



**UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA**  
*La Universidad Católica de Loja*

## **ÁREA BIOLÓGICA**

TITULACIÓN DE INGENIERO EN INDUSTRIAS AGROPECUARIAS

**Potencial de los subproductos de cacao (*Theobroma cacao* L.) y banano (*Musa sapientum*) como fuente de fibra dietaria antioxidante.**

TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN

**AUTORA:** Espinosa Cumbicus, Johanna Del Cisne

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

LOJA – ECUADOR

2014

## APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN

Mg. Sc.

Jorge Geovanny Figueroa Hurtado.

### DOCENTE DE LA TITULACIÓN

De mi consideración:

El presente trabajo de fin de titulación: “**Potencial de los subproductos de cacao (*Theobroma cacao* L.) y banano (*Musa sapientum*) como fuente de fibra dietaria antioxidante**” realizado por **Espinosa Cumbicus Johanna Del Cisne**, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo.

Loja, marzo del 2014

f) .....

**Mg. Sc. Jorge Geovanny Figueroa Hurtado**

**C.I:**

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo Espinosa Cumbicus Johanna Del Cisne declaro ser autora del presente trabajo de fin de titulación: **“Potencial de los subproductos de cacao (*Theobroma cacao* L.) y banano (*Musa sapientum*) como fuente de fibra dietaria antioxidante”**, de la Titulación de Ingeniero en Industrias Agropecuarias, siendo el Mg. Sc. Jorge Geovanny Figueroa Hurtado director del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 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”**.

Loja, marzo del 2014

f) .....

**Espinosa Cumbicus Johanna Del Cisne**

**C.I: 1103387880**

## DEDICATORIA

### **A Dios**

*Por haberme permitido llegar hasta este punto, fortaleciendo mi corazón e iluminando mi mente cuando a punto de caer he estado y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio, además de su infinita bondad y amor.*

### **A mis padres, Nancy & Luis**

*Por ser la base fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, lo cual me ha ayudado a salir adelante en los momentos más difíciles.*

### **A mi hermana, Talía**

*Por su apoyo para cumplir mis objetivos como persona y estudiante.*

### **A mi novio y amigo, Joffre**

*Por estar siempre presente, apoyando y animándome todos los días, aunque muchas veces no haya sido fácil.*

*Johanna Espinosa*

## **AGRADECIMIENTO**

El presente trabajo de tesis primeramente me gustaría agradecerle a Dios, por hacer realidad este sueño anhelado.

A la *UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA*, porque en sus aulas, recibí el conocimiento intelectual y humano de cada uno de los docentes de la Titulación de Industrias Agropecuarias, marcando así cada etapa de mi camino universitario.

A la Dra. Jara Pérez Jiménez, por aportar con su sapiencia sin interés alguno.

A mi director de tesis, Mg. Sc. Geovanny Figueroa, quien con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y su motivación ayudaron para que pueda terminar mis estudios con éxito.

A la Industria Borja y Asociación Kallari por su apoyo brindado.

A mis amigas y compañeras que han formado parte de mi vida estudiantil, me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía.

*Johanna Espinosa*

## **TABLA DE CONTENIDO**

	<b>Pág.</b>
<b>APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN</b>	<b>II</b>
<b>DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS</b>	<b>III</b>
<b>DEDICATORIA</b>	<b>IV</b>
<b>AGRADECIMIENTO</b>	<b>V</b>
<b>ÍNDICE DE GRÁFICAS</b>	<b>VIII</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>VIII</b>
<b>ÍNDICE DE ANEXOS</b>	<b>IX</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>	<b>X</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>2</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>3</b>
<b>1. REVISIÓN DE LITERATURA</b>	<b>5</b>
1.1. Aprovechamiento de subproductos	6
1.1.1. Cacao	6
1.1.2. Banano	7
1.2. Antioxidantes	7
1.3. Fibra dietaria	9
1.4. Fibra dietaria antioxidante	9
<b>2. OBJETIVOS DEL PROYECTO</b>	<b>11</b>
2.1. General	12
2.2. Específico	12
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>13</b>
3.1. Muestras	14
3.2. Método experimental	14
3.2.1. Humedad	14
3.2.2. Actividad de agua (Aw)	14
3.2.3. Fibra dietaria total	14
3.2.4. Cuantificación de la actividad antioxidante	16
3.3. Diseño experimental	20
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIONES</b>	<b>21</b>
4.1. Fibra dietaria total	22
4.2. Actividad antioxidante	23
4.2.1. Método DPPH	23

