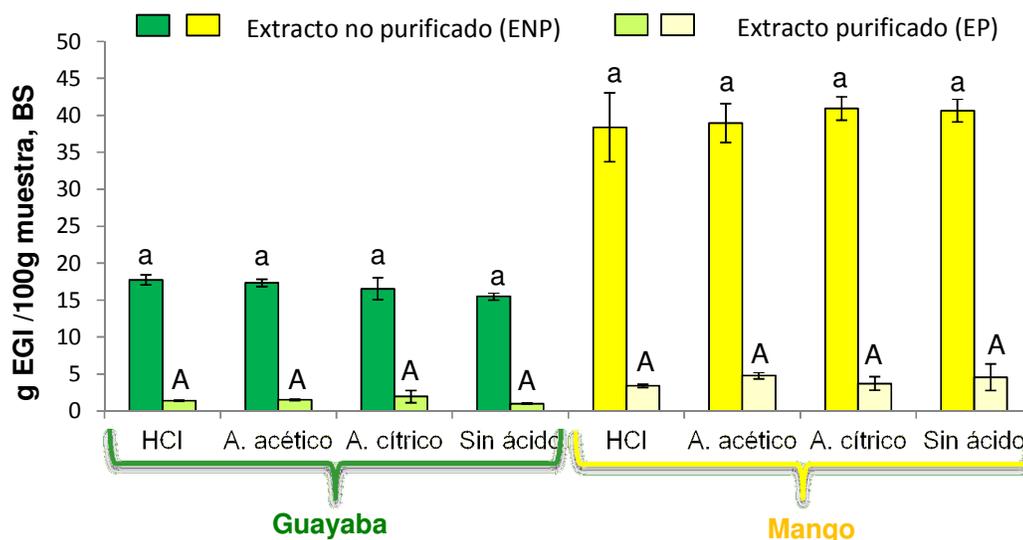
Sin embargo, para los subproductos de mango el contenido de fenoles totales no evidenció un incremento frente al tratamiento sin ácido ($p>0.05$), es decir que la hidrólisis ácida no mejora la extracción de compuestos fenólicos en la piel de mango (Gráfica 2). No obstante, los resultados de contenido de fenoles totales y de rendimiento de extracción fueron mayores en comparación a los obtenidos para guayaba, esto último puede deberse a que se extrae mayor cantidad de azúcar y a la diferencia entre frutas.

La purificación utilizando la columna C18 mostró una reducción en el contenido de fenoles totales para los extractos de los dos subproductos. Para el subproducto de guayaba se recuperó el 98 % (950 mg GAE/100 g de muestra BS) del contenido inicial de fenoles totales para el tratamiento sin ácido, pero se recuperó únicamente del 72, 48 y 24 % del contenido inicial, para los tratamientos con ácido acético, clorhídrico y cítrico respectivamente. En este caso, a pesar del incremento en la extracción de fenoles totales en la hidrólisis ácida para los subproductos no purificados, la purificación mediante columna C18 no permitió recuperar una cantidad mayor a la obtenida en el tratamiento sin ácido. Similar tendencia se observó en la purificación de los extractos del subproducto de mango, encontrando que la recuperación de fenoles en el tratamiento sin ácido fue del 97 % del contenido inicial (2181 mg GAE/100 g de muestra BS), mientras que para los tratamientos con ácido la recuperación de fenoles totales fue menor, siendo del 73 % en ácido acético, 57 % en ácido clorhídrico y 47 % en ácido cítrico, respecto al contenido inicial de fenoles totales. El análisis estadístico mostró que los tratamientos con mayor contenido de fenoles totales ($p<0.05$) corresponden a la extracción-purificación con ácido acético y sin ácido para los dos subproductos. Cabe mencionar que para la eliminación del ácido acético la metodología fue modificada, siendo necesario adicionar 20 mL de agua desionizada por dos ocasiones y rotaevaporar durante aproximadamente 30 minutos.

5.3 Carbohidratos totales antes y después de la purificación

La Gráfica 3 resume los resultados de carbohidratos totales para los extractos no purificados y purificados de guayaba y mango, expresados como g equivalentes de glucosa (EGI) / 100 g de extracto en BS. Para ambos subproductos, los tratamientos de hidrólisis no mostraron efecto sobre la cantidad de carbohidratos extraídos ($p>0.05$) al comparar con el tratamiento

sin ácido. Se puede observar que los extractos de subproductos de mango poseen mayor cantidad de carbohidratos totales (que van desde 38 a 41 g EGI /100 g extracto BS), que los extractos de subproductos de guayaba (que van desde 16 a 18 g EGI /100 g muestra BS). Esto puede deberse a que el subproducto de mango tiene mayor contenido de azúcares como lo reporta Ajila et al. (2007a) en piel de mango con 28.2 %, mientras que el subproducto de guayaba contiene valores de 23.72 g/100 g de muestra en BS según Kubola et al. (2011), esto también se evidenció en la consistencia de los extractos obtenidos, donde el extracto de mango se mostró con mayor pegajosidad que el extracto de guayaba.



Letras minúsculas iguales indican que no existen diferencias significativas para cada extracto no purificado y letras mayúsculas iguales indican que no existen diferencias significativas para cada extracto purificado

Gráfica 3. Carbohidratos totales en guayaba y mango antes y después de la purificación

Luego de la purificación el contenido remanente de carbohidratos en la fracción de polifenoles, es decir en el extracto purificado, no presentó diferencias ($p < 0.05$). El contenido de carbohidratos en los extractos purificados estuvo entre 1.02 a 1.96 g EGI /100 g muestra BS para subproducto de guayaba y entre 3.41 a 4.79 g EGI /100 g muestra BS para subproducto de mango. Con la purificación se eliminó aproximadamente el 90 % de carbohidratos en ambos subproductos. La reducción de carbohidratos permitió la

concentración de polifenoles y sobretodo alcanzar extractos con mejores características ya que se reduce notoriamente su pegajosidad (Ver Anexo B 1).

5.4 Actividad antioxidante antes y después de la purificación

En la Tabla 1 se presentan los resultados de la actividad antioxidante de los subproductos guayaba y mango, medidos por ABTS, DPPH y FRAP para los distintos tratamientos ácidos. El efecto de la hidrólisis sobre la actividad antioxidante depende del método empleado para su cuantificación:

ABTS: Para este método según Pérez-Jiménez y Saura-Calixto (2006) al acidificar el solvente, la actividad antioxidante disminuye 39 %, sin embargo estudios realizados por Maisuthisakul y Gordon (2009) en semilla de mango, muestran que con hidrólisis ácida, los valores de actividad antioxidante aumentan 24 %, lo cual indica que el resultado obtenido depende de la matriz que se esté utilizando. En la presente investigación se encontró que en los dos subproductos no purificados, los tratamientos de hidrólisis ácida no aumentaron la actividad antioxidante medida por ABTS. Para el subproducto de guayaba no existió diferencia significativa de la actividad antioxidante entre los diferentes tratamientos utilizados, mientras que para el subproducto de mango, el tratamiento con ácido acético disminuyó significativamente el valor de actividad antioxidante.

Con el proceso de purificación la actividad antioxidante medida por ABTS sufrió una disminución significativa comparada con los valores obtenidos para el extracto sin purificar de subproducto de guayaba en todos los tratamientos, en cambio, para los extractos de subproductos de mango esta disminución se vió reflejada en los tratamientos con ácido clorhídrico y sin ácido, ya que los tratamientos con ácido acético y cítrico no mostraron diferencias significativas con sus respectivos valores en los extractos sin purificar.

Los resultados de actividad antioxidante de los extractos purificados de subproducto de guayaba medida por ABTS, mostraron que el tratamiento con ácido acético tuvo efecto de mejoramiento de la actividad antioxidante, mientras que con el ácido cítrico esta disminuyó.

En los subproductos de mango, los resultados obtenidos luego de la purificación del extracto medidos por ABTS mostraron que el tratamiento de hidrólisis ácida no tuvo efecto sobre el mejoramiento de la actividad antioxidante. Al comparar los diferentes ácidos, el extracto purificado sin ácido y el purificado con ácido acético (279 y 258 $\mu\text{mol TE / g}$ de muestra en BS respectivamente) mostraron mayor actividad antioxidante ($p < 0.05$) frente al ácido clorhídrico y ácido cítrico (149 y 155 $\mu\text{mol TE / g}$ de muestra en BS respectivamente).

Tabla 1. Actividad antioxidante de los extractos de subproductos de guayaba y mango antes y después de la purificación

	Muestra	ABTS ($\mu\text{mol TE/g muestra BS}$)		DPPH ($\mu\text{mol TE/g muestra BS}$)		FRAP ($\mu\text{mol TE/g muestra BS}$)	
		ENP	EP	ENP	EP	ENP	EP
Subproductos de Guayaba	HCl	132 \pm 8 ^a	67 \pm 1 ^{ac}	215 \pm 23 ^a	76 \pm 15 ^a	151 \pm 8 ^a	49 \pm 3 ^a
	A. A	136 \pm 16 ^a	87 \pm 3 ^a	181 \pm 15 ^{ab}	112 \pm 2 ^b	113 \pm 13 ^b	72 \pm 4 ^b
	A. C	106 \pm 19 ^a	38 \pm 19 ^b	88 \pm 32 ^c	36 \pm 18 ^c	39 \pm 4 ^c	27 \pm 13 ^c
	S. A	137 \pm 26 ^a	60 \pm 4 ^{bc}	131 \pm 9 ^{bc}	75 \pm 6 ^a	84 \pm 10 ^d	65 \pm 6 ^{ab}
Subproductos de Mango	HCl	269 \pm 44 ^a	149 \pm 22 ^a	429 \pm 65 ^a	175 \pm 28 ^a	216 \pm 33 ^{ab}	97 \pm 7 ^a
	A. A	268 \pm 16 ^a	258 \pm 5 ^b	279 \pm 27 ^b	328 \pm 2 ^b	201 \pm 14 ^b	157 \pm 13 ^b
	A. C	180 \pm 2 ^b	155 \pm 43 ^a	233 \pm 1 ^b	203 \pm 40 ^a	56 \pm 2 ^c	73 \pm 15 ^a
	S. A	316 \pm 8 ^a	279 \pm 5 ^b	402 \pm 14 ^a	337 \pm 3 ^b	257 \pm 9 ^a	290 \pm 24 ^c

Letras diferentes en la misma columna para cada subproducto indican diferencias significativas
 Los datos representan el valor promedio y desviación estándar de tres repeticiones

DPPH: Para el extracto antes de purificar del subproducto de guayaba, el ácido utilizado en la extracción influyó sobre la actividad antioxidante medida por DPPH, obteniéndose mejores resultados con ácido clorhídrico, esto ratifica lo indicado por Maisuthisakul y Gordon (2009) quienes al utilizar ácido clorhídrico mejoraron la actividad antioxidante en un 60 % comparado con el tratamiento sin ácido. Este aumento no se observó para el subproducto de mango, en el cual los resultados obtenidos con ácido clorhídrico y sin ácido no son significativamente diferentes (429 y 402 $\mu\text{mol TE / g}$ de muestra en BS respectivamente), similar a lo mencionado por Pérez-Jiménez y Saura-Calixto (2006) quienes indican que la acidificación del solvente no mostró mejoramiento en la actividad antioxidante. La actividad antioxidante de los tratamientos con ácido acético y cítrico para los subproductos de mango, disminuyó significativamente (279 y 233 $\mu\text{mol TE / g}$ de muestra en BS respectivamente).

El proceso de purificación causó una disminución significativa de la actividad antioxidante para los extractos de los dos subproductos medida por DPPH, ésta disminución se evidenció para todos los tratamientos, a excepción del tratamiento con ácido cítrico.

En los extractos purificados de subproductos de guayaba se obtuvo que la hidrólisis ácida mejora la actividad antioxidante únicamente para el tratamiento con ácido acético (112 $\mu\text{mol TE / g}$ de muestra en BS) ($p < 0.05$), el tratamiento con ácido clorhídrico y sin ácido no muestran diferencias significativas (76 y 75 $\mu\text{mol TE / g}$ de muestra en BS respectivamente) ($p < 0.05$) y finalmente el tratamiento con ácido cítrico es el que mostró el valor más bajo (36 $\mu\text{mol TE / g}$ de muestra en BS).

Los resultados para los extractos purificados de subproductos de mango indican que los tratamientos de hidrólisis ácida no mejoraron la actividad antioxidante, obteniéndose que el extracto purificado sin ácido y el purificado con ácido acético alcanzaron mayor actividad antioxidante (337 y 328 $\mu\text{mol TE / g}$ de muestra en BS respectivamente) ($p < 0.05$) frente al ácido cítrico y clorhídrico (203 y 175 $\mu\text{mol TE / g}$ de muestra en BS respectivamente).

FRAP: Para este método según Pérez-Jiménez y Saura-Calixto (2006) la acidificación del solvente no mostró mejoramiento de la actividad antioxidante. Hasta este punto no se ha podido localizar información donde se indique que la hidrólisis ácida aumenta la actividad antioxidante medida por esta técnica. Los extractos de subproductos no purificados de guayaba indican que el tratamiento con ácido clorhídrico (151 $\mu\text{mol TE / g}$ de muestra en BS) muestra mayor actividad antioxidante ($p < 0.05$), seguido del tratamiento con ácido acético (113 $\mu\text{mol TE / g}$ de muestra en BS), el cual a su vez presenta diferencias significativas ($p < 0.05$) con el tratamiento sin ácido (84 $\mu\text{mol TE / g}$ de muestra en BS), en

cambio con ácido cítrico la actividad antioxidante disminuyó ($p < 0.05$) ($39 \mu\text{mol TE / g}$ de muestra en BS), lo cual indica que la acidificación del solvente mejora la actividad antioxidante para los tratamientos con ácido clorhídrico y acético.

En el extracto de subproducto de mango no purificado, los tratamientos de hidrólisis ácida no mostraron mejoramiento de la actividad antioxidante, en comparación con el tratamiento sin ácido, obteniéndose los mejores valores para los tratamientos sin ácido y con ácido clorhídrico (257 y $216 \mu\text{mol TE / g}$ de muestra en BS respectivamente) seguido del tratamiento con ácido acético ($201 \mu\text{mol TE / g}$ de muestra en BS) y finalmente del tratamiento con ácido cítrico ($56 \mu\text{mol TE / g}$ de muestra en BS).

Con el proceso de purificación la actividad antioxidante disminuye significativamente para los extractos de los subproductos de guayaba medida por FRAP para todos los tratamientos a excepción del tratamiento con ácido cítrico. La misma disminución ocurre en los extractos de los subproductos de mango para los tratamientos con ácido clorhídrico y acético, ya que los tratamientos con ácido cítrico y sin ácido no disminuyeron significativamente al compararlos con los resultados sin purificar.

Para los extractos purificados de los subproductos de guayaba medidos por FRAP, se obtuvieron los mejores resultados para los tratamiento con ácido acético y sin ácido 72 y $65 \mu\text{mol TE / g}$ de muestra en BS ($p < 0.05$) seguidos del tratamiento con ácido clorhídrico $49 \mu\text{mol TE / g}$ de muestra en BS y del tratamiento con ácido cítrico $27 \mu\text{mol TE / g}$ de muestra en BS, lo cual nos indica que la acidificación del solvente no mostró mejoramiento de la actividad antioxidante. Por otro lado los mejores valores para los extractos purificados de subproductos de mango se obtuvieron para el tratamiento sin ácido ($p < 0.05$) ($290 \mu\text{mol TE / g}$ de muestra en BS) seguido por ácido acético y clorhídrico (157 y $97 \mu\text{mol TE / g}$ de muestra en BS respectivamente) y finalmente el tratamiento con ácido cítrico ($73 \mu\text{mol TE / g}$ de muestra en BS).

El proceso de purificación causa una disminución de la actividad antioxidante, la cual se ve afectada por el ácido utilizado en la hidrólisis. Con el ácido clorhídrico se obtiene una mayor disminución para los dos subproductos, lo cual se debe posiblemente a que este ácido interaccione con la columna C18 reteniendo los compuestos antioxidantes más fuertemente en ella. Se evidencia además que la disminución de la actividad antioxidante es mayor para los extractos de subproductos de guayaba si se compara con los extractos de subproductos de mango, lo cual puede deberse a que el contenido de carbohidratos es mayor en los subproductos de mango y según Pérez-Jiménez y Saura-Calixto (2006) la actividad

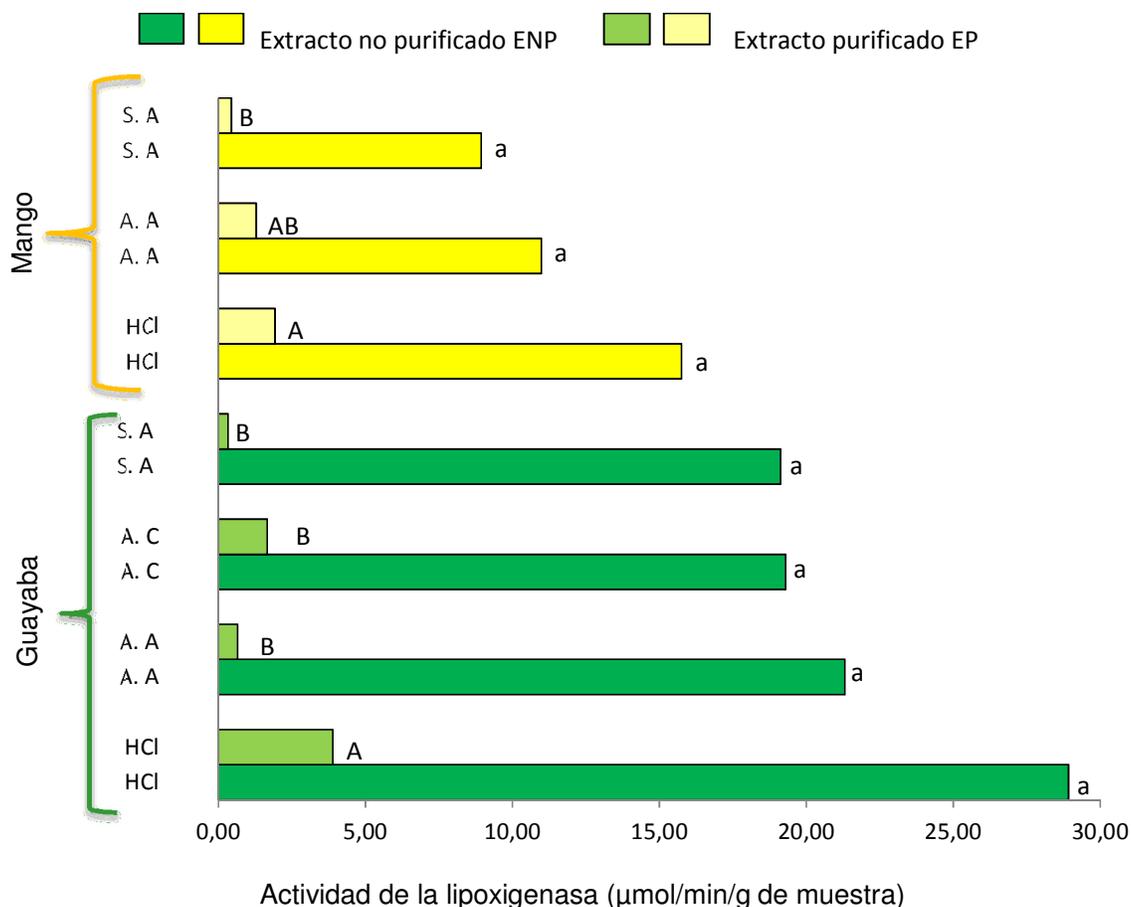
antioxidante disminuye significativamente cuando la muestra posee mayor contenido de carbohidratos, entonces, al partir de un valor menor de actividad antioxidante afectado por los carbohidratos existentes en el extracto antes de la purificación de mango, la diferencia con el valor obtenido luego de la purificación será menor.