4.2.2. Método FTC	25
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>29</b>
<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>30</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>31</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>37</b>

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

		Pág.
<b>Gráfica 1.</b>	Fibra dietaria total de subproductos.	22
<b>Gráfica 2.</b>	Actividad antioxidante (DPPH) expresados como equivalentes a trolox.	23
<b>Gráfica 3.</b>	Actividad antioxidante (DPPH) expresados como equivalentes a $\alpha$ -tocoferol.	24
<b>Gráfica 4.</b>	Actividad antioxidante (FTC) de la cáscara de cacao.	27
<b>Gráfica 5.</b>	Actividad antioxidante (FTC) de la cáscara de banano.	28

## ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág.
<b>Figura 1.</b>	Obtención de extractos para cuantificación de actividad antioxidante.	17
<b>Figura 2.</b>	Determinación de actividad antioxidante mediante método DPPH.	18
<b>Figura 3.</b>	Determinación de actividad antioxidante mediante método FTC.	19



## ÍNDICE DE ANEXOS

		Pág.
<b>Anexo A.</b>	Análisis de humedad.	37
<b>Anexo B.</b>	Datos fibra dietaria total.	38
<b>Anexo C.</b>	Cálculos de fibra dietaria total.	39
<b>Anexo D.</b>	Datos de la cuantificación de la actividad antioxidante (DPPH).	42
<b>Anexo E.</b>	Cálculo de la actividad antioxidante (DPPH) expresado en $\mu\text{mol TE/g}$ y $\text{mg } \alpha\text{T/g}$ .	43
<b>Anexo F.</b>	Análisis estadístico.	48

## LISTA DE ABREVIATURAS

**AOAC:** Association of Official Analytical Chemists

**Aw:** Actividad de agua

**BS:** Base seca

**DPPH:** 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

**DB:** Dry basis

**FDA:** Fibra dietaria antioxidante

**FDT:** Fibra dietaria total

**FTC:** Método del tiocianato férrico

**g:** Gramo

**GAE:** Equivalentes de ácido gálico

**Mezcla TC:** Mezcla taninos condensados

**Mezcla TH:** Mezcla taninos hidrolizables

**mg:** Miligramo

**mL:** Mililitro

**N:** Normal

**nm:** Nanómetro

**PM:** Peso molecular

**TC:** Taninos condensados

**TE:** Equivalentes de trolox

**TH:** Taninos hidrolizables

**μL:** Microlitro

**μM (μmol):** Micromol

**αT:** Equivalente a α-tocoferol

## RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue conocer el potencial de las cáscaras de cacao y banano como fuentes de fibra dietaria antioxidante. Las muestras analizadas fueron proporcionadas por la Asociación Kallari e Industria Borja de Ecuador. En cada subproducto se evaluó el contenido de fibra dietaria total (FDT) mediante el método enzimático-gravimétrico, utilizando el kit de FDT de Megazyme basado en AOAC 991.43 y AACC 32-07.01, la actividad antioxidante mediante los métodos: capacidad secuestrante de radicales libres (DPPH) y capacidad de inhibición de la oxidación lipídica (FTC). El contenido de FDT fue de 57,1 y 50,3 g/100 g BS para la cáscara de cacao y banano respectivamente. La actividad antioxidante fue de 222 y 208 mg equivalentes a  $\alpha$ -tocoferol/g ( $\alpha$ T/g) en la cáscara de cacao y banano respectivamente (DPPH), y con el método FTC ambas muestras cumplen con el requisito de equivalente o mayor a 200 mg  $\alpha$ T/g. Los resultados de este estudio indican que las cáscaras de cacao y banano pueden ser considerados como fuentes de fibra dietaria antioxidante.

**PALABRAS CLAVES:** cáscara de cacao, cáscara de banano, fibra dietaria antioxidante, actividad antioxidante, fibra dietaria total.