En la Tabla 1 se puede observar que los valores de actividad antioxidante en el tratamiento con ácido acético medida por DPPH y en los tratamientos con ácido cítrico y sin ácido medida por FRAP en los extractos purificados de subproductos de mango, son superiores a los obtenidos en los extractos antes de purificar, lo cual puede deberse a interferencias causadas por los azúcares, ya que según lo observado por Pérez-Jiménez y Saura-Calixto (2006) la presencia de glucosa en la muestra disminuye la actividad antioxidante.

5.5 Actividad antiinflamatoria antes y después de la purificación

En la Gráfica 4 se presenta la actividad antiinflamatoria expresada como actividad de la lipoxigenasa de extractos de los subproductos de guayaba y mango antes y después del proceso de purificación. Valores bajos de actividad de lipoxigenasa indican mayor capacidad de inhibición de la enzima. Los diferentes tratamientos de hidrólisis ácida para ambos subproductos, tanto antes como después de la purificación no mejoran la capacidad de inhibición de la enzima. En los extractos no purificados de subproductos de guayaba se obtuvieron valores de actividad de lipoxigenasa de 29, 21, 19 y 19 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ de muestra para ácido clorhídrico, acético, cítrico y sin ácido respectivamente, en los extractos no purificados de subproductos de mango se obtuvieron valores de 16, 11 y 9 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ de muestra para ácido clorhídrico, acético, y sin ácido respectivamente. Se debe mencionar que el tratamiento con ácido cítrico para el extracto de mango antes y después de la purificación presentó la mayor actividad de lipoxigenasa y desviación estándar muy elevada, razón por lo cual no se lo incluyó en el análisis estadístico (Gutiérrez Pulido y De la Vara Salazar 2008). Luego de la purificación, la actividad de la lipoxigenasa disminuyó, lo cual indica que se incrementó la capacidad de inhibición de la enzima en los extractos purificados.

El tratamiento con ácido clorhídrico en los extractos purificados para ambos subproductos presentó los valores más altos de actividad de la lipoxigenasa, lo cual indica que la capacidad de inhibición de la enzima es menor significativamente al comparar con los otros tratamientos, excepto para el caso del ácido acético en los subproductos de mango luego de la purificación.



Letras minúsculas diferentes indican que existen diferencias significativas para cada extracto no purificado y letras mayúsculas diferentes indican que existen diferencias significativas para cada extracto purificado

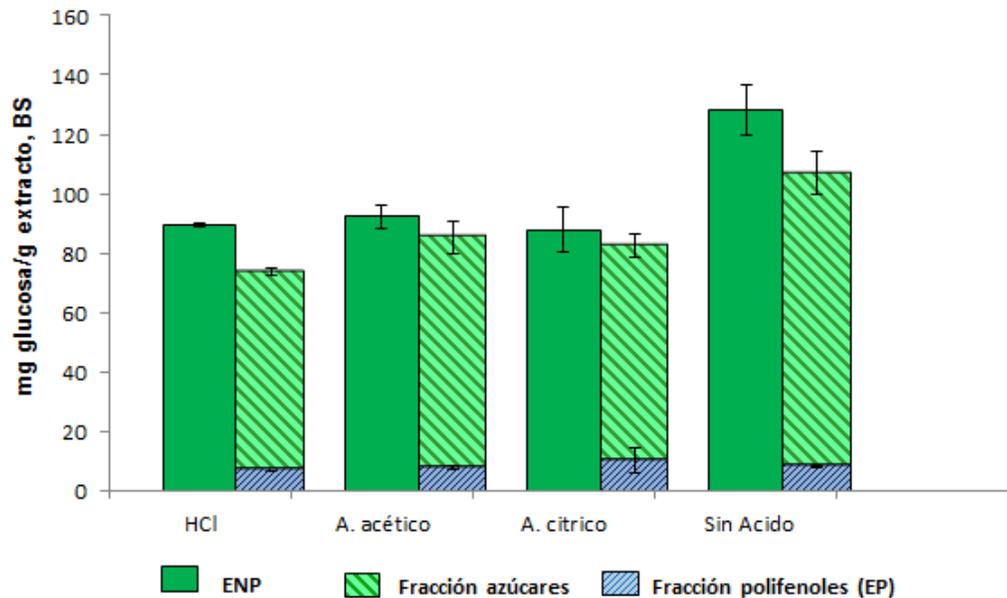
Gráfica 4. Actividad de la lipoxigenasa (µmol/min/g de muestra)

Si se calcula la actividad antiinflamatoria como porcentaje de inhibición para los tratamientos sin ácido en ambos subproductos luego de la purificación, se obtiene valores de 76 % (extracto con concentración de 83 ppm) y 87 % (extracto con concentración de 72 ppm) para guayaba y mango respectivamente, los cuales son comparables con los presentados por Sone et al. (2011) para BHT con un valor de 83 % preparado a una concentración de 500 ppm. En el tratamiento con HCl para el extracto de guayaba se obtuvo un valor negativo de -2.81 % de inhibición de lipoxigenasa, para un extracto con una concentración de 88 ppm, un

valor negativo de inhibición indica características proinflamatorias, como lo menciona Tanaka et al. (2008) para la actividad antioxidante y antiinflamatoria de plantas naturales.

5.6 Balance de materia para carbohidratos totales

En la Gráfica 5 y Gráfica 6 se muestra el balance de materia para carbohidratos totales en los extractos no purificados y purificados de guayaba y mango respectivamente expresados como mg de glucosa / g de extracto en BS. Al pasar este extracto por la columna todos estos carbohidratos se deben quedar en la fracción de azúcares, sin embargo como podemos observar en las gráficas, existe una pequeña cantidad de carbohidratos que continúa formando parte del extracto purificado, esto puede deberse al rendimiento de la columna (Michalkiewicz et al. 2008). Además podemos observar que existe un cierto porcentaje de pérdida, lo cual también se encuentra asociado al rendimiento de la columna (Michalkiewicz et al. 2008) ya que como se conoce ningún proceso es 100 % eficiente y es posible que la parte faltante de estos carbohidratos se encuentre retenida en la columna.

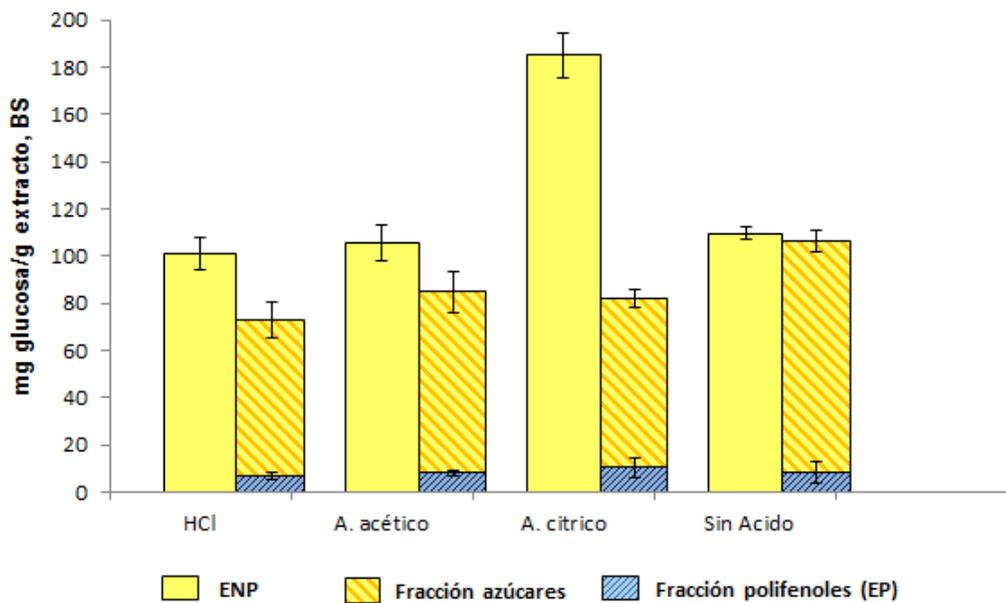


Gráfica 5. Balance de materia para carbohidratos totales en los extractos purificados y no purificados de guayaba

En los extractos de guayaba no se recuperó en el proceso de purificación el 18, 7, 7 y 16 % de carbohidratos para los tratamientos con ácido clorhídrico, ácido acético, ácido cítrico y sin ácido, respectivamente. Por otro lado en los extractos de mango se ha perdido el 34, 19, 56

y 3 % de carbohidratos para los tratamientos con ácido clorhídrico, ácido acético, ácido cítrico y sin ácido, respectivamente. El porcentaje de pérdida para los dos subproductos es diferente en cada tratamiento. Como se puede observar existe una mayor pérdida de azúcares en los subproductos de mango, esto puede deberse a que se parte de un mayor contenido de carbohidratos si comparamos con la guayaba.

Como se muestra en las gráficas, el contenido de azúcares en el extracto purificado es muy bajo (menor al 11%), lo cual puede considerarse como un indicador de que se ha conseguido obtener un extracto purificado y a su vez con mejores características físicas.

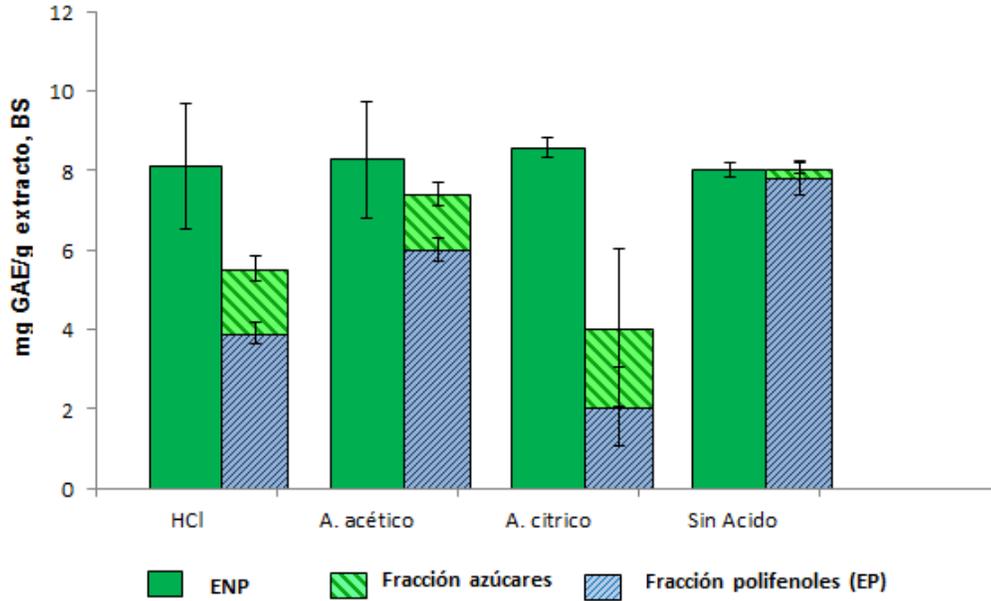


Gráfica 6. Balance de materia para carbohidratos totales en los extractos purificados y no purificados de mango

5.7 Balance de materia para fenoles totales

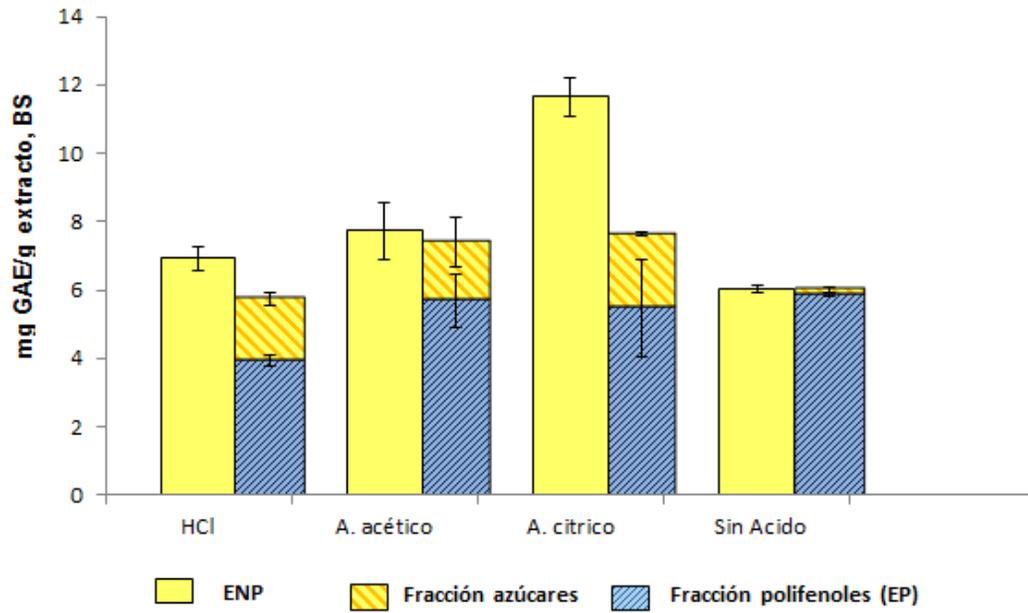
En la Gráfica 7 y Gráfica 8 se muestra el balance de materia para fenoles totales en los extractos no purificados y purificados de guayaba y mango expresados como mg GAE/g extracto en BS. En los extractos no purificados existe una cierta cantidad de polifenoles, los cuales se deben mantener en el extracto purificado, sin embargo al separar los azúcares de los polifenoles, una cierta cantidad de estos polifenoles es arrastrada con la fracción de

azúcares, lo cual se asocia al rendimiento de la columna C18 (Michalkiewicz et al. 2008). Por tal motivo una pequeña cantidad de polifenoles se pierde en el proceso de purificación.



Gráfica 7. Balance de materia para fenoles totales en los extractos purificados y no purificados de guayaba

Para los dos subproductos el tratamiento con ácido cítrico muestra el mayor porcentaje de disminución en la recuperación de fenoles totales (54 y 40 % para guayaba y mango respectivamente), seguido del tratamiento con ácido clorhídrico (26 y 17 % para guayaba y mango respectivamente) y del tratamiento con ácido acético (13 y 4 % para guayaba y mango respectivamente). Finalmente para los dos subproductos, el tratamiento sin ácido no presentó una disminución de la concentración.



Gráfica 8. Balance de materia para fenoles totales en los extractos purificados y no purificados de mango

6 CONCLUSIONES

- En los subproductos de guayaba el tratamiento con ácido clorhídrico mejoró el rendimiento de extracción en un 7 % comparado con el tratamiento sin ácido, mientras que para los subproductos de mango la hidrólisis ácida no tiene efecto sobre el rendimiento de extracción.
- La hidrólisis ácida no mejoró la extracción de compuestos fenólicos para los dos subproductos.
- En función a la actividad antioxidante la hidrólisis con ácido acético es el mejor tratamiento para el subproducto de guayaba con valores de 87, 112 y 72 $\mu\text{mol TE/g}$ muestra BS si se comparan con los resultados del tratamiento sin ácido (60, 75 y 65 $\mu\text{mol TE/g}$ muestra BS) medidos mediante las técnicas de ABTS, DPPH y FRAP respectivamente. En cuanto al extracto de subproducto de mango el tratamiento sin ácido es el que presenta los mejores resultados con valores de 279, 337 y 290 $\mu\text{mol TE/g}$ muestra BS medidos mediante las técnicas de ABTS, DPPH y FRAP respectivamente.
- La purificación permite eliminar aproximadamente el 90 % de carbohidratos totales, obteniendo extractos menos pegajosos.
- La hidrólisis ácida no mejoró la actividad antiinflamatoria, la cual se mantuvo en el valor de 19 $\mu\text{mol/min/g}$ de muestra para guayaba y 9 $\mu\text{mol/min/g}$ de muestra para mango, para el tratamiento sin ácido. Mientras que la purificación si mejoró la actividad antiinflamatoria de los extractos para todos los tratamientos.

7 RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio que optimice la separación de carbohidratos en la columna C18, para de esta manera aumentar la eficiencia de recuperación de compuestos con actividad antioxidante.
- Complementar el estudio de purificación de fenoles con un análisis de compuestos por HPLC para conocer la cantidad que se ha recuperado de cada polifenol presente en la muestra.

8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ajila, CM; Bhat, SG; Prasada Rao, UJS. 2007a. Valuable components of raw and ripe peels from two Indian mango varieties. *Food Chemistry* 102(4): 1006-1011.
- Ajila, CM; Naidu, KA; Bhat, SG; Prasada Rao, UJS. 2007b. Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. *Food Chemistry* 105(3): 982-988.
- Alberto, MR; Moreno, MIN; Zampini, IC; Isla, MI. 2007. Actividad antiinflamatoria de flavonoides naturales estructuralmente relacionados. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 6(6): 313-314.
- Arnao, MB; Cano, A; Acosta, M. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry* 73(2): 239-244.
- Avello, M; Suwalsky, M. 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)*(494): 161-172.
- Balasundram, N; Sundram, K; Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry* 99(1): 191-203.
- Barreto, J; Trevisan, M; Hull, W; Erben, G; De Brito, E; Pfundstein, B; Wurtele, G; 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.
- Benzie, IF; Strain, JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry* 239(1): 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.

- Brand - Williams, W; Cuvelier, ME; Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology* 28(1): 25-30.
- Calder, PC. 2009. Polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: New twists in an old tale. *Biochimie* 91(6): 791-795.
- 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. Tesis Doctoral. Ourense, Universidad de Vigo. 3-118.
- Cruz, JM; Domínguez, H; Parajó, JC. 2004. Assessment of the production of antioxidants from winemaking waste solids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(18): 5612–5620.
- Chaudhari, R. 2011. Restaure "El papel de los nutrientes anti-inflamatorios", *Fortitech*: 1-12.
- Chirinos, R; Rogez, H; Campos, D; Pedreschi, R; Larondelle, Y. 2007. Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón) tubers. *Separation and Purification Technology* 55(2): 217-225.
- De Araújo Sousa, BA; Targino Pinto Correia, R. 2010. Biotechnological reuse of fruit residues as a rational strategy for agro-industrial resources. *Journal of Technology Management & Innovation* 5(2): 104-112.
- Dimitrios, B. 2006. Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science & Technology* 17(9): 505-512.
- Domínguez Domínguez, MM; Alvarez-Castillo, A; Castrejón-Rosales, T; Granados Baeza, MJ; Hernández Campos, FJ; Alcalá Octaviano, VH; Tapia Picazo, JC. 2011. Estudio de la cinética de la hidrólisis ácida de bagazo de caña de azúcar sin pretratamiento para la obtención de azúcares reductores. *Revista Iberoamericana de Polímeros* 12(3): 153-159.

- 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* 77(1): C80-C88.
- Dubois, M; Gilles, KA; Hamilton, JK; Rebers, PA; Smith, F. 2002. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry* 28: 350-356.
- Duthie, GG; Gardner, PT; Kyle, JAM. 2003. Plant polyphenols: are they the new magic bullet? *Proceedings of the Nutrition Society* 62(3): 599-603.
- Esmailzadeh, A; Kimiagar, M; Mehrabi, Y; Azadbakht, L; Hu, FB; Willett, WC. 2006. Fruit and vegetable intakes, C-reactive protein, and the metabolic syndrome. *The American Journal of Clinical Nutrition* 84(6): 1489-1497.
- Espinal Ruiz, M. 2010. Capacidad antioxidante y ablandamiento de la guayaba Palmira ICA I (*Psidium guajava*). Tesis de Maestría. Bogotá D. C., Universidad Nacional de Colombia.
- Evans, EA. 2008. Tendencias recientes en la producción, comercio y consumo de mango en el mundo y en los Estados Unidos (en línea). Education. Disponible en <http://www.magrama.gob.es/app/materialvegetal/Docs/IFAS-Tendencias%20recientes%20mango.pdf>.
- Floris, T; Filippino, G; Scrugli, S; Pinna, MB; Argiolas, F; Argiolas, A; Murru, M; Reverchon, E. 2010. Antioxidant compounds recovery from grape residues by a supercritical antisolvent assisted process. *The Journal of Supercritical Fluids* 54(2): 165-170.
- Fundación Mango Ecuador. 2000. Variedades de Mango Ecuatoriano (en línea). Consultado 2013-01-14, Disponible en <http://www.mangoecuador.org/variedades-mango.php>.
- García Alonso, FJ. 2006. Evaluación in vitro e in vivo de la funcionalidad de un producto rico en antioxidantes. Tesis doctoral. Murcia, Universidad de Murcia. 1-202.

- Gutiérrez Pulido, H; De la Vara Salazar, R. 2008. Análisis y diseño de experimentos. México, McGraw-Hill. Segunda edición
- Halliwell, B. 1996. Antioxidants in human health and disease. Annual Review of Nutrition 16(1): 33-50.
- INEC (Instituto Nacional de Estadística y Censos). 2011. Visualizador de estadísticas agropecuarias del Ecuador ESPAC (en línea). Consultado 1 may. 2013, Disponible en <http://200.110.88.44/lcds-samples/testdrive-remoteobject/main.html#app=dbb7&a24-selectedIndex=0>.
- Jiménez - Escrig, A; Rincón, M; Pulido, R; Saura-Calixto, F. 2001. Guava Fruit (*Psidium guajava* L.) as a New Source of Antioxidant Dietary Fiber. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49(11): 5489-5493.
- Joseph, JA; Shukitt-Hale, B; Casadesus, G. 2005. Reversing the deleterious effects of aging on neuronal communication and behavior: beneficial properties of fruit polyphenolic compounds. The American Journal of Clinical Nutrition 81(1): 313S-316S.
- Jumbo Sarango, ME. 2013. Mejoramiento de la extracción de compuestos fenólicos de subproductos de mango (*Mangifera indica* L.) por hidrólisis ácida, Universidad Técnica Particular de Loja. Sin publicar.
- Kong, K-W; Ismail, AR; Tan, S-T; Nagendra Prasad, KM; Ismail, A. 2010a. Response surface optimisation for the extraction of phenolics and flavonoids from a pink guava puree industrial by-product. International Journal of Food Science & Technology 45(8): 1739-1745.
- Kong, KW; Ismail, A; Tan, CP; Rajab, NF. 2010b. 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. LWT - Food Science and Technology 43(5): 729-735.

- Kubola, J; Siriamornpun, S; Meeso, N. 2011. Phytochemicals, vitamin C and sugar content of Thai wild fruits. *Food Chemistry* 126(3): 972-981.
- Kuskoski, ME; 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(4): 726-732.
- Larrauri, JA; Rupérez, P; Borroto, B; Saura-Calixto, F. 1996. Mango Peels as a New Tropical Fibre: Preparation and Characterization. *LWT - Food Science and Technology* 29(8): 729-733.
- Lee, JL; Mukhtar, H; Bickers, DR; Kopelovich, L; Athar, M. 2003. Cyclooxygenases in the skin: pharmacological and toxicological implications. *Toxicology and Applied Pharmacology* 192(3): 294-306.
- Little, E; Wadsworth, FH; Marrero, J. 2001. Árboles Comunes de Puerto Rico y las Islas Vírgenes, La Editorial Universidad de Puerto Rico. Segunda Edición.
- 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 of Agricultural and Food Chemistry* 54(19): 7355 - 7363.
- Maisuthisakul, P; Gordon, MH. 2009. Antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of mango seed kernel by product. *Food Chemistry* 117(2): 332-341.
- Makris, DP; Boskou, G; Andrikopoulos, NK. 2007. Recovery of antioxidant phenolics from white vinification solid by-products employing water/ethanol mixtures. *Bioresource Technology* 98(15): 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(1): 230S-242S.

- Martínez, R; Torres, P; Meneses, MA; Figueroa, JG; Pérez-Álvarez, JA; Viuda-Martos, M. 2012. Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. *Food Chemistry* 135(3): 1520-1526.
- Martínez Valverde, I; Periago, MJ; Ros, G. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos latinoamericanos de nutrición* 50(1): 5-18.
- Masibo, M; He, Q. 2008. Major Mango Polyphenols and Their Potential Significance to Human Health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 7(4): 309-319.
- Mercadante, AZ; Steck, A; Pfander, H. 1999. Carotenoids from Guava (*Psidium guajava* L.): Isolation and Structure Elucidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(1): 145-151.
- Michalkiewicz, A; Biesaga, M; Pyrzynska, K. 2008. Solid-phase extraction procedure for determination of phenolic acids and some flavonols in honey. *Journal of Chromatography A* 1187(1): 18-24.
- Miean, KH; Mohamed, S. 2001. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropicals plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49(6): 3106–3112.
- Musa, KH; Abdullah, A; Jusoh, K; Subramaniam, V. 2011. Antioxidant Activity of Pink-Flesh Guava (*Psidium guajava* L.): Effect of Extraction Techniques and Solvents. *Food Analytical Methods* 4(1): 100-107.
- Naczki, M; Shahidi, F. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A* 1054(1): 95-111.
- Pérez-Jiménez, J; Saura-Calixto, F. 2006. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Food Research International* 39(7): 791-800.

- Pérez - Jiménez, J; Saura - Calixto, F. 2007. Metodología para la evaluación de capacidad antioxidante en frutas y hortalizas. V Congreso Iberoamericano de Tecnología de Postcosecha y Agroexportaciones. Madrid, Departamento de Metabolismo y Nutrición. Instituto del Frío: 1150-1160.
- Pernía, T; Corao, G; Atrajo, L. 2004. Actividad anti-inflamatoria de la hialuronidasa por los polifenoles en la fruta de la fresa (*Fragaria vesca* L.). Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 3: 73-76.
- 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 & Technology 44(5): 960-966.
- Ramírez, M; Marnet, N; Kolli, K; Roussos, S; Guyot, S. 2004. Characterization and Estimation of Proanthocyanidins and Other Phenolics in Coffee Pulp (*Coffea arabica*) by Thiolytic-High-Performance Liquid Chromatography. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52(5): 1344-1349.
- Re, R; Pellegrini, N; Proteggente, A; Pannala, A; Yang, M; Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine 26(9-10): 1231-1237.
- Ribeiro, SMR; Queiroz, JH; de Queiroz, MELR; Campos, FM; Sant'Ana, HMP. 2007. Antioxidant in mango (*Mangifera indica* L.) pulp. Plant Foods for Human Nutrition 62(1): 13-17.
- Rice - Evans, C; Miller, N; Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends in Plant Science 2(4): 152-159.
- Sánchez - Moreno, C; Larrauri, JA; Saura - Calixto, F. 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. Journal of the Science of Food and Agriculture 76(2): 270-276.

- Shibano, M; Kakutani, K; Taniguchi, M; Yasuda, M; Baba, K. 2008. Antioxidant constituents in the dayflower (*Commelina communis* L.) and their α -glucosidase-inhibitory activity. *Journal of Natural Medicines* 62(3): 349-353.
- Sinha, N; Sidhu, J; Barta, J; Wu, J; Cano, MP. 2012. Handbook of fruits and fruit processing. USA, Wiley-Blackwell. Segunda Edición.
- Solórzano Apolo, DA. 2013. Mejoramiento de la extracción de compuestos fenólicos de subproductos de guayaba (*Psidium Guajava* L.) por hidrólisis ácida. Tesis de Pregrado. Loja, Universidad Técnica Particular de Loja.
- Sone, Y; Moon, J-K; Mai, TT; Thu, NN; Asano, E; Yamaguchi, K; Otsuka, Y; Shibamoto, T. 2011. Antioxidant/anti-inflammatory activities and total phenolic content of extracts obtained from plants grown in Vietnam. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 91(12): 2259–2264.
- Summa, C; Cordeiro Raposo, F; McCourt, J; Lo Scalzo, R; Wagner, K-H; Elmadfa, I; Anklam, E. 2006. Effect of roasting on the radical scavenging activity of cocoa beans. *European Food Research and Technology* 222(3-4): 368-375.
- Tanaka, A; Horiuchi, M; Umamo, K; Shibamoto, T. 2008. Antioxidant and anti-inflammatory activities of water distillate and its dichloromethane extract from licorice root (*Glycyrrhiza uralensis*) and chemical composition of dichloromethane extract. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88(7): 1158-1165.
- Thaipong, K; Boonprakob, U; Crosby, K; Cisneros-Zevallos, L; Hawkins Byrne, D. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis* 19(6–7): 669-675.
- Ueda, M; Sasaki, K; Utsunomiya, N; Inaba, K; Shimabayashi, Y. 2000. Changes in physical and chemical properties during maturation of mango fruit (*Mangifera indica* L. "Irwin") cultured in a plastic greenhouse. *Food Science and Technology Research* 6(4): 299-305.

Ugartondo Casadevall, V. 2009. Caracterización de derivados polifenólicos obtenidos de fuentes naturales. Citotoxicidad y capacidad antioxidante frente a estrés oxidativo en modelos celulares. Tesis Doctoral. Barcelona, Universidad de Barcelona.

Wikimedia Commons. 2013. File:Mango and cross sections.jpg (en línea). Consultado 2013-04-07, Disponible en http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Mango_and_cross_sections.jpg.

Yepes, SM; Montoya Naranjo, LJ; Orozco Sánchez, F. 2008. Valorización de residuos agroindustriales - frutas - en Medellín y el sur del valle del Aburrá, Colombia. Revista Facultad Nacional de Agronomía 61(1): 4422-4431.

LISTA DE ABREVIATURAS

A. A: ácido acético

Abs: absorbancia

ABTS: 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina - 6 - ácido sulfónico) sal de di amonio

A. C: ácido cítrico

BS: base seca

BH: base húmeda

C: concentración

CFH: cloruro férrico hexahidratado

COX: ciclooxigenasa

DPPH: 2.2 difenil-1-picrilhidrazilo

EGI: equivalente de glucosa

ENP: extracto no purificado

EP: Extracto purificado

FRAP: poder antioxidante de reducción férrica

g: gramo

GAE: equivalente de ácido gálico

HCl: ácido clorhídrico

HPLC: cromatografía líquida de alta resolución

LOX: Lipoxigenasa

mbar: milibar

MeOH: metanol

mg: miligramo

mL: mililitro

mM: milimolar

N: normal

nm: nanómetros

PG: prostaglandina

ppm: partes por millón

rpm: revoluciones por minuto

S. A: sin ácido

TE: trolox equivalente

Trolox: ácido 6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico

TPTZ: 2, 4, 6- tri - (2-piridil-s-triazina)

T°: temperatura

UV: espectrofotómetro ultravioleta-visible

w: peso

μL: microlitro

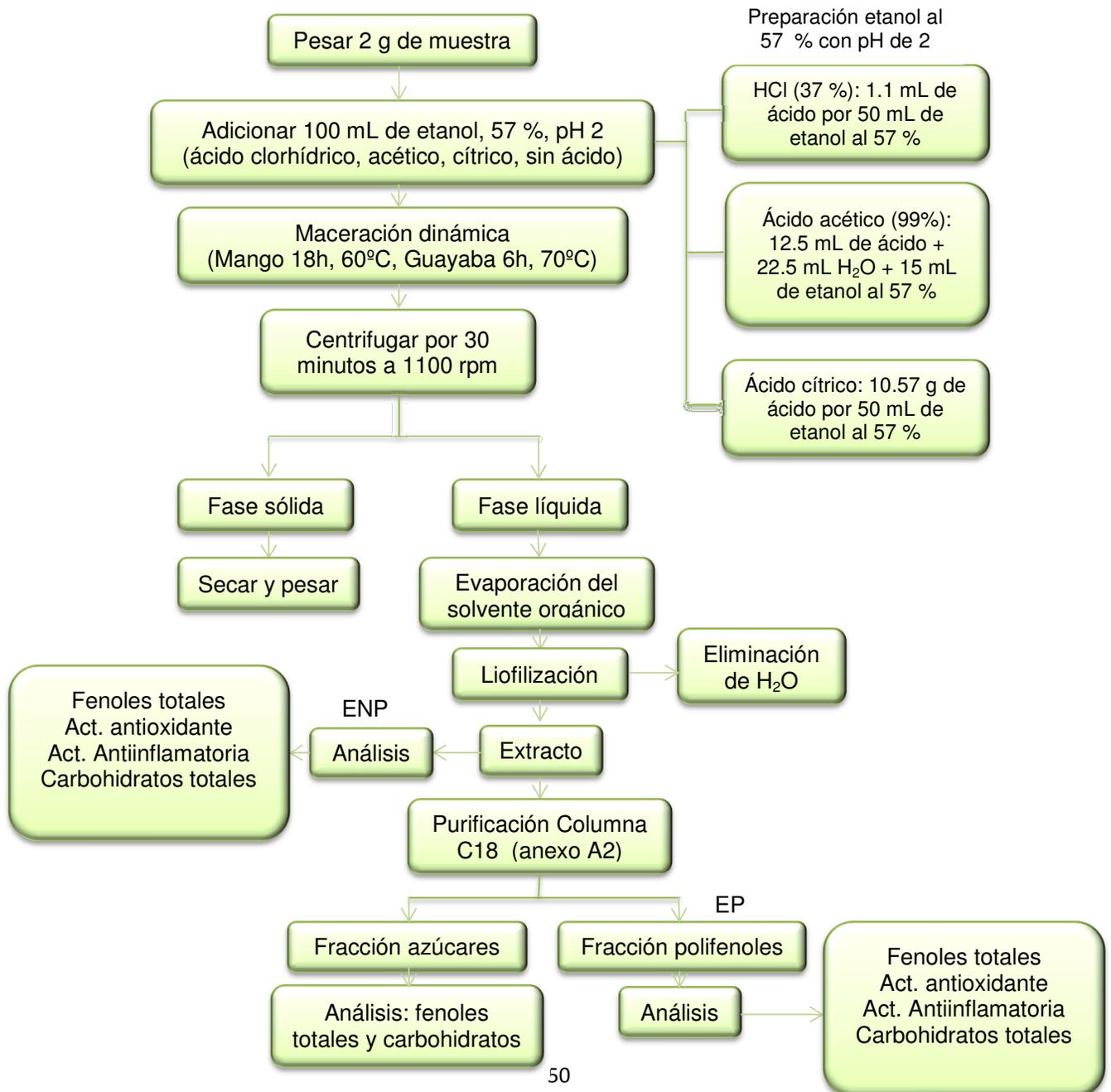
μg: microgramo

9 ANEXOS

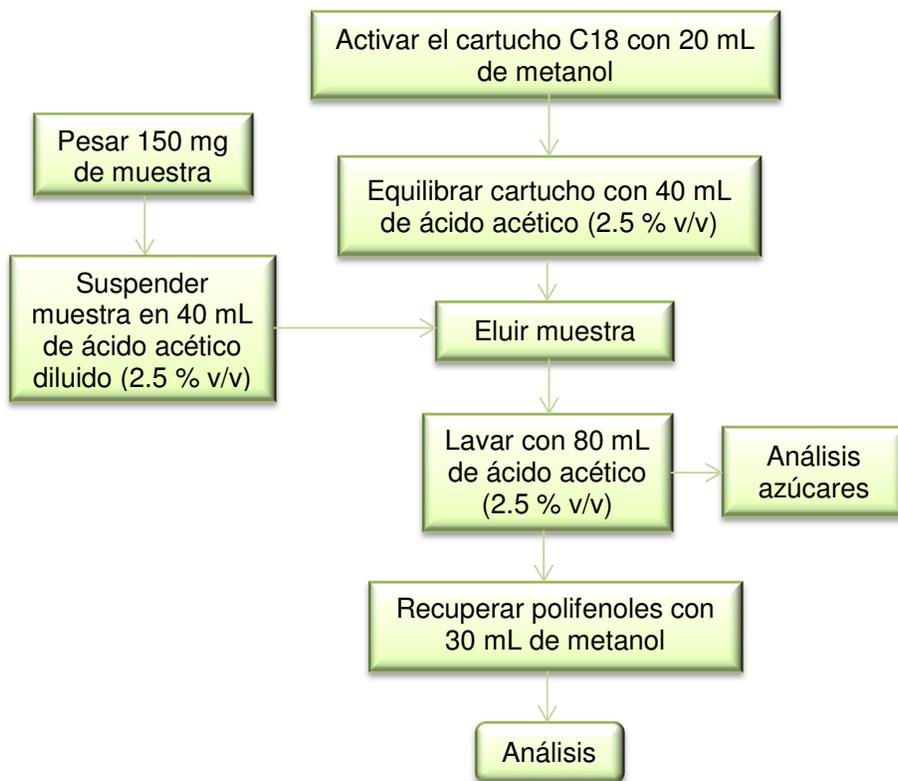
ANEXO A

ANEXO DETALLADO DEL MÉTODO EXPERIMENTAL

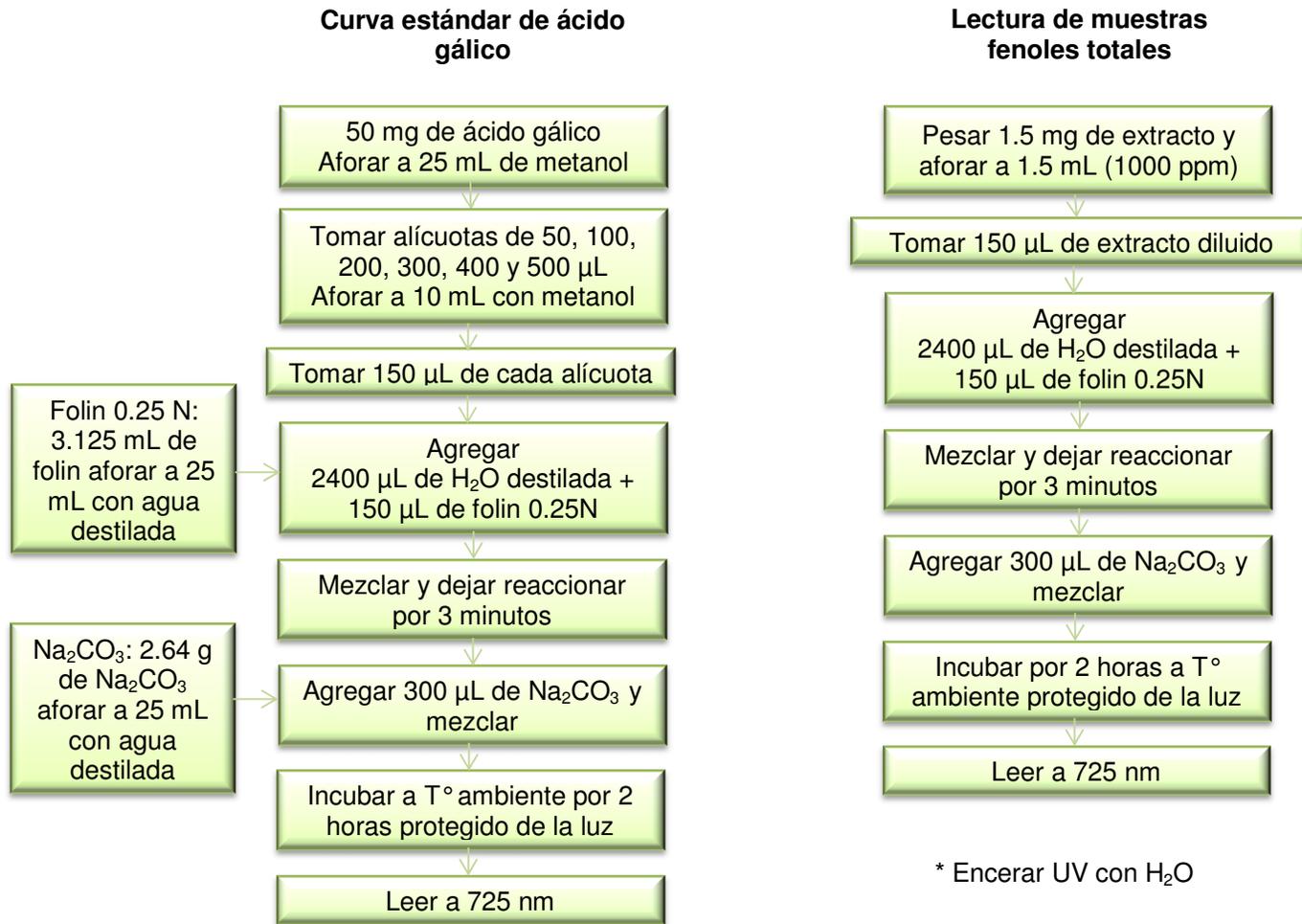
Anexo A 1. Proceso de maceración dinámica y extracción