## ABSTRACT

The aim of this work was to determine the potential of cocoa pod husk and banana peel as a source of antioxidant dietary fiber. The samples were provided by the Asociación Kallari and Industria Borja in Ecuador. For each co-product the content of total dietary fiber (TDF) was evaluated by the enzymatic-gravimetric method using the Megazyme Kit FDT based on AOAC 991.43 and AACC 32-07.01, the antioxidant activity using methods: free radical scavenger ability (DPPH) and ability to inhibit lipid oxidation (FTC). The content of TDF was 57,1 and 50,3 g/100 g DB for cocoa pod husk and banana peel respectively. The antioxidant activity was 222 and 208 mg  $\alpha$ -tocopherol equivalents/g ( $\alpha$ T/g) cocoa pod husk and banana peel respectively (DPPH) and with the FTC method both samples meet the requirement of equal to or greater than 200 mg  $\alpha$ T/g. The results of this study indicate that the cocoa pod husk and banana peel can be considered as antioxidant dietary fiber sources.

**KEYWORDS:** cocoa pod husk, banana peel, antioxidant dietary fiber, antioxidant activity, total dietary fiber.

## INTRODUCCIÓN

Son muchos los subproductos generados en la industrialización de productos agrícolas, por lo que se hace necesario la implementación de técnicas para su aprovechamiento, en este contexto se han desarrollado estudios en: semillas y cáscara de cítricos (Bocco et al. 1998), residuos de pulpa de zanahoria (Chen y Tang 1998), piel de uva (Larrauri et al. 1998, Shaker 2006), residuos no volátiles del aceite esencial de naranja (Vargas-Arispuro et al. 1998), subproductos del coco (Azizah et al. 1999), semillas de uva (Yamaguchi et al. 1999, Jayaprakasha et al. 2001, Jayaprakasha et al. 2003, Shaker 2006), residuos de semillas oleaginosas (Matthaus 2002), cáscara de almendras (Pinelo et al. 2004), bagazo de vino (Louli et al. 2004), piel de patata (Kanatt et al. 2005), hojas viejas de té, residuos de té negro (Farhoosh et al. 2007), subproductos de cacao (Martínez et al. 2012a) y subproductos de mango, maracuyá, piña y guayaba (Martínez et al. 2012b), como fuentes de antioxidantes. La cascarilla del cacao (Redgwell et al. 2003), residuos de coco (Raghavendra et al. 2006), residuos de café, cacao y cladodio de tuna (Abarca et al. 2010), subproductos de cacao (Martínez et al. 2012a) y subproductos de mango, maracuyá, piña y guayaba (Martínez et al. 2012b), como fuentes de fibra dietaria.

En la primera mitad del siglo XX, los estudios sobre los efectos de las radiaciones X y gamma sugirieron que los radicales libres, sobretodo el radical hidroxilo, eran los responsables del daño celular (Stein y Weiss 1948), por lo que se construyó una teoría que explicaba el envejecimiento por la acción de los radicales libres (Harman 1956). A partir de ese momento los captadores de radicales libres aparecieron como la solución al daño celular, ya que los antioxidantes prolongan la vida de las células mediante la protección de la membrana celular contra el daño por radicales libres, lo que ayuda a retardar el proceso de envejecimiento (Vimala et al. 2011).

En el presente estudio se trabajó con subproductos de los cuales ya se conoce que tienen un alto contenido en compuestos bioactivos, la cáscara de banano es rica en compuestos fitoquímicos principalmente antioxidantes, teniendo un contenido de fenoles totales de 1100 mg equivalentes de ácido gálico (GAE)/100 g de muestra en base seca (BS) (Sultana et al. 2008). El contenido de fenoles totales en la cáscara de cacao está en un rango de 221,1 a 390,9 mg GAE/100 g BS (Martínez et al. 2012a).