Anexo A 2. Procedimiento del fraccionamiento en columna C18

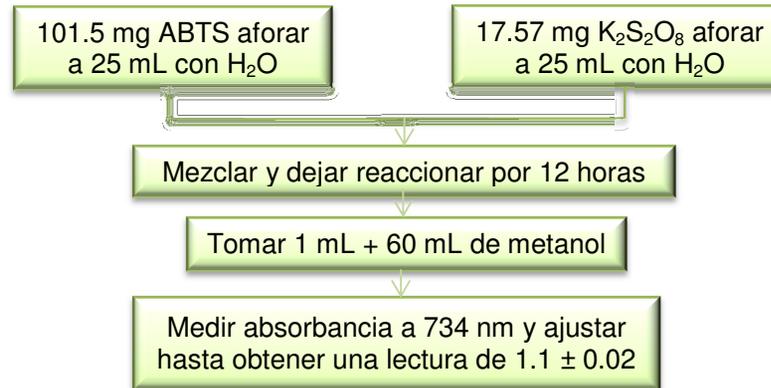


Anexo A 3. Esquema gráfico método fenoles totales

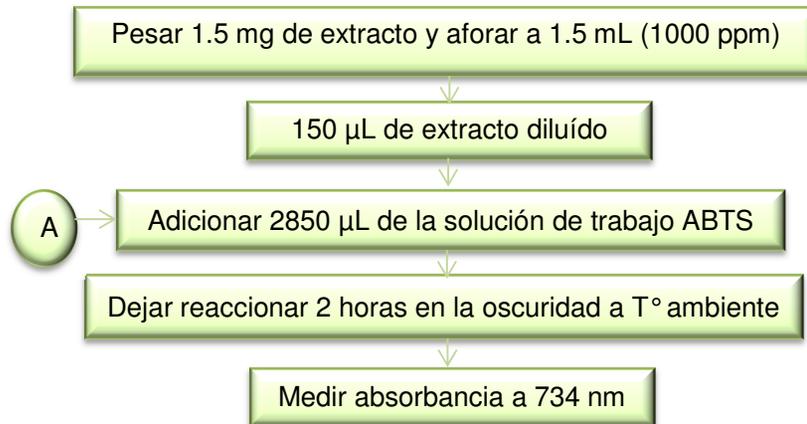


Anexo A 4. Esquema gráfico método ABTS

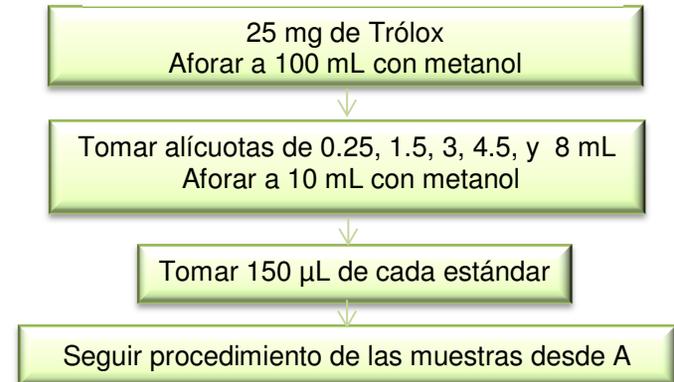
Elaboración de la solución de trabajo ABTS



Lectura de muestras ABTS



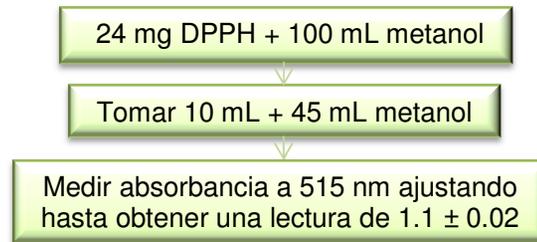
Curva estándar de Trólox para ABTS



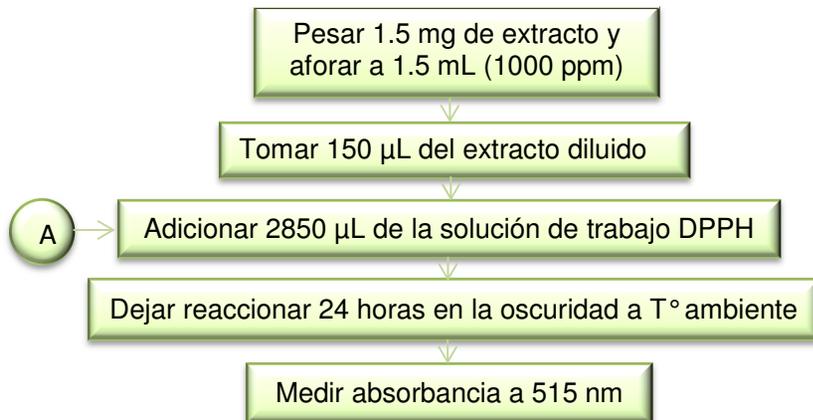
* Encerar UV con MeOH

Anexo A 5. Esquema gráfico método DPPH

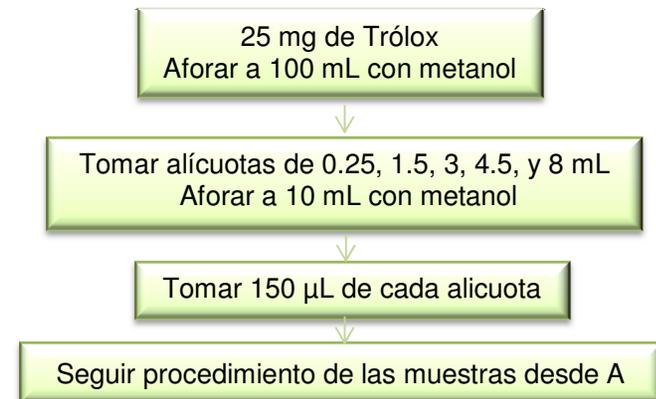
Elaboración de la solución de trabajo DPPH



Lectura de muestras DPPH



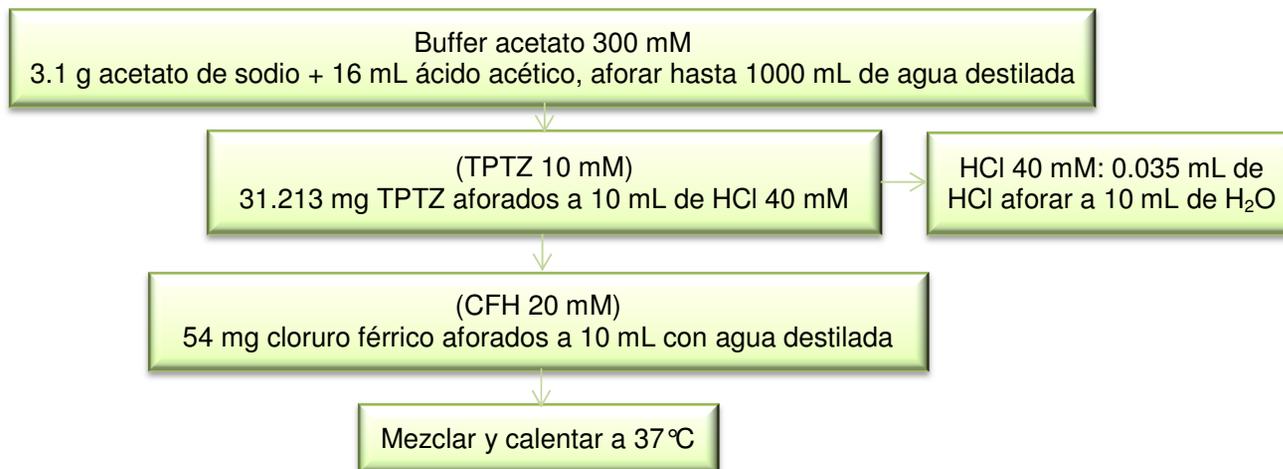
Curva estándar de Trólox para DPPH



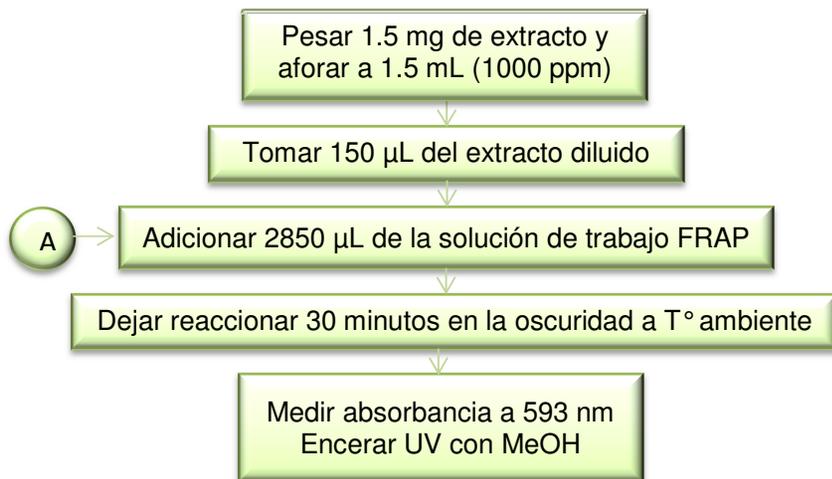
* Encerar UV con MeOH

Anexo A 6. Esquema gráfico método FRAP

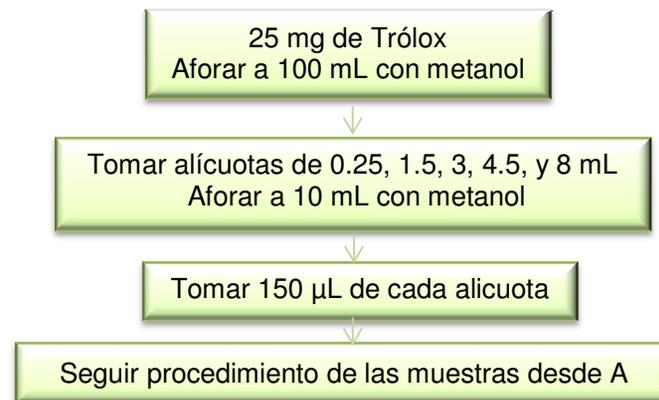
Elaboración de la solución de trabajo FRAP



Lectura de muestras FRAP



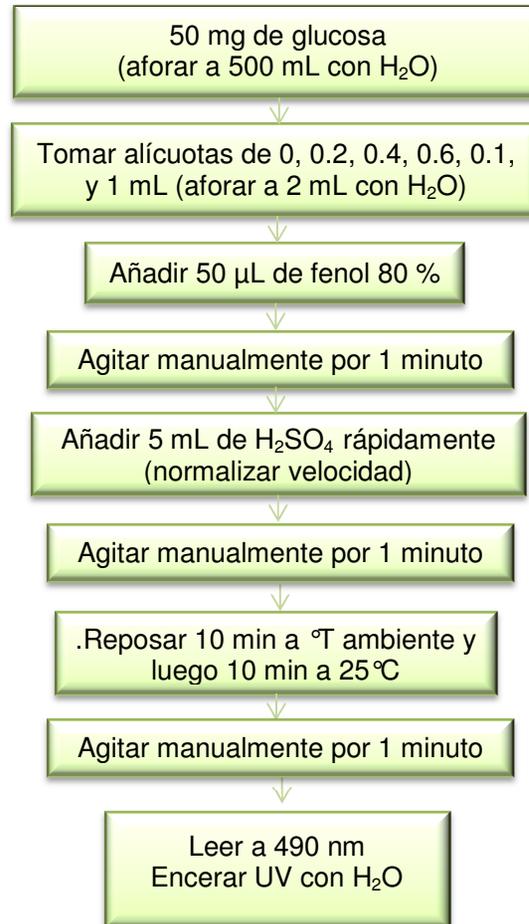
Curva estándar de Trólox para FRAP



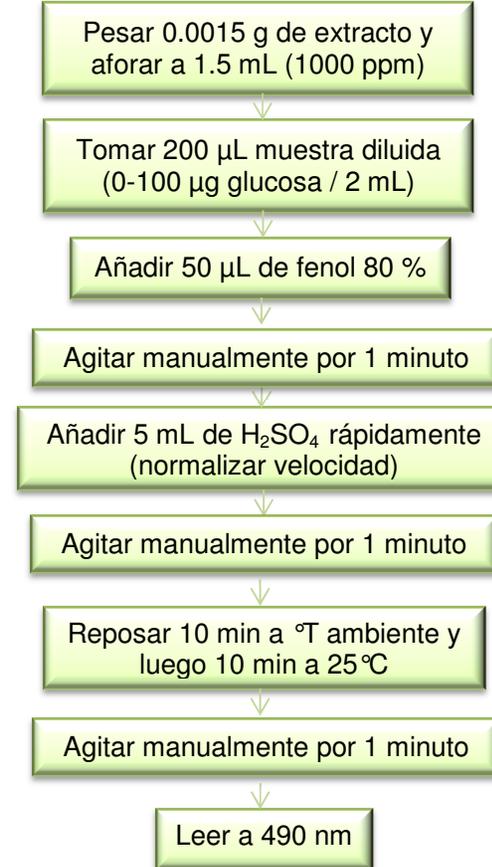
Anexo A 7. Esquema gráfico determinación de carbohidratos

Lectura de muestras

Curva estándar de glucosa

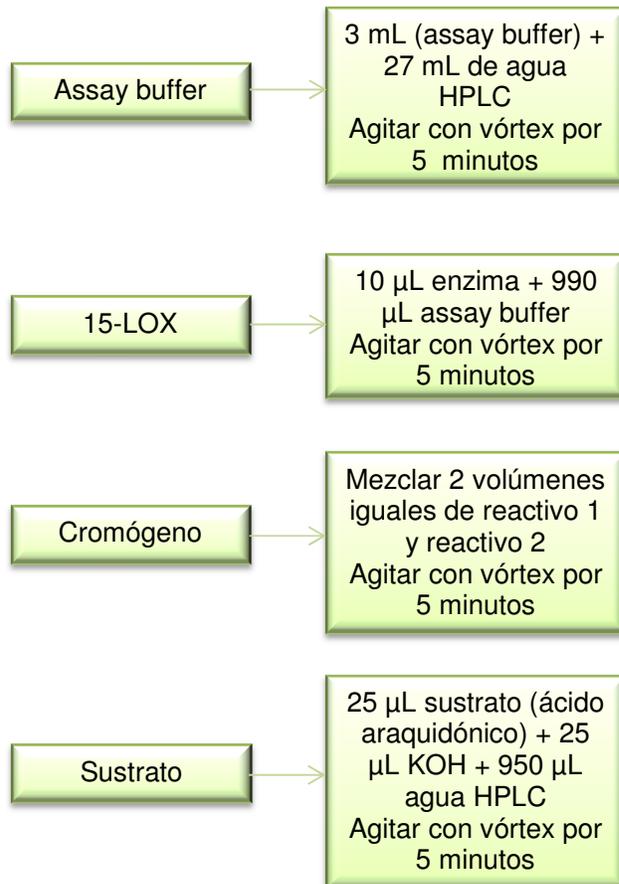


Lectura de muestras carbohidratos

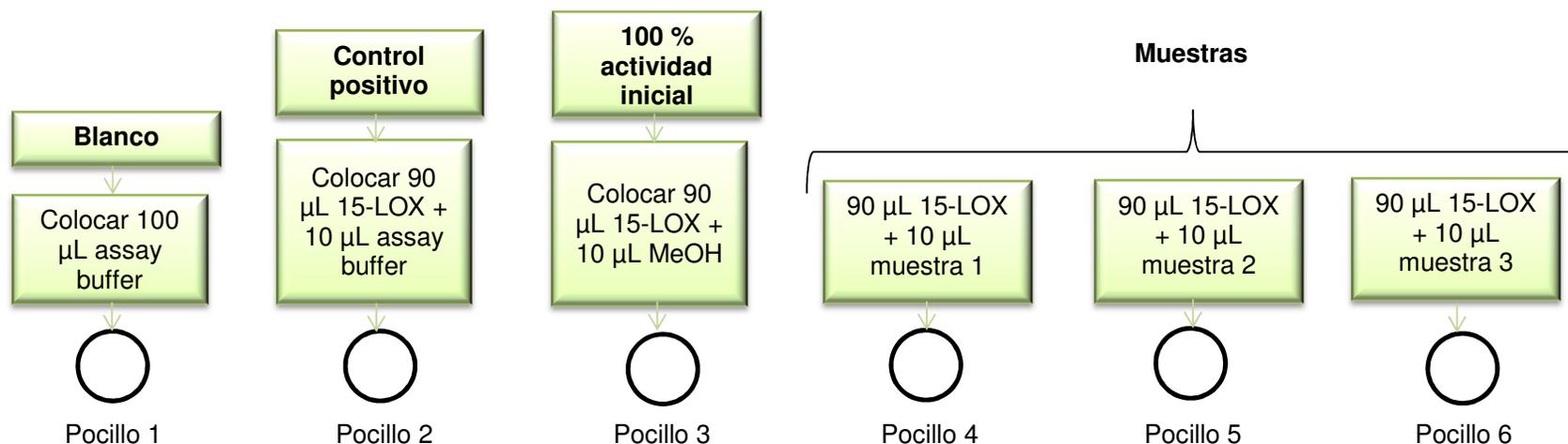


Anexo A 8. Esquema gráfico método antiinflamatorios

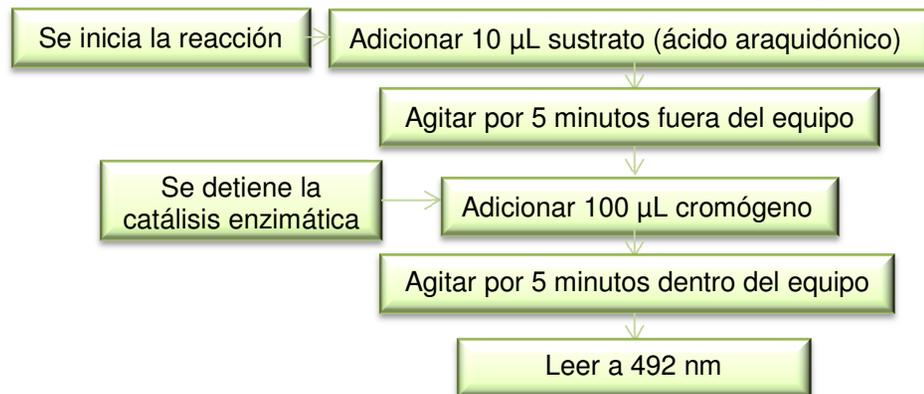
Procedimiento para la preparación de soluciones de trabajo



Procedimiento para la determinación de la actividad anti-inflamatoria



A continuación a los pocillos del blanco, control positivo, 100 % actividad inicial y muestras, se les sigue el mismo procedimiento:



ANEXO B

Anexo B 1. Anexo de fotografías

Extractos de guayaba (HCl) antes y después de la purificación

Extracto no purificado



Extracto purificado



Extractos de mango (HCl) antes y después de la purificación

Extracto no purificado



Extracto purificado



Extractos de guayaba (ácido acético) antes y después de la purificación

Extracto no purificado



Extracto purificado



Extractos de mango (ácido acético) antes y después de la purificación

Extracto no purificado



Extracto purificado



Extractos de guayaba (ácido cítrico) antes y después de la purificación

Extracto no purificado



Extracto purificado



Extractos de mango (ácido cítrico) antes y después de la purificación

Extracto no purificado



Extracto purificado



Extractos de guayaba (sin ácido) antes y después de la purificación

Extracto no purificado



Extracto purificado



Extractos de mango (sin ácido) antes y después de la purificación

Extracto no purificado



Extracto purificado



ANEXO C
EJEMPLOS DE CÁLCULO

Anexo C 1. Rendimiento de extracción antes del proceso de purificación

Residuo = extracto final luego de liofilizar



Residuo = (w balón + extracto liofilizado) – (w balón vacío)

$$\text{Residuo} = (92.33) - (91.25)$$

$$\text{Residuo} = 1.08 \text{ g}$$

Solvente aparente = solvente que queda luego de centrifugar y separar de la fase sólida



Solvente aparente = (w balón + solvente) – (w balón vacío)

$$\text{Solvente aparente} = (167.09) - (91.25)$$

$$\text{Solvente aparente} = 75.84 \text{ g}$$

Solvente corregido = (w solvente aparente) – (residuo)

$$\text{Solvente corregido} = (75.84) - (1.08)$$

$$\text{Solvente corregido} = 74.76 \text{ g}$$

Solvente evaporado = parte del solvente que se queda en la fase sólida luego de centrifugar

Solvente evaporado = (w tubo + residuo sólido) – (w tubo + residuo sólido seco)

$$\text{Solvente evaporado} = (33.22) - (27.15)$$

$$\text{Solvente evaporado} = 6.07 \text{ g}$$

Residuo contenido en el solvente que se queda en los tubos = (solvente evaporado) * (residuo / w solvente aparente)

$$\text{Residuo contenido en el solvente que se queda en los tubos} = (6.07) * (1.08 / 75.84)$$

Residuo contenido en el solvente que se queda en los tubos = 0.086 g

Residuo corregido = (*residuo contenido en el solvente que se queda en los tubos*) + (*residuo*)

Residuo corregido = (0.086) - (1.08)

Residuo corregido = 1.17 g

Rendimiento bruto = (*residuo corregido*) * (100/w muestra)

*Rendimiento bruto = (1.17) * (100/2.02)*

Rendimiento bruto = 57.74 %

Rendimiento bruto BS = $\frac{(\text{rendimiento bruto} * 100)}{(100 - \text{humedad final})}$

Humedad de la muestra = 7.08 %

Rendimiento bruto BS = $\frac{(57.74 * 100)}{(100 - 7.08)}$

Rendimiento bruto BS = 62.13 %

Anexo C 2. Rendimiento de extracción después del proceso de purificación

Residuo = *extracto final luego de liofilizar*



Residuo = (*w balón + extracto liofilizado*) - (*w balón vacío*)

Residuo = (98.17) - (98.15)

Residuo = 0.02 g

Residuo NP = 1.17

Peso de la muestra = 2.02

Extrato pasado por la columna = 0.1513 g

Rendimiento bruto

$$= \frac{(\text{residuo corregido purificado} * \text{residuo corregido no purificado}) * (100/w \text{ muestra})}{w \text{ extracto pasado por la columna}}$$

$$\text{Rendimiento bruto} = \frac{(0.02 * 1.17) * (100 / 2.02)}{0.1513}$$

$$\text{Rendimiento bruto} = 7.63 \%$$

$$\text{Humedad de la muestra} = 7.08 \%$$

$$\text{Rendimiento bruto BS} = \frac{(\text{rendimiento bruto} * 100)}{(100 - \text{humedad final})}$$

$$\text{Rendimiento bruto BS} = \frac{(7.63 * 100)}{(100 - 7.08)}$$

$$\text{Rendimiento bruto BS} = 8.2 \%$$

Anexo C 3. Fenoles totales antes del proceso de purificación

Curva de calibración:

Preparación de la solución madre

$$w \text{ ácido gálico} = 0.203 \text{ g}$$

$$\text{Riqueza} = 99 \%$$

$$\text{Aforo} = 10 \text{ mL}$$

$$C = \frac{(\text{masa} * \text{riqueza})}{\text{volumen}}$$

$$C = \frac{(0.0203 \text{ g} * 0.99)}{10 \text{ mL}}$$

$$C = 0.00200 \text{ g/mL} = 2.0097 \text{ mg/mL}$$

Preparación curva de calibrado (ejemplo de la concentración de 0.01 mg / mL)

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

$$V_1 = \frac{C_2 V_2}{C_1}$$

$$V_1 = \frac{0.01 \text{ mg/mL} * 10 \text{ mL}}{2.0097 \text{ mg/mL}} = 0.050 \text{ mL}$$

Alícuota (mL)	Aforo (mL)	C (mg/mL)	Absorbancia	
0.000	10	0.000	0.005	Pendiente
0.050	10	0.010	0.067	4.952
0.100	10	0.020	0.114	Intersección
0.200	10	0.040	0.223	0.011
0.300	10	0.060	0.285	Coef.Corr
0.400	10	0.080	0.411	0.997
0.500	10	0.100	0.516	

Cálculo de concentración para muestras (ejemplo: mango muestra 1 con HCl)

Humedad de la muestra = 7.08 %

$$Y = ax + b$$

$Y = \text{absorbancia}$

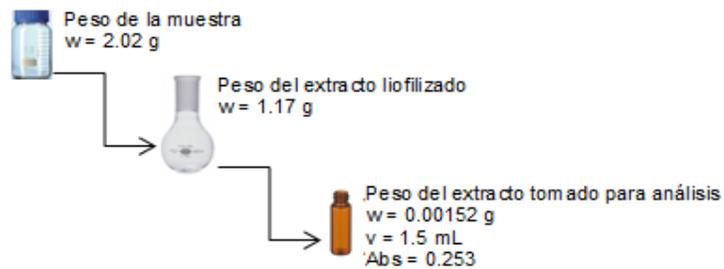
$a = \text{pendiente}$

$x = \text{concentración}$

$b = \text{intersección}$

$$x = \frac{y - b}{a}$$

$$x = \frac{0.253 - 0.011}{4.952} = 0.049 \text{ mg/ml} \quad (\text{datos de absorbancia en anexo D 9})$$



$$0.049 \text{ mg} \rightarrow 1 \text{ mL}$$

$$x \leftarrow 1.5 \text{ mL}$$

$$x = 0.074 \text{ mg}$$

$$0.074 \text{ mg} \rightarrow 0.00152 \text{ g}$$

$$x \leftarrow 1.17 \text{ g}$$

$$x = 56.38 \text{ mg GAE / extracto bruto}$$

$$56.38 \text{ mg} \rightarrow 2.02 \text{ g}$$

$$x \leftarrow 100 \text{ g}$$

$$x = 2791.08 \text{ mg GAE / 100 g muestra}$$

$$2791.08 \text{ mg} \rightarrow (100 - 7.08) \%$$

$$x \leftarrow 100 \%$$

$$x = 3003.75 \text{ mg GAE / 100 g muestra BS}$$

Anexo C 4. Fenoles totales luego del proceso de purificación

Curva de calibración:

Preparación de la solución madre

$$w \text{ ácido gálico} = 0.05091 \text{ g}$$

$$\text{Riqueza} = 99 \%$$

$$\text{Aforo} = 25 \text{ mL}$$

$$C = \frac{(\text{masa} * \text{riqueza})}{\text{volumen}}$$

$$C = \frac{(0.05091 \text{ g} * 0.99)}{25 \text{ mL}}$$

$$C = 0.002016 \text{ g / mL} = 2.016 \text{ mg / mL}$$

Preparación curva de calibrado (ejemplo de la concentración de 0.01 mg / mL)

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

$$V_1 = \frac{C_2 V_2}{C_1}$$

$$V1 = \frac{0.01 \text{ mg/mL} * 10 \text{ mL}}{2.016 \text{ mg/mL}} = 0.050 \text{ mL}$$

Alícuota (mL)	Aforo (mL)	C (mg/mL)	Absorbancia	
0.000	10	0.000	0.011	Pendiente
0.050	10	0.010	0.134	5.150
0.100	10	0.020	0.156	Intersección
0.200	10	0.040	0.243	0.043
0.300	10	0.060	0.341	Coef.Corr
0.400	10	0.080	0.463	0.993
0.500	10	0.100	0.565	

Cálculo de concentración para muestras (ejemplo: mango muestra 1 con HCl)

Humedad de la muestra = 7.08 %

$$Y = ax + b$$

Y = absorbancia

a = pendiente

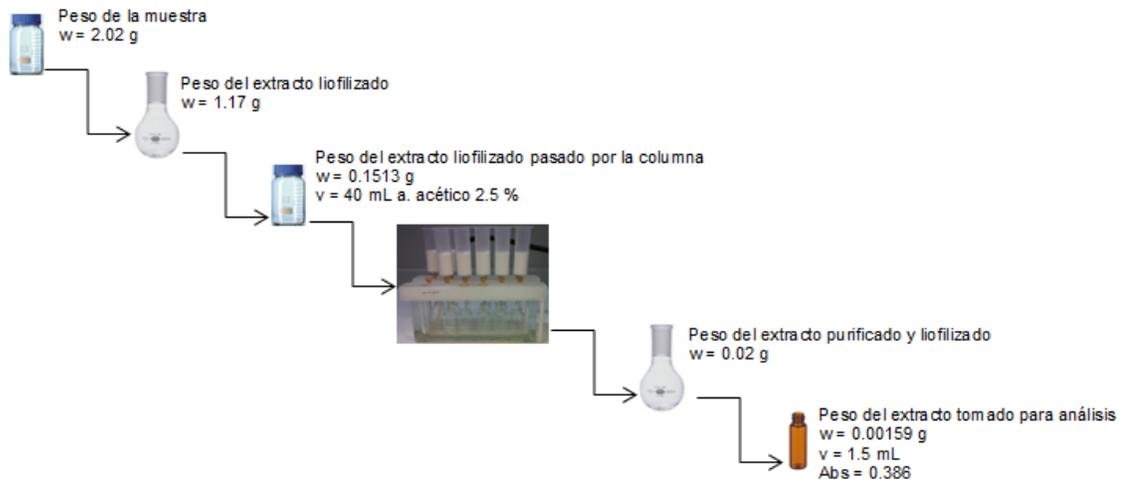
x = concentración

b = intersección

$$x = \frac{y - b}{a}$$

$$x = \frac{0.386 - 0.043}{5.150} \quad (\text{datos de absorbancia en anexo D 9})$$

$$x = 0.067 \text{ mg/mL}$$



Luego de pesar 0.00159 g de extracto purificado y aforar en 1.5 mL de metanol, se tomaron 50 μL y se aforaron con 150 μL de metanol a fin de diluir más la muestra.

$$0.067 \text{ mg} \rightarrow 1000 \mu\text{L}$$

$$x \leftarrow 150 \mu\text{L}$$

$$x = 0.01005 \text{ mg}$$

$$0.01005 \text{ mg} \rightarrow 50 \mu\text{L}$$

$$x \leftarrow 1500 \mu\text{L}$$

$$x = 0.3015 \text{ mg}$$

$$0.3015 \text{ mg} \rightarrow 0.00159 \text{ g}$$

$$x \leftarrow 0.02 \text{ g}$$

$$x = 3.79 \text{ mg GAE/ extracto bruto}$$

$$3.79 \text{ mg} \rightarrow 0.1513 \text{ g}$$

$$x \leftarrow 1.17 \text{ g}$$

$$x = 29.33 \text{ mg}$$

$$29.33 \text{ mg} \rightarrow 2.02 \text{ g}$$

$$x \leftarrow 100 \text{ g}$$

$$x = 1451.82 \text{ mg GAE} / 100 \text{ g muestra}$$

$$1451.82 \text{ mg} \rightarrow (100 - 7.08) \%$$

$$x \leftarrow 100 \%$$

$$x = 1562.44 \text{ mg GAE} / 100 \text{ g muestra BS}$$

Anexo C 5. Fenoles totales fracción azúcares

Curva de calibración:

Preparación de la solución madre

$$w \text{ ácido gálico} = 0.05061 \text{ g}$$

$$Riqueza = 99 \%$$

$$Aforo = 25 \text{ mL}$$

$$Volumen \text{ de la fracción de carbohidratos} = 119 \text{ mL}$$

$$C = \frac{(\text{masa} * \text{riqueza})}{\text{volumen}}$$

$$C = \frac{(0.05061 \text{ g} * 0.99)}{25 \text{ mL}}$$

$$C = 0.002004 \text{ g} / \text{mL} = 2.004 \text{ mg} / \text{mL}$$

Preparación curva de calibrado (ejemplo de la concentración de 0.01 mg / mL)

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

$$V_1 = \frac{C_2 V_2}{C_1}$$

$$V_1 = \frac{0.01 \text{ mg} / \text{mL} * 10 \text{ mL}}{2.004 \text{ mg} / \text{mL}} = 0.050 \text{ mL}$$

Alicuota (mL)	Aforo (mL)	C (mg/mL)	Absorbancia	
0.000	10	0.000	0.016	Pendiente
0.050	10	0.010	0.094	5.488
0.100	10	0.020	0.155	Intersección
0.200	10	0.040	0.275	0.036
0.300	10	0.060	0.367	Coef.Corr
0.400	10	0.080	0.473	0.998
0.500	10	0.100	0.579	

Cálculo de concentración para muestras (ejemplo: mango muestra 1 con HCl)

Humedad de la muestra = 7.08 %

$$Y = ax + b$$

Y = absorbancia

a = pendiente

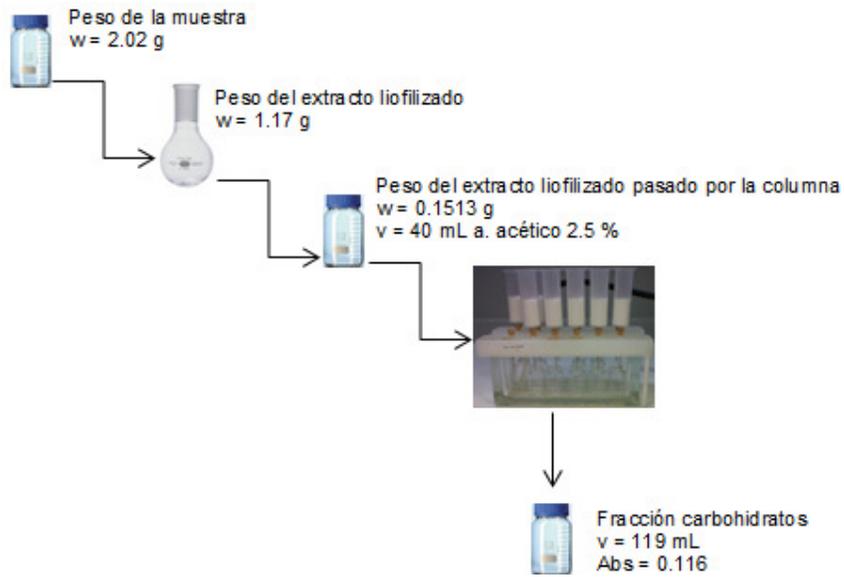
x = concentración

b = intersección

$$x = \frac{y - b}{a}$$

$$x = \frac{0.116 - 0.036}{5.488} \quad (\text{datos de absorbancia en anexo D 9})$$

$$x = 0.0154 \text{ mg/mL}$$



$$0.0154 \text{ mg} \rightarrow 1 \text{ mL}$$

$$x \leftarrow 119 \text{ mL}$$

$$\mathbf{x = 1.72 \text{ mg GAE/g extracto}}$$

$$1.72 \text{ mg} \rightarrow 0.1513 \text{ g}$$

$$x \leftarrow 1.17 \text{ g}$$

$$\mathbf{x = 13.34 \text{ mg}}$$

$$13.34 \text{ mg} \rightarrow 2.02 \text{ g}$$

$$x \leftarrow 100 \text{ g}$$

$$\mathbf{x = 660.55 \text{ mg GAE/100 g muestra}}$$

$$660.55 \text{ mg} \rightarrow (100 - 7.08) \%$$

$$x \leftarrow 100 \%$$

$$\mathbf{x = 710.88 \text{ mg GAE /100 g muestra BS}}$$

Anexo C 6. Balance de fenoles

Antes de la purificación = 56.38 mg GAE / extracto bruto

Después de la purificación = 3.79 mg GAE / extracto bruto

Fracción azúcares = 1.72 mg GAE / extracto

Extracto que se pasa por la columna = 0.1513 g

Residuo no purificado = 1.17 g

$$1.17 \text{ g} \quad \rightarrow \quad 56.38 \text{ mg}$$

$$0.1513 \text{ g} \quad \leftarrow \quad x$$

$$x = 7.29 \text{ mg GAE/extracto bruto}$$

$$3.79 \text{ mg} + 1.72 \text{ mg} = 5.51 \approx 7.29$$

$$7.29 \text{ mg} - 5.51 \text{ mg} = 1.78 \text{ mg de pérdida}$$

Anexo C 7. Carbohidratos totales antes del proceso de purificación

Curva de calibración:

Preparación de la solución madre

$$w_{\text{glucosa}} = 0.01038 \text{ g} = 10.38 \text{ mg}$$

$$\text{Riqueza} = 99 \%$$

$$\text{Aforo} = 100 \text{ mL} = 0.1 \text{ L}$$

$$C = \frac{(\text{masa} * \text{riqueza})}{\text{volumen}}$$

$$C = \frac{(10.38 \text{ mg} * 0.99)}{0.1 \text{ L}}$$

$$C = 102.76 \text{ mg/L}$$

Preparación curva de calibrado (ejemplo de la concentración de 10.27 mg / L)

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

$$V_1 = \frac{C_2 V_2}{C_1}$$

$$V_1 = \frac{10.2762 \text{ mg/L} * 2 \text{ mL}}{102.76 \text{ mg/L}} = 0.200 \text{ mL}$$