La fibra dietaria recibe una particular atención por el papel que desarrolla en el organismo humano, pues ha ido adquiriendo importancia desde 1974, año en el cual Burkitt et al. (1974) publicó sus observaciones de la estrecha relación entre la carencia de fibra en las dietas con el desarrollo de distintas enfermedades. Estudios experimentales y

epidemiológicos atribuyen a la fibra propiedades tan diversas como la de ser un regulador intestinal, factor preventivo del cáncer del colon, como coadyuvante en la disminución de colesterol y de glucosa en la sangre, entre otros (Slavin 2008, Anderson et al. 2009, Matos-Chamorro y Chambilla-Mamani 2010). La cáscara de banano ya ha sido estudiada, reportando concentraciones de 55,7 g/100g BS de fibra dietaria total (FDT) (do Espírito Santo et al. 2012), así como también la cáscara de cacao con un rango de 55,99 a 56,10 g/100g BS de FDT (Martínez et al. 2012a).

La fibra dietaria y los antioxidantes son dos constituyentes de los alimentos vegetales que tienen un papel esencial en la salud y que tanto en investigación como en desarrollo de productos se han abordado separadamente, en este contexto, surge el concepto de fibra dietaria antioxidante (FDA) que combina los beneficios de la fibra y los antioxidantes para prevención de cáncer, enfermedades cardiovasculares y retardo de envejecimiento (Saura Calixto y Larrauri García 1999). Este estudio buscó conocer la potencialidad de los subproductos de cacao (*Theobroma cacao* L.) y banano (*Musa sapientum*) como fuente de FDA.

## **1. REVISIÓN DE LITERATURA**

## **1.1. Aprovechamiento de subproductos**

La transformación de frutas y vegetales para su conservación, se ha convertido en parte importante de los procesos industriales dentro de muchas empresas, dichos procesos generan de forma inevitable subproductos causantes de contaminación ambiental en aguas, suelos y atmósfera, que además ponen en peligro la salud humana y el nicho ecológico de muchas especies animales y vegetales. Buxadé Carbó (1995) define al subproducto como "el componente o producto secundario de otro considerado como principal".

En los últimos años se vienen desarrollando investigaciones que buscan el aprovechamiento de subproductos, por ejemplo: obtención de azúcares fermentables a partir de subproductos de mango (Mejía Giraldo et al. 2007), bioproducción de ácido láctico a partir de residuos de cáscara de naranja (Gil-Horan et al. 2008), producción de energía a partir de subproductos agrícolas (Parawira et al. 2008) y producción de biodiesel a partir de la semilla del zapote mamey (Laiz-Saldaña et al. 2009).

### **1.1.1. Cacao**

En la presente investigación se trabajó con cáscara de cacao proveniente de la Asociación Agro Artesanal de Bienes Agrícolas, Pecuarios y Piscícolas de Napo-Kallari (Asociación Kallari), cuya producción es de 160 toneladas de cacao en grano seco al año, de los cuales el 70% se exporta a Suiza y el 30% se lo utiliza para la elaboración barras de chocolate comercializados bajo su marca propia "Kallari" (Zebisch 2013). Para la obtención del grano de cacao se realiza un proceso de beneficio, del cual se obtiene subproductos como: cáscara (mazorca), testa (cascarilla) y mucílago que representan el 90% del peso del fruto fresco, el 10% restante corresponde al grano (Franco-Castillo et al. 2010). En esta asociación se genera aproximadamente 1.440 toneladas de subproductos (cáscara, testa y mucílago) al año, los cuales generalmente son utilizados como abono para el mismo cultivo, pero que tiene la desventaja de que se convierten en un medio de patógenos que afectan a la siembra (Franco-Castillo et al. 2010).

De los subproductos de cacao, el que presenta mayor peso es la cáscara, por lo que investigadores han estudiado su uso, por ejemplo: en Nigeria se ha hecho un estudio para la sustitución del maíz en la elaboración de piensos (Uwagboe et al. 2010), formulación de paracetamol en tabletas (Ordu y Ocheme 2010), y en la degradación del contenido de hidrocarburos (Agbor et al. 2012).