Alícuota (mL)	Aforo (mL)	C (mg/L)	Abs	
0.000	2	0.000	0.099	Pendiente
0.200	2	10.276	0.245	0.018
0.400	2	20.552	0.471	Intersección
0.600	2	30.828	0.659	0.081
0.800	2	41.104	0.865	Coef.Corr
1.000	2	51.381	1.034	0.998

Cálculo de concentración para muestras (ejemplo: mango muestra 1 con HCl)

Humedad de la muestra = 7.08 %

$$Y = ax + b$$

$Y = \text{absorbancia}$

$a = \text{pendiente}$

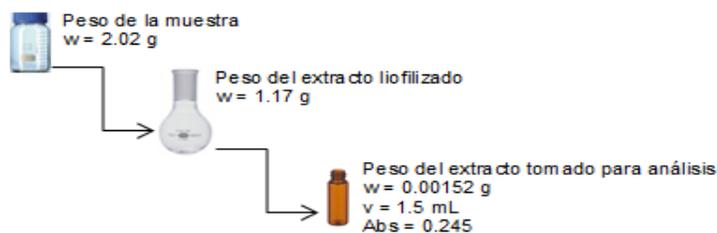
$x = \text{concentración}$

$b = \text{intersecto}$

$$x = \frac{y - b}{a}$$

$$x = \frac{0.245 - 0.081}{0.0186} \quad (\text{datos de absorbancia en anexo D10})$$

$$x = 8.72 \text{ mg/mL}$$



$$8.72 \text{ mg} \rightarrow 1000 \text{ mL}$$

$$x \leftarrow 2 \text{ mL}$$

$$x = 0.01744 \text{ mg}$$

$$0.01744 \text{ mg} \rightarrow 0.025 \text{ mL}$$

$$x \leftarrow 1.5 \text{ mL}$$

$$x = 1.04 \text{ mg}$$

$$1.04 \text{ mg} \rightarrow 0.00152 \text{ g}$$

$$x \leftarrow 1.17 \text{ g}$$

$$x = 800.52 \text{ mg glucosa/ extracto bruto}$$

$$800.52 \text{ mg} \rightarrow 2.02 \text{ g}$$

$$x \leftarrow 100 \text{ g}$$

$$x = 39630 \text{ mg glucosa/100 g muestra}$$

$$1 \text{ g} \rightarrow 1000 \text{ mg}$$

$$x \leftarrow 39630 \text{ mg}$$

$$x = 39.63 \text{ g glucosa / 100 g muestra}$$

$$39.63 \text{ g} \rightarrow (100 - 7.08) \%$$

$$x \leftarrow 100 \%$$

$$x = 42.65 \text{ g glucosa / 100 g muestra BS}$$

Anexo C 8. Carbohidratos totales después del proceso de purificación

Curva de calibración:

Preparación de la solución madre

$$w_{\text{glucosa}} = 0.01038 \text{ g} = 10.38 \text{ mg}$$

$$\text{Riqueza} = 99 \%$$

$$\text{Aforo} = 100 \text{ mL} = 0.1 \text{ L}$$

$$C = \frac{(\text{masa} * \text{riqueza})}{\text{volumen}}$$

$$C = \frac{(10.38 \text{ mg} * 0.99)}{0.1 \text{ L}} = 102.76 \text{ mg/L}$$

Preparación curva de calibrado (ejemplo de la concentración de 10.27 mg / L)

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

$$V_1 = \frac{C_2 V_2}{C_1}$$

$$V_1 = \frac{10.2762 \text{ mg/L} * 2 \text{ mL}}{102.76 \text{ mg/L}} = 0.200 \text{ mL}$$

Alícuota (mL)	Aforo (mL)	C (mg/L)	Abs	
0.000	2	0.000	0.099	Pendiente
0.200	2	10.276	0.245	0.018
0.400	2	20.552	0.471	Intersección
0.600	2	30.828	0.659	0.081
0.800	2	41.104	0.865	Coef.Corr
1.000	2	51.381	1.034	0.998

Cálculo de concentración para muestras (ejemplo: mango muestra 1 con HCl)

$$\text{Humedad de la muestra} = 7.08 \%$$

$$Y = ax + b$$

$$Y = \text{absorbancia}$$

$$a = \text{pendiente}$$

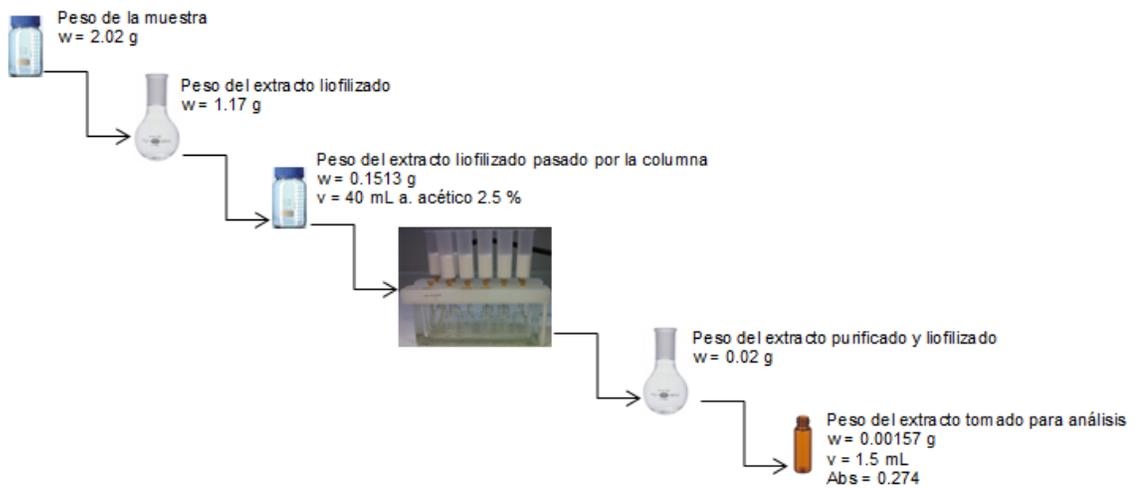
$$x = \text{concentración}$$

$b = \text{intersepto}$

$$x = \frac{y - b}{a}$$

$$x = \frac{0.274 - 0.081952}{0.018692} \quad (\text{datos de absorbancia en anexo D10})$$

$$x = 10.27 \text{ mg/mL}$$



$$10.27 \text{ mg} \rightarrow 1000 \text{ mL}$$

$$x \leftarrow 2 \text{ mL}$$

$$x = 0.0205 \text{ mg}$$

$$0.0205 \text{ mg} \rightarrow 0.05 \text{ mL}$$

$$x \leftarrow 1.5 \text{ mL}$$

$$x = 0.6164 \text{ mg}$$

$$0.6164 \text{ mg} \rightarrow 0.00157 \text{ g}$$

$$x \leftarrow 0.02 \text{ g}$$

$$x = 7.84 \text{ mg glucosa/g extracto}$$

$$7.84 \text{ mg} \rightarrow 0.1513 \text{ g}$$

$$x \leftarrow 1.17 \text{ g}$$

$$x = 60.7 \text{ mg}$$

$$60.7 \text{ mg} \rightarrow 2.02 \text{ g}$$

$$x \leftarrow 100 \text{ g}$$

$$x = 3005 \text{ mg glucosa} / 100 \text{ g muestra}$$

$$1 \text{ g} \rightarrow 1000 \text{ mg}$$

$$x \leftarrow 3005 \text{ mg}$$

$$x = 3.005 \text{ g glucosa} / 100 \text{ g muestra}$$

$$3.005 \text{ g} \rightarrow (100 - 7.08) \%$$

$$x \leftarrow 100 \%$$

$$x = 3.23 \text{ g glucosa} / 100 \text{ g muestra BS}$$

Anexo C 9. Carbohidratos totales fracción azúcares

Curva de calibración:

Preparación de la solución madre

$$w \text{ glucosa} = 0.0106 \text{ g} = 10.6 \text{ mg}$$

$$\text{Riqueza} = 99 \%$$

$$\text{Aforo} = 100 \text{ mL} = 0.1 \text{ L}$$

$$\text{Volumen de la fracción de carbohidratos} = 119 \text{ mL}$$

$$C = \frac{(\text{masa} * \text{riqueza})}{\text{volumen}}$$

$$C = \frac{(10.6 \text{ mg} * 0.99)}{0.1 \text{ L}} = 104.94 \text{ mg/L}$$

Preparación curva de calibrado (ejemplo de la concentración de 10.49 mg / L)

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

$$V_1 = \frac{C_2 V_2}{C_1}$$

$$V_1 = \frac{10.49 \text{ mg/L} * 2 \text{ mL}}{104.94 \text{ mg/L}} = 0.200 \text{ mL}$$

Alícuota (mL)	Aforo (mL)	C (mg/L)	Abs	
0.000	2	0.000	0.098	Pendiente
0.200	2	10.494	0.294	0.017
0.400	2	20.988	0.470	Intersección
0.600	2	31.482	0.646	0.108
0.800	2	41.976	0.823	Coef.Corr
1.000	2	52.470	0.995	0.999

Cálculo de concentración para muestras (ejemplo: mango muestra 1 con HCl)

Humedad de la muestra = 7.08 %

$$Y = ax + b$$

Y = absorbancia

a = pendiente

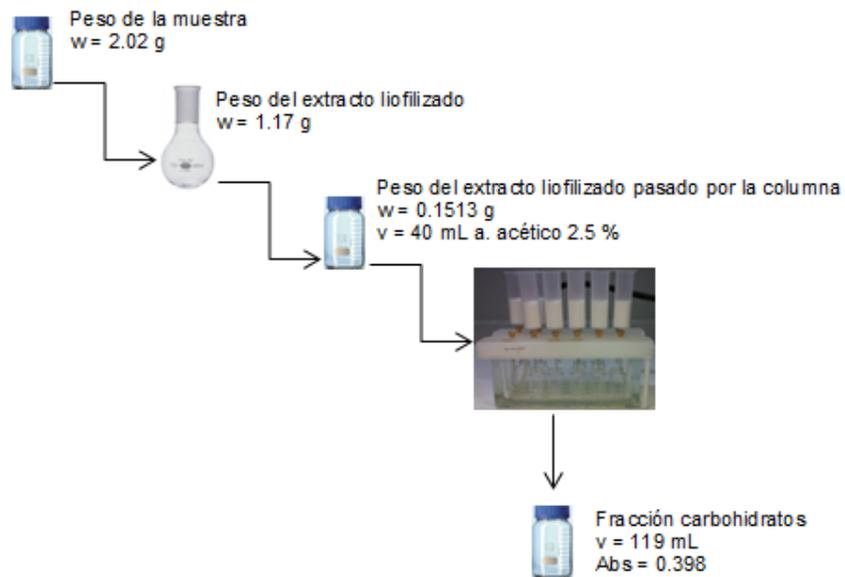
x = concentración

b = intersección

$$x = \frac{y - b}{a}$$

$$x = \frac{0.398 - 0.108}{0.017} \quad (\text{datos de absorbancia en anexo D10})$$

$$x = 17.04 \text{ mg/L}$$



$$17.04 \text{ mg} \rightarrow 1000 \text{ mL}$$

$$x \leftarrow 2 \text{ mL}$$

$$x = 0.034 \text{ mg}$$

$$0.034 \text{ mg} \rightarrow 0.05 \text{ mL}$$

$$x \leftarrow 119 \text{ mL}$$

$$x = 81.11 \text{ mg glucosa/g extracto}$$

$$81.11 \text{ mg} \rightarrow 0.1513 \text{ g}$$

$$x \leftarrow 1.17 \text{ g}$$

$$x = 627.22 \text{ mg}$$

$$627.22 \text{ mg} \rightarrow 2.02 \text{ g}$$

$$x \leftarrow 100 \text{ g}$$

$$x = 31050.75 \text{ mg glucosa/100 g muestra}$$

$$1 \text{ g} \rightarrow 1000 \text{ mg}$$

$$x \leftarrow 31050.75 \text{ mg}$$

$$x = 31.05 \text{ g glucosa} / 100 \text{ g muestra}$$

$$31.05 \text{ g} \rightarrow (100 - 7.08)\%$$

$$x \leftarrow 100\%$$

$$x = 33.42 \text{ g glucosa} / 100 \text{ g muestra BS}$$

Anexo C 10. Balance de carbohidratos

Antes de la purificación = 800.52 mg glucosa/ extracto bruto

Después de la purificación = 7.84 mg glucosa/ extracto bruto

Fracción azúcares = 81.11 mg glucosa/ extracto bruto

Extracto que se pasa por la columna = 0.1513 g

Residuo no purificado = 1.17 g

$$1.17 \text{ g} \rightarrow 800.52 \text{ mg}$$

$$0.1513 \text{ g} \leftarrow x$$

$$x = 103.52 \text{ mg glucosa/ extracto bruto}$$

$$81.11 \text{ mg} + 7.84 \text{ mg} = 88.95 \approx 104.15$$

$$103.52 \text{ mg} - 88.95 \text{ mg} = 14.57 \text{ mg de pérdida}$$

Anexo C 11. Actividad antioxidante antes del proceso de purificación

Curva de calibración:

Preparación de la solución madre

$$w \text{ trólox} = 0.00263 \text{ g}$$

$$\text{Riqueza} = 99 \%$$

$$\text{Aforo} = 10 \text{ mL}$$

$$\text{Peso molecular} = 250.29 \text{ g/mol}$$

$$C = \frac{(\text{masa} * \text{riqueza})}{\text{volumen}}$$

$$C = \frac{(0.00263 \text{ g} * 0.99)}{10 \text{ mL}}$$

$$C = 0.000260 \text{ g/mL} = 0.26 \text{ mg/mL}$$

$$C = \frac{(0.26 * 1000000)}{250.29} = 1040.27 \mu\text{M}$$

Preparación curva de calibrado (ejemplo de la concentración de 26.007 mg / L)

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

$$V_1 = \frac{C_2 V_2}{C_1}$$

$$V_1 = \frac{26.07 (\mu\text{M}) * 5 \text{ mL}}{1040.27(\mu\text{M})} = 0.125 \text{ mL}$$

Alicuota (mL)	Aforo (mL)	C (μM)	Absorbancia	
0.000	5	0.000	1.028	Pendiente
0.125	5	26.007	1.015	-0.001
0.760	5	158.122	0.772	Intersección
1.500	5	312.082	0.563	1.041
2.260	5	470.204	0.312	Coef.Corr
3.000	5	624.164	0.035	-0.999

Cálculo de concentración para muestras (ejemplo: mango muestra 1 con HCl, método ABTS)

$$\text{Humedad de la muestra} = 7.08 \%$$

$$Y = ax + b$$

$$Y = \text{absorbancia}$$

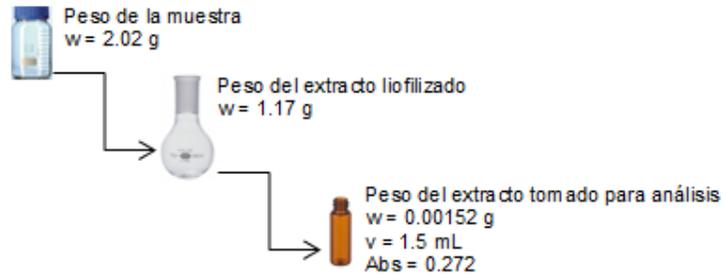
$$a = \text{pendiente}$$

$x = \text{concentración}$

$b = \text{intersección}$

$$x = \frac{y - b}{a}$$

$$x = \frac{0.272 - 1.041}{-0.001} = 485.134 \mu\text{M} \quad (\text{datos de absorbancia en anexo D11})$$



$$485.134 \mu\text{mol} \rightarrow 1000 \text{ mL}$$

$$x \leftarrow 1.5 \text{ mL}$$

$$x = 0.7277 \mu\text{mol}$$

$$0.7277 \mu\text{mol} \rightarrow 0.00152 \text{ g}$$

$$x \leftarrow 1.17 \text{ g}$$

$$x = 560.13 \mu\text{mol}$$

$$560.13 \mu\text{mol} \rightarrow 2.02 \text{ g}$$

$$x \leftarrow 1 \text{ g}$$

$$x = 277.29 \mu\text{mol TE} / \text{g muestra}$$

$$277.29 \mu\text{mol} \rightarrow (100 - 7.08)\%$$

$$x \leftarrow 100\%$$

$$x = 298.42 \mu\text{mol TE} / \text{g muestra BS}$$

Anexo C 12. Actividad antioxidante después del proceso de purificación

Curva de calibración:

Preparación de la solución madre

$$w \text{ trólox} = 0.02528 \text{ g} = 0.2502 \text{ mg}$$

$$\text{Riqueza} = 99 \%$$

$$\text{Aforo} = 100 \text{ mL}$$

$$\text{Peso molecular} = 250.29 \text{ g/mol}$$

$$C = \frac{(\text{masa} * \text{riqueza})}{\text{volumen}}$$

$$C = \frac{(0.02528 \text{ g} * 0.99)}{100 \text{ mL}}$$

$$C = 0.0002502 \text{ g/mL} = 0.2502 \text{ mg/mL}$$

$$C = \frac{(0.2502 * 1000000)}{250.29} = 999.92 \text{ } \mu\text{M}$$

Preparación curva de calibrado (ejemplo de la concentración de 24.99 mg / L)

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

$$V_1 = \frac{C_2 V_2}{C_1}$$

$$V_1 = \frac{24.99 (\mu\text{M}) * 10 \text{ mL}}{999.92(\mu\text{M})} = 0.250 \text{ mL}$$

Alícuota (mL)	Aforo (mL)	C (μM)	Absorbancia	
0.000	10	0.000	1.030	Pendiente
0.250	10	24.998	0.949	-0.001
1.500	10	149.989	0.741	Intersecto
3.000	10	299.978	0.683	1.024
4.500	10	449.968	0.347	Coef.Corr
6.000	10	599.957	0.025	-0.983

Cálculo de concentración para muestras (ejemplo: mango muestra 1 con HCl, método ABTS)

$$\text{Humedad de la muestra} = 7.08 \%$$

$$Y = ax + b$$

$Y = \text{absorbancia}$

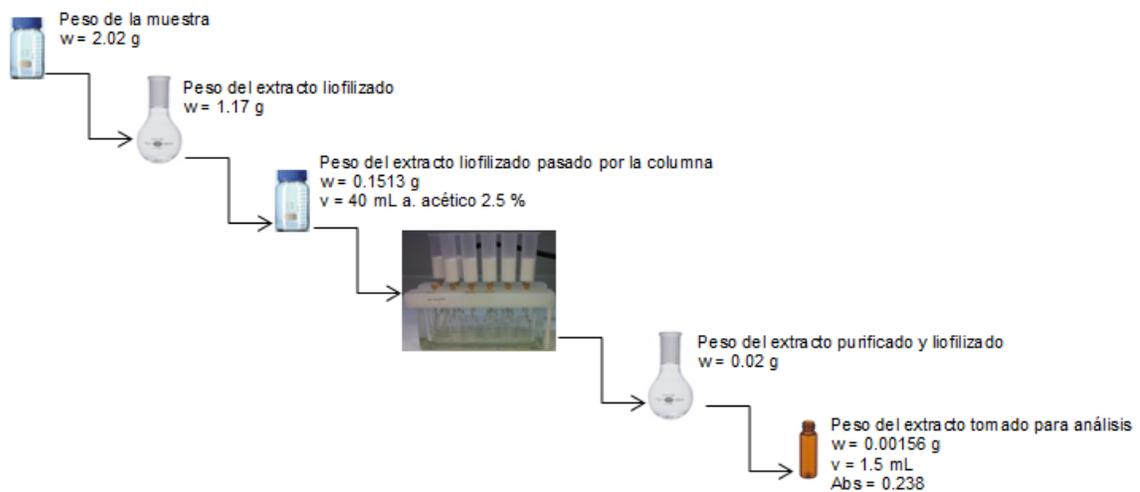
$a = \text{pendiente}$

$x = \text{concentración}$

$b = \text{intersección}$

$$x = \frac{y - b}{a}$$

$$x = \frac{0.238 - 1.024}{-0.001} = 505.45 \mu\text{M} \quad (\text{datos de absorbancia en anexo D11})$$



Luego de pesar 0.00156 g de extracto purificado y aforar en 1.5 mL de metanol, se tomaron 38 μL y se aforaron con 150 μL de metanol a fin de diluir más la muestra.

$$505.45 \mu\text{mol} \rightarrow 1000000 \mu\text{L}$$

$$x \leftarrow 150 \mu\text{L}$$

$$x = 0.0758 \mu\text{mol}$$

$$0.0758 \mu\text{mol} \rightarrow 38 \mu\text{L}$$

$$x \leftarrow 1500 \mu\text{L}$$

$$x = 2.99 \mu\text{mol}$$

$$2.99 \mu\text{mol} \rightarrow 0.00156 \text{ g}$$

$$x \leftarrow 0.02 \text{ g}$$

$$x = 38.37 \mu\text{mol}$$

$$38.37 \mu\text{mol} \rightarrow 0.1513 \text{ g}$$

$$x \leftarrow 1.17 \text{ g}$$

$$x = 296.71 \mu\text{mol}$$

$$296.71 \mu\text{mol} \rightarrow 2.02 \text{ g}$$

$$x \leftarrow 1 \text{ g}$$

$$x = 146.88 \mu\text{mol TE} / \text{g muestra}$$

$$146.88 \mu\text{mol} \rightarrow (100 - 7.08) \%$$

$$x \leftarrow 100 \%$$

$$x = 158.07 \mu\text{mol TE} / \text{g muestra B}$$

Anexo C 13. Antiinflamatorios antes del proceso de purificación

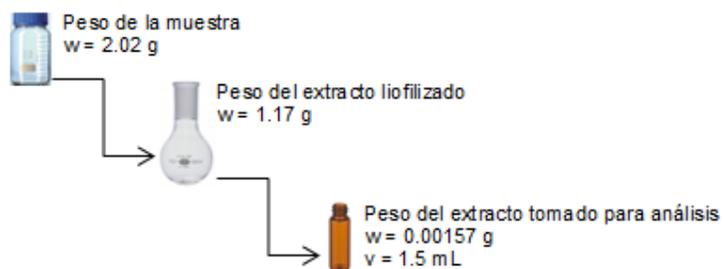
Ejemplo: mango muestra 1 con HCl

$$Abs \text{ blanco} = 0.222$$

$$Abs \text{ muestra} = 0.247$$

Ver valores de absorbancia en anexo D14

$$Actividad \text{ de la lipoxigenasa} = \frac{(Abs \text{ muestra} - Abs \text{ blanco})}{(9.47 \text{ mM}^{-1} * 5 \text{ min.})} * \frac{0.21 \text{ mL}}{0.09 \text{ mL}}$$



Luego de pesar 0.00157 g de extracto purificado y aforar en 1.5 mL de metanol, se tomaron $60 \mu\text{L}$ y se aforaron con $1000 \mu\text{L}$ de metanol a fin de diluir más la muestra.

$$\frac{(0.247 - 0.222) * 0.21}{(9.47 \text{ mM}^{-1} * 5 \text{ min.})} \rightarrow (0.09 \text{ mL})$$

$$x \leftarrow 1 \text{ mL}$$

$$x = 0.00123 \mu\text{mol/min}$$

$$0.00123 \mu\text{mol/min} \rightarrow 60 \mu\text{L}$$

$$x \leftarrow 1500 \mu\text{L}$$

$$x = 0.0307 \mu\text{mol/min}$$

$$0.0307 \mu\text{mol/min} \rightarrow 0.00157 \text{ g}$$

$$x \leftarrow 1.17 \text{ g}$$

$$x = 22.95 \mu\text{mol/min}$$

$$22.95 \mu\text{mol/min} \rightarrow 2.02 \text{ g}$$

$$x \leftarrow 1 \text{ g}$$

$$x = 11.36 \mu\text{mol/min/g de muestra}$$

Anexo C 14. Antiinflamatorios después del proceso de purificación

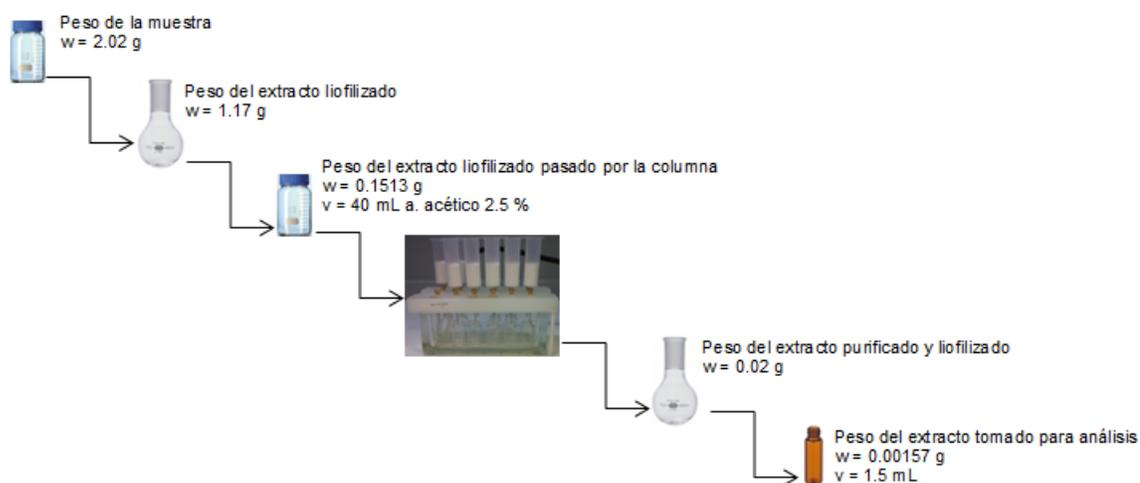
Ejemplo: mango muestra 1 con HCl

Abs blanco = 0.196

Abs muestra = 0.234

Ver valores de absorbancia en anexo D14

$$\text{Actividad de la lipoxigenasa} = \frac{(\text{Abs muestra} - \text{Abs blanco})}{(9.47 \text{ mM}^{-1} * 5 \text{ min.})} * \frac{0.21 \text{ mL}}{0.09 \text{ mL}}$$



Luego de pesar 0.00157 g de extracto purificado y aforar en 1.5 mL de metanol, se tomaron 70 μL y se aforaron con 1000 μL de metanol a fin de diluir más la muestra.

$$\frac{(0.234 - 0.196) * 0.21}{(9.47 \text{ mM}^{-1} * 5 \text{ min.})} \rightarrow (0.09 \text{ mL})$$

$$x \leftarrow 1 \text{ mL}$$

$$x = 0.00187 \mu\text{mol/min}$$

$$0.00187 \mu\text{mol/min} \rightarrow 70 \mu\text{L}$$

$$x \leftarrow 1500 \mu\text{L}$$

$$x = 0.040 \mu\text{mol/min}$$

$$0.040 \mu\text{mol}/\text{min} \rightarrow 0.00157 \text{ g}$$

$$x \leftarrow 0.02 \text{ g}$$

$$x = 0.511 \mu\text{mol}/\text{min}$$

$$0.511 \mu\text{mol}/\text{min} \rightarrow 0.1513 \text{ g}$$

$$x \leftarrow 1.17 \text{ g}$$

$$x = 3.95 \mu\text{mol}/\text{min}$$

$$3.95 \mu\text{mol}/\text{min} \rightarrow 2.02 \text{ g}$$

$$x \leftarrow 1 \text{ g}$$

$$x = 1.96 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{g de muestra}$$

ANEXO D

DATOS

Anexo D 1. Rendimiento de extracción guayaba

Rendimiento de extracción guayaba antes y después del proceso de purificación

Ácidos	Rendimiento antes de la purificación			Rendimiento después de la purificación		
	Muestra (g)	Extracto no purificado (g)	Rendimiento de extracción (%)	Extracto no purificado pasado por la columna (g)	Extracto purificado (g)	Rendimiento de extracción (%)
1 - HCL	2.00	0.59	31.33	0.1507	0.03	10.54
2 - HCL	2.00	0.56	29.69	0.1512	0.03	10.51
3 - HCL	2.01	0.55	28.76	0.1510	0.03	10.39
1 - Sin Acido	4.03	0.69	18.04	0.1503	0.02	3.50
2 - Sin Acido	4.03	0.75	19.78	0.1510	0.02	3.48
3 - Sin Acido	4.04	0.65	17.02	0.1502	0.02	3.47
1 - A. acético	4.03	1.10	28.95	0.1509	0.02	3.48
2 - A. acético	4.05	1.05	27.53	0.1500	0.02	3.49
3 - A. acético	2.01	0.54	28.07	0.1497	0.02	6.99
1 - A. cítrico	2.02	10.90	16.99	3.0143	0.06	1.04
2 - A. cítrico	2.03	10.85	14.48	3.0125	0.04	0.69
3 - A. cítrico	2.02	10.86	15.09	3.0117	0.05	0.86

Anexo D 2. Fenoles totales guayaba

Fenoles totales guayaba antes y después del proceso de purificación

Curva de calibración antes de la purificación			Curva de calibración después de la purificación		
C (mg/mL)	Absorbancia	Ajuste	C (mg/ml)	Absorbancia	Ajuste
0.000	0.027	Pendiente	0.000	0.005	Pendiente
0.010	0.095	5.000	0.010	0.090	4.856
0.020	0.120	Intersección	0.020	0.115	Intersección
0.040	0.214	0.024	0.040	0.205	0.018
0.0601	0.298	Coef.Corr	0.061	0.319	Coef.Corr
0.0801	0.433	0.996	0.081	0.423	0.997
0.1001	0.539		0.102	0.511	

Muestra	Lectura de muestras antes de la purificación				Lectura de muestras después de la purificación			
	Abs	C (mg/mL)	mg GAE /100 g muestra BS	mg GAE /100 g muestra BH	Abs	C (mg/mL)	mg GAE /100 g muestra BS	mg GAE /100 g muestra BH
1 - HCL	0.317	0.058	1700.36	543.10	0.189	0.035	833	266
2 - HCL	0.377	0.070	1894.96	605.25	0.171	0.031	713	228
3 - HCL	0.269	0.048	1235.61	394.65	0.191	0.036	782	250
1 - Sin Acido	0.342	0.063	964.26	307.99	0.471	0.093	878	280
2 - Sin Acido	0.332	0.061	1068.72	341.35	0.523	0.104	1068	341
3 - Sin Acido	0.343	0.064	885.17	282.72	0.510	0.101	906	289
1 - A. acético	0.363	0.068	1907.08	609.12	0.375	0.073	1091	348
2 - A. acético	0.321	0.059	1370.26	437.66	0.422	0.083	1151	368
3 - A. acético	0.295	0.054	1387.13	443.05	0.396	0.078	1136	363
1 - A. cítrico	0.322	0.063	1668.37	532.88	0.202	0.038	579	185
2 - A. cítrico	0.312	0.061	1613.31	515.29	0.206	0.039	200	64
3 - A. cítrico	0.300	0.058	1558.32	497.73	0.202	0.038	382	122

Fenoles totales guayaba fracción azúcares

Curva de calibración fracción azúcares		
C (mg/ml)	Absorbancia	Ajuste
0.000	0.016	Pendiente
0.010	0.094	5.488
0.020	0.155	Intersección
0.040	0.275	0.036
0.060	0.367	Coef.Corr
0.080	0.473	0.998
0.100	0.579	

Muestra	Lectura de muestras fracción azúcares			
	Abs	C (mg/mL)	mg GAE /100 g muestra BS	mg GAE /100 g muestra BH
1 - HCL	0.108	0.013	331.4	105.9
2 - HCL	0.128	0.017	383.9	122.6
3 - HCL	0.096	0.011	248.7	79.4
1 - Sin Acido	0.054	0.003	45.00	14.4
2 - Sin Acido	0.041	0.001	12.60	4.0
3 - Sin Acido	0.048	0.002	28.30	9.0
1 - A. acético	0.115	0.014	335.7	107.2
2 - A. acético	0.090	0.010	215.5	68.8
3 - A. acético	0.098	0.011	240.3	76.8
1 - A. cítrico	0.146	0.020	328.5	104.9
2 - A. cítrico	0.160	0.023	366.8	117.2
3 - A. cítrico	0.173	0.025	435.4	139.1

Anexo D 3. Carbohidratos totales guayaba

Carbohidratos totales guayaba antes y después del proceso de purificación

Curva de calibración antes y después de la purificación		
C (mg/L)	Absorbancia	Ajuste
0.000	0.099	Pendiente
10.276	0.245	0.018
20.552	0.471	Intersección
30.828	0.659	0.081
41.104	0.865	Coef.Corr
51.381	1.034	0.998

Muestra	Lectura de muestras antes de la purificación				Lectura de muestras después de la purificación			
	Abs	C (mg/L)	g glucosa /100 g muestra BS	g glucosa /100 g muestra BH	Abs	C (mg/L)	g glucosa /100 g muestra BS	g glucosa /100 g muestra BH
1 - HCL	0.648	30.28	18.483	5.90	0.416	17.87	1.49	0.47
2 - HCL	0.663	31.08	17.633	5.63	0.409	17.50	1.37	0.44
3 - HCL	0.664	31.14	17.114	5.47	0.407	17.39	1.32	0.42
1 - Sin Acido	0.877	42.53	14.947	4.77	0.705	33.33	1.01	0.32
2 - Sin Acido	0.876	42.48	15.95	5.09	0.662	31.03	1.07	0.34
3 - Sin Acido	0.939	45.85	15.606	4.98	0.708	33.49	0.97	0.31
1 - A. acético	0.671	31.51	17.323	5.53	0.653	30.55	1.56	0.50
2 - A. acético	0.711	33.65	17.817	5.69	0.612	28.36	1.39	0.44
3 - A. acético	0.672	31.57	16.824	5.37	0.681	32.05	1.57	0.50
1 - A. cítrico	0.985	48.31	18.238	5.44	0.792	37.99	2.76	0.88
2 - A. cítrico	0.998	49.01	15.458	4.51	0.896	43.55	1.10	0.35
3 - A. cítrico	0.989	48.53	15.954	4.81	0.865	41.89	2.01	0.64

Carbohidratos totales guayaba fracción azúcares

Curva de calibración fracción azúcares		
C (mg/L)	Absorbancia	Ajuste
0.000	0.098	Pendiente
10.494	0.294	0.017
20.988	0.470	Intersección
31.482	0.646	0.108
41.976	0.823	Coef.Corr
52.470	0.995	0.999

Muestra	Lectura de muestras fracción azúcares			
	Abs	C (mg/mL)	g glucosa /100 g muestra BS	g glucosa /100 g muestra BH
1 - HCL	0.571	27.21	13.81	4.41
2 - HCL	0.589	28.27	12.99	4.15
3 - HCL	0.591	28.39	12.98	4.15
1 - Sin Acido	0.819	41.79	11.64	3.72
2 - Sin Acido	0.813	41.44	12.16	3.88
3 - Sin Acido	0.887	45.79	12.14	3.88
1 - A. acético	0.636	31.04	14.53	4.64
2 - A. acético	0.703	34.97	15.40	4.92
3 - A. acético	0.657	32.27	13.79	4.41
1 - A. cítrico	0.658	32.33	14.57	4.66
2 - A. cítrico	0.633	30.86	13.22	4.22
3 - A. cítrico	0.607	29.33	13.10	4.19
Humedad inicial	68 %			
Humedad final	5.5 %			

Anexo D 4. ABTS guayaba

ABTS guayaba antes y después del proceso de purificación

Curva de calibración antes de la purificación			Curva de calibración después de la purificación		
C (μmol)	Absorbancia	Ajuste	C (μM)	Absorbancia	Ajuste
0.000	1.035	Pendiente	0.000	1.030	Pendiente
26.996	1.028	-0.001	24.998	0.949	-0.001
164.134	0.768	Intersección	149.989	0.741	Intersección
323.948	0.542	1.049	299.978	0.683	1.024
488.082	0.321	Coef.Corr	449.968	0.347	Coef.Corr
647.896	0.001	-0.997	599.957	0.025	-0.983

Muestra	Lectura de muestras antes de la purificación				Lectura de muestras después de la purificación			
	Abs	C (μM)	μmol TE /g muestra BS	μmol TE /g muestra BH	Abs	C (μM)	μmol TE /g muestra BS	μmol TE /g muestra BH
1 - HCL	0.384	422	122.88	39.25	0.579	286	67.8	21.7
2 - HCL	0.251	507	136.31	43.54	0.567	294	66.6	21.3
3 - HCL	0.198	540	136.71	43.66	0.549	306	67.2	21.4
1 - Sin Acido	0.245	510	125.57	40.11	0.055	623	58.6	18.7
2 - Sin Acido	0.182	550	166.60	53.21	0.043	631	64.8	20.7
3 - Sin Acido	0.209	533	119.41	38.14	0.037	634	56.7	18.1
1 - A. acético	0.193	543	153.24	48.94	0.085	604	89.6	28.6
2 - A. acético	0.209	533	123.37	39.40	0.077	609	84.3	26.9
3 - A. acético	0.252	506	129.91	41.49	0.091	600	87.6	28.0
1 - A. cítrico	0.639	260	100.31	32.04	0.567	294	58.0	18.5
2 - A. cítrico	0.589	292	127.67	40.78	0.569	293	19.3	6.2
3 - A. cítrico	0.665	244	91.49	29.22	0.574	290	37.7	12.0

Anexo D 5. DPPH guayaba

DPPH guayaba antes y después del proceso de purificación

Curva de calibración antes de la purificación			Curva de calibración después de la purificación		
C (µM)	Absorbancia	Ajuste	C (µM)	Absorbancia	Ajuste
0.000	0.985	Pendiente	0.000	0.985	Pendiente
24.524	0.935	-0.000917	25.077	0.906	-0.001057
149.103	0.779	Intersección	150.464	0.791	Intersección
294.283	0.667	0.951	300.928	0.615	0.951
443.386	0.540	Coef.Corr	451.392	0.471	Coef.Corr
588.565	0.414	-0.996	601.855	0.318	-0.998
784.754	0.245		802.474	0.112	

Muestra	Lectura de muestras antes de la purificación				Lectura de muestras después de la purificación			
	Abs	C (µM)	µmol TE /g muestra BS	µmol TE /g muestra BH	Abs	C (µM)	µmol TE /g muestra BS	µmol TE /g muestra BH
1 - HCL	0.348	658.107	191.52	61.17	0.589	343.306	81.27	25.96
2 - HCL	0.146	878.431	236.35	75.49	0.678	259.111	58.68	18.74
3 - HCL	0.161	862.071	218.14	6967	0.528	401.012	88.11	28.14
1 - Sin Acido	0.180	841.347	127.90	40.85	0.142	766.169	72.12	23.03
2 - Sin Acido	0.208	810.807	141.06	45.05	0.115	791.711	81.31	25.97
3 - Sin Acido	0.142	882.794	122.81	39.23	0.121	786.035	70.31	22.46
1 - A. acético	0.318	690.828	194.81	62.22	0.153	755.763	112.23	35.85
2 - A. acético	0.230	786.811	182.03	58.14	0.115	791.711	109.59	35.00
3 - A. acético	0.360	645.018	165.60	52.89	0.126	781.305	114.12	36.45
1 - A. cítrico	0.788	178.192	99.64	31.83	0.595	337.630	54.80	17.50
2 - A. cítrico	0.785	181.464	111.71	35.68	0.589	343.306	18.76	5.99
3 - A. cítrico	0.795	170.557	51.54	16.46	0.603	330.062	35.13	11.22

Anexo D 6. FRAP guayaba

FRAP guayaba antes y después del proceso de purificación

Curva de calibración antes de la purificación			Curva de calibración después de la purificación		
C (µM)	Absorbancia	Ajuste	C (µM)	Absorbancia	Ajuste
0.000	0.107	Pendiente	0.000	0.130	Pendiente
25.70	0.179	0.002	24.998	0.253	0.002
156.3	0.398	Intersección	149.98	0.408	Intersección
308.5	0.705	0.095	299.97	0.690	0.133
464.8	0.968	Coef.Corr	449.96	1.044	Coef.Corr
623.3	1.291	0.996	599.95	1.371	0.997
734.6	1.653		799.94	1.794	R ²

Muestra	Lectura de muestras antes de la purificación				Lectura de muestras después de la purificación			
	Abs	C (µM)	µmol TE /g muestra BS	µmol TE /g muestra BH	Abs	C (µM)	µmol TE /g muestra BS	µmol TE /g muestra BH
1 - HCL	1.078	490.593	142.77	45.60	0.558	207.615	49.15	15.70
2 - HCL	1.284	593.446	159.67	51.00	0.551	204.195	46.24	14.77
3 - HCL	1.282	592.448	149.92	47.88	0.62	237.903	52.27	16.70
1 - Sin Acido	1.087	495.086	75.26	24.04	1.472	654.127	61.57	19.67
2 - Sin Acido	1.182	542.519	94.39	30.15	1.572	702.980	72.20	23.06
3 - Sin Acido	1.284	593.446	82.56	26.37	1.555	694.675	62.14	19.85
1 - A. acético	0.949	426.184	120.18	38.39	1.130	487.051	72.32	23.10
2 - A. acético	1.147	525.044	121.47	38.80	1.150	496.822	68.77	21.96
3 - A. acético	0.858	380.749	97.75	31.22	1.201	521.737	76.21	24.34
1 - A. cítrico	0.445	174.542	40.60	12.97	0.517	187.585	39.85	12.73
2 - A. cítrico	0.45	177.039	41.26	13.18	0.539	198.333	14.11	4.51
3 - A. cítrico	0.394	149.079	34.58	11.05	0.527	192.470	27.01	8.63

Anexo D 7. Antiinflamatorios guayaba

Antiinflamatorios guayaba antes y después del proceso de purificación

Muestra	Lectura de muestras antes de la purificación			Lectura de muestras después de la purificación		
	Abs muestra	Abs blanco	Actividad de la lipoxigenasa $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ de muestra	Abs muestra	Abs blanco	Actividad de la lipoxigenasa $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ de muestra
1 - HCL	0.340	0.158	30.82	0.247	0.179	3.59
2 - HCL	0.345	0.158	29.26	0.260	0.179	4.04
3 - HCL	0.338	0.158	26.69	0.262	0.179	4.04
1 - Sin Acido	0.323	0.158	15.75	0.208	0.179	0.38
2 - Sin Acido	0.321	0.158	19.13	0.203	0.179	0.36
3 - Sin Acido	0.325	0.158	22.50	0.199	0.179	0.25
1 - A. acético	0.331	0.158	28.39	0.223	0.172	1.30
2 - A. acético	0.325	0.158	22.47	0.232	0.222	0.24
3 - A. acético	0.245	0.158	13.09	0.238	0.222	0.39
1 - A. cítrico	0.273	0.158	18.96	0.258	0.179	2.51
2 - A. cítrico	0.242	0.158	13.83	0.262	0.179	0.91
3 - A. cítrico	0.304	0.158	25.11	0.253	0.179	1.57

Anexo D 8. Rendimiento de extracción mango

Rendimiento de extracción mango antes y después del proceso de purificación

Ácidos	Rendimiento antes de la purificación			Rendimiento después de la purificación		
	Muestra (g)	Extracto no purificado (g)	Rendimiento de extracción (%)	Extracto no purificado pasado por la columna (g)	Extracto purificado (g)	Rendimiento de extracción (%)
1 - HCL	2.02	1.17	62.1	0.1513	2.02	8.2
2 - HCL	2.00	1.17	62.9	0.1512	2.00	8.3
3 - HCL	2.00	0.89	48.1	0.1516	2.00	6.3
1 - Sin Acido	2.03	1.06	55.9	0.1516	2.03	11.1
2 - Sin Acido	2.02	1.07	57.1	0.1517	2.02	11.3
3 - Sin Acido	2.01	1.03	55.3	0.1513	2.01	11.0
1 - A. acético	2.01	1.04	55.7	0.1502	2.01	11.1
2 - A. acético	2.02	1.04	55.3	0.1506	2.02	11.0
3 - A. acético	2.01	1.03	55.1	0.1506	2.01	11.0
1 - A. cítrico	2.02	12.60	56.7	3.0026	2.02	1.1
2 - A. cítrico	2.03	12.82	68.1	3.0067	2.03	1.8
3 - A. cítrico	2.02	12.61	56.9	3.0068	2.02	1.3

Anexo D 9. Fenoles totales mango

Fenoles totales mango antes y después del proceso de purificación

Curva de calibración antes de la purificación			Curva de calibración después de la purificación		
C (mg/mL)	Absorbancia	Ajuste	C (mg/ml)	Absorbancia	Ajuste
0.000	0.005	Pendiente	0.000	0.011	Pendiente
0.010	0.067	4.952	0.010	0.134	5.150
0.020	0.114	Intersección	0.020	0.156	Intersección
0.040	0.223	0.011	0.040	0.243	0.043
0.060	0.285	Coef.Corr	0.060	0.341	Coef.Corr
0.080	0.411	0.997	0.080	0.463	0.993
0.100	0.516		0.100	0.565	

Muestra	Lectura de muestras antes de la purificación				Lectura de muestras después de la purificación			
	Abs	C (mg/mL)	mg GAE /100 g muestra BS	mg GAE /100 g muestra BH	Abs	C (mg/mL)	mg GAE /100 g muestra BS	mg GAE /100 g muestra BH
1 - HCL	0.253	0.049	2994	582	0.386	0.067	1547	300
2 - HCL	0.239	0.046	2764	537	0.416	0.072	1714	333
3 - HCL	0.248	0.048	2169	421	0.398	0.069	1252	243
1 - Sin Acido	0.218	0.042	2246	436	0.401	0.069	2162	420
2 - Sin Acido	0.219	0.042	2305	448	0.407	0.071	2230	433
3 - Sin Acido	0.217	0.042	2166	421	0.403	0.070	2151	418
1 - A. acético	0.298	0.058	3228	627	0.411	0.071	2307	448
2 - A. acético	0.265	0.051	2691	523	0.328	0.055	1768	343
3 - A. acético	0.257	0.050	2629	511	0.41	0.071	2239	435
1 - A. cítrico	0.406	0.080	2568	499	0.309	0.052	923	179
2 - A. cítrico	0.432	0.085	2781	540	0.311	0.052	1579	307
3 - A. cítrico	0.397	0.078	2507	487	0.310	0.052	1203	234

Fenoles totales mango fracción azúcares

Curva de calibración fracción azúcares		
C (mg/ml)	Absorbancia	Ajuste
0.000	0.016	Pendiente
0.010	0.094	5.488
0.020	0.155	Intersecc
0.040	0.275	0.036
0.060	0.367	Coef.Corr
0.080	0.473	0.998
0.100	0.579	

Muestra	Lectura de muestras fracción azúcares			
	Abs	C (mg/mL)	mg GAE /100 g muestra BS	mg GAE /100 g muestra BH
1 - HCL	0.116	0.015	709.93	137.87
2 - HCL	0.115	0.014	703.88	136.69
3 - HCL	0.131	0.017	651.30	126.48
1 - Sin Acido	0.046	0.002	77.12	14.98
2 - Sin Acido	0.045	0.002	70.62	13.72
3 - Sin Acido	0.038	0.000	13.63	2.65
1 - A. acético	0.140	0.019	827.46	160.69
2 - A. acético	0.129	0.017	738.21	143.36
3 - A. acético	0.078	0.008	325.33	63.18
1 - A. cítrico	0.165	0.023	468.28	90.94
2 - A. cítrico	0.170	0.024	498.39	96.79
3 - A. cítrico	0.172	0.025	489.78	95.11

Anexo D 10. Carbohidratos totales mango

Carbohidratos totales mango antes y después del proceso de purificación

Curva de calibración antes y después de la purificación		
C (mg/L)	Absorbancia	Ajuste
0.000	0.099	Pendiente
10.276	0.245	0.018
20.552	0.471	Intersección
30.828	0.659	0.081
41.104	0.865	Coef.Corr
51.381	1.034	0.998

Muestra	Lectura de muestras antes de la purificación				Lectura de muestras después de la purificación			
	Abs	C (mg/L)	g glucosa /100 g muestra BS	g glucosa /100 g muestra BH	Abs	C (mg/L)	g glucosa /100 g muestra BS	g glucosa /100 g muestra BH
1 - HCL	0.245	8.72	42.79	8.3	0.274	10.27	3.2	0.6
2 - HCL	0.230	7.92	38.80	7.5	0.298	11.56	3.7	0.7
3 - HCL	0.248	8.88	33.50	6.5	0.276	10.38	3.3	0.6
1 - Sin Acido	0.427	18.46	41.30	8.0	0.223	7.55	3.2	0.6
2 - Sin Acido	0.444	19.37	41.80	8.1	0.366	15.20	6.6	1.3
3 - Sin Acido	0.413	17.71	38.90	7.6	0.252	9.10	3.9	0.8
1 - A. acético	0.394	16.69	36.00	7.0	0.306	11.99	5.1	1.0
2 - A. acético	0.438	19.05	41.00	8.0	0.302	11.77	5.0	1.0
3 - A. acético	0.435	18.89	39.80	7.7	0.268	9.95	4.3	0.8
1 - A. cítrico	0.601	27.77	42.60	8.3	0.383	16.11	4.2	0.8
2 - A. cítrico	0.592	27.29	39.40	7.7	0.263	9.69	4.4	0.8
3 - A. cítrico	0.589	27.13	40.80	7.9	0.222	7.49	2.7	0.5

Continuación anexo D10

Carbohidratos totales mango fracción azúcares

Curva de calibración fracción azúcares		
C (mg/L)	Absorbancia	Ajuste
0.000	0.098	Pendiente
10.494	0.294	0.017
20.988	0.470	Intersección
31.482	0.646	0.108
41.976	0.823	Coef.Corr
52.470	0.995	0.999

Muestra	Lectura de muestras fracción azúcares			
	Abs	C (mg/mL)	g glucosa /100 g muestra BS	g glucosa /100 g muestra BH
1 - HCL	0.398	17.04	33.32	6.47
2 - HCL	0.346	13.99	27.46	5.33
3 - HCL	0.375	15.69	23.69	4.60
1 - Sin Acido	0.434	19.16	33.37	6.48
2 - Sin Acido	0.407	17.57	31.24	6.07
3 - Sin Acido	0.403	17.34	30.14	5.85
1 - A. acético	0.358	14.69	25.74	5.00
2 - A. acético	0.412	17.87	31.23	6.07
3 - A. acético	0.414	17.99	30.79	5.98
1 - A. cítrico	0.664	32.68	35.37	6.87
2 - A. cítrico	0.661	32.51	35.57	6.91
3 - A. cítrico	0.653	32.04	33.77	6.56

Anexo D 11. ABTS mango

ABTS mango antes y después del proceso de purificación

Curva de calibración antes de la purificación			Curva de calibración después de la purificación		
C (μM)	Absorbancia	Ajuste	C (μM)	Absorbancia	Ajuste
0.000	1.028	Pendiente	0.000	1.030	Pendiente
26.007	1.015	-0.001	24.998	0.949	-0.001
158.122	0.772	Intersección	149.989	0.741	Intersección
312.082	0.563	1.041	299.978	0.683	1.024
470.204	0.312	Coef.Corr	449.968	0.347	Coef.Corr
624.164	0.035	-0.999	599.957	0.025	-0.983

Muestra	Lectura de muestras antes de la purificación				Lectura de muestras después de la purificación			
	Abs	C (μM)	μmol TE /g muestra BS	μmol TE /g muestra BH	Abs	C (μM)	μmol TE /g muestra BS	μmol TE /g muestra BH
1 - HCL	0.272	485.134	297.52	57.78	0.238	505.302	157.55	30.60
2 - HCL	0.270	486.396	292.23	56.75	0.224	514.291	164.48	31.94
3 - HCL	0.278	481.35	218.33	42.40	0.221	516.217	123.49	23.98
1 - Sin Acido	0.098	594.891	319.99	62.14	0.034	636.283	279.91	54.36
2 - Sin Acido	0.114	584.798	321.29	62.39	0.037	634.357	282.94	54.95
3 - Sin Acido	0.110	587.321	306.13	59.45	0.039	633.073	273.77	53.17
1 - A. acético	0.246	501.535	279.54	54.29	0.075	609.958	252.87	49.11
2 - A. acético	0.289	474.411	249.08	48.37	0.041	631.789	262.49	50.98
3 - A. acético	0.219	518.566	274.69	53.34	0.040	632.431	260.09	50.51
1 - A. cítrico	0.107	589.214	181.25	35.20	0.264	488.608	118.67	23.05
2 - A. cítrico	0.135	571.552	177.79	34.53	0.257	493.103	201.98	39.22
3 - A. cítrico	0.115	584.167	179.50	34.86	0.321	452.011	145.14	28.19

Anexo D 12. DPPH mango

DPPH mango antes y después del proceso de purificación

Curva de calibración antes de la purificación			Curva de calibración después de la purificación		
C (μM)	Absorbancia	Ajuste	C (μM)	Absorbancia	Ajuste
0.000	0.950	Pendiente	0.000	0.985	Pendiente
24.524	0.937	-0.0009	25.077	0.906	-0.001057
149.103	0.783	Intersección	150.464	0.791	Intersección
294.283	0.675	0.944	300.928	0.615	0.951
443.386	0.557	Coef.Corr	451.392	0.471	Coef.Corr
588.565	0.423	-0.998	601.855	0.318	-0.998
784.754	0.233		802.474	0.112	

Muestra	Lectura de muestras antes de la purificación				Lectura de muestras después de la purificación			
	Abs	C (μM)	$\mu\text{mol TE /g}$ muestra BS	$\mu\text{mol TE /g}$ muestra BH	Abs	C (μM)	$\mu\text{mol TE /g}$ muestra BS	$\mu\text{mol TE /g}$ muestra BH
1 - HCL	0.259	762.001	467.31	90.75	0.330	588.320	183.43	35.62
2 - HCL	0.246	776.443	466.49	90.59	0.298	618.593	197.84	38.42
3 - HCL	0.242	780.886	354.19	68.78	0.320	597.780	143.00	27.77
1 - Sin Acido	0.264	756.447	406.89	79.02	0.136	771.845	339.54	65.94
2 - Sin Acido	0.269	750.892	412.54	80.11	0.157	751.979	335.40	65.14
3 - Sin Acido	0.278	740.894	386.18	75.00	0.134	773.737	334.60	64.98
1 - A. acético	0.483	513.162	286.02	55.54	0.115	791.711	328.22	63.74
2 - A. acético	0.429	573.15	300.92	58.44	0.115	791.711	328.94	63.88
3 - A. acético	0.522	469.837	248.88	48.33	0.115	791.711	325.59	63.23
1 - A. cítrico	0.066	976.403	231.49	44.95	0.222	690.489	167.33	32.50
2 - A. cítrico	0.068	974.181	233.93	45.43	0.306	611.024	246.51	47.87
3 - A. cítrico	0.061	981.957	233.25	45.30	0.302	614.809	196.17	38.10

Anexo D 13. FRAP mango

FRAP guayaba antes y después del proceso de purificación

Curva de calibración antes de la purificación			Curva de calibración después de la purificación		
C (μM)	Absorbancia	Ajuste	C (μM)	Absorbancia	Ajuste
0.000	0.154	Pendiente	0.000	0.130	Pendiente
25.710	0.188	0.001764	24.998	0.253	0.002047
156.317	0.395	Intersección	149.989	0.408	Intersecc
308.522	0.693	0.137	299.978	0.690	0.133
464.840	0.945	Coef.Corr	449.967	1.044	Coef.Corr
617.044	1.194	0.999	599.956	1.371	0.997
822.725	1.619		799.942	1.794	

Muestra	Lectura de muestras antes de la purificación				Lectura de muestras después de la purificación			
	Abs	C (μM)	μmol TE /g muestra BS	μmol TE /g muestra BH	Abs	C (μM)	μmol TE /g muestra BS	μmol TE /g muestra BH
1 - HCL	0.822	388.006	238	46.21	0.738	295.549	92.15	17.90
2 - HCL	0.818	385.738	232	45.01	0.805	328.281	104.99	20.39
3 - HCL	0.830	392.541	178	34.58	0.926	387.392	92.67	18.00
1 - Sin Acido	0.980	477.581	257	49.89	1.458	647.288	284.75	55.30
2 - Sin Acido	0.934	451.502	248	48.17	1.586	709.819	316.60	61.48
3 - Sin Acido	1.040	511.596	267	51.79	1.405	621.396	268.72	52.18
1 - A. acético	0.760	352.856	197	38.19	0.864	357.104	148.04	28.75
2 - A. acético	0.865	412.384	217	42.05	0.884	366.874	152.43	29.60
3 - A. acético	0.766	356.258	189	36.65	0.989	418.169	171.97	33.40
1 - A. cítrico	0.435	168.605	56.1	10.89	0.678	266.238	57.31	11.13
2 - A. cítrico	0.439	170.872	57.6	11.19	0.628	241.812	85.67	16.64
3 - A. cítrico	0.426	163.502	54.4	10.56	0.681	267.703	76.84	14.92

Anexo D 14. Antiinflamatorios mango

Antiinflamatorios mango antes y después del proceso de purificación

Muestra	Lectura de muestras antes de la purificación			Lectura de muestras después de la purificación		
	Abs muestra	Abs blanco	Actividad de la lipoxigenasa $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ de muestra	Abs muestra	Abs blanco	Actividad de la lipoxigenasa $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ de muestra
1 - HCL	0.247	0.222	11.36	0.234	0.196	1.96
2 - HCL	0.260	0.222	17.42	0.230	0.196	1.77
3 - HCL	0.262	0.222	18.50	0.235	0.196	2.04
1 - Sin Acido	0.248	0.222	10.54	0.203	0.196	0.48
2 - Sin Acido	0.242	0.222	8.39	0.206	0.196	0.71
3 - Sin Acido	0.191	0.172	7.91	0.198	0.196	0.14
1 - A. acético	0.236	0.222	5.73	0.207	0.196	0.77
2 - A. acético	0.263	0.222	16.53	0.208	0.196	0.83
3 - A. acético	0.248	0.222	10.72	0.228	0.196	2.25
1 - A. cítrico	0.236	0.222	68.97	0.215	0.196	0.80
2 - A. cítrico	0.232	0.222	51.53	0.228	0.196	2.35
3 - A. cítrico	0.229	0.222	35.88	0.198	0.196	0.12