También se ha hecho estudios en la cáscara de cacao de la actividad antioxidante con los métodos: ABTS en un rango de 23,03 a 42,93  $\mu\text{mol TE/g}$ , DPPH 18,40 a 33,93  $\mu\text{mol TE/g}$ ,



FRAP 1,98 a 4,69  $\mu\text{mol TE/g}$  y fenoles totales 221,1 a 390,9 mg GAE/100 g BS (Martínez et al. 2012a), y de fibra con los siguientes contenidos: 55,99 a 56,10 g/100g de FDT (Martínez et al. 2012a) y 64,09 a 64,92 g/100g de FDT (Abarca et al. 2010).

### **1.1.2. Banano**

La cáscara de banano fue proporcionada por la Industria Borja (INBORJA), esta industria utiliza 600.000 kg de banano como materia prima para obtener puré, que se exporta en su totalidad (Espinoza Aguilar 2013). La cáscara de banano representa alrededor del 40% del peso de la fruta (Monsalve G et al. 2006), por lo que INBORJA genera aproximadamente 240.000 Kg de cáscara como subproducto.

Se han realizado investigaciones para el aprovechamiento de este subproducto, para eliminar la concentración de cromo en las aguas residuales industriales (Memon et al. 2008) y en la producción de  $\alpha$ -amilasa mediante el cultivo de *Aspergillus Niger* (Krishna et al. 2012). Con respecto a la cuantificación de compuestos fitoquímicos principalmente antioxidantes, se han reportado contenidos de fenoles totales de 1100 mg GAE/100 g y flavonoides totales 0,62 g/100 g (Sultana et al. 2008). Fibra dietaria total de 55,7 g/100g (do Espírito Santo et al. 2012), de 43,2 a 49,7 g/100 g (Mohapatra et al. 2010) y de 40 a 50 g/100 g rango descrito por Happi Emaga et al. (2007).

## **1.2. Antioxidantes**

Inherente al metabolismo aeróbico se produce la generación constante de especies reactivas, radicalarias y no radicalarias, que, aunque contribuyen a funciones básicas del organismo pueden producir daños a nivel del ADN y del funcionamiento celular; para prevenir y proteger a los componentes celulares del daño inducido por los radicales libres, los organismos aerobios han desarrollado un elaborado mecanismo de defensa, los antioxidantes, que son capaces de estabilizar los radicales antes de que ataquen las células (Percival 1998).

Percival (1998) definió antioxidantes como: "nuestra primera línea de defensa contra los radicales libres, y son fundamentales para mantener una salud óptima y bienestar", Yanquen y Dadán M. (2005) como: "compuestos que evitan el deterioro de diferentes sustancias, particularmente las grasas" y López L. et al. (2012) como: "sustancias que pueden proteger a la célula de los efectos nocivos de los oxidantes o radicales libres y contrarrestan, de una manera directa o indirecta, los efectos de los mismo".

Los taninos son polifenoles (antioxidantes), químicamente son metabolitos secundarios de las plantas (Khanbabaee y Ree 2001). Ejercen efectos fisiológicos tales como: acelerar la

coagulación de la sangre, reducir la presión arterial, disminuir el nivel de lípidos en el suero, entre otros (Bele et al. 2010). Se dividen en taninos hidrolizables, que son ésteres de ácido gálico de glucosa y otros azúcares; y taninos condensados (proantocianidinas) (Bele et al. 2010).

Existen mecanismos por los que los antioxidantes alimentarios pueden ejercer su acción, esta se puede llevar a cabo por dos posibles vías: 1) reacciones de transferencia de un átomo de hidrógeno, en este caso las medidas de capacidad antioxidante se basan en cinéticas competitivas, en las cuales se mide la rapidez con la cual diversas moléculas reaccionan con el radical libre, y 2) transferencia de un electrón, en este el antioxidante transfiere un electrón para reducir un compuesto, incluyendo metales, carbonilos y radicales (Prior et al. 2005), razones por las cuales se deben considerar al seleccionar métodos de medida de capacidad antioxidante.

El creciente interés por los efectos beneficiosos de los antioxidantes ha hecho que se desarrolle un gran interés por la cantidad de métodos para determinar la actividad antioxidante de extractos de alimentos, para lo cual se debe combinar por lo menos dos métodos, basado en diferentes mecanismos de medición, para evaluar de manera correcta la actividad antioxidante (Pérez-Jiménez y Saura-Calixto 2007).

El método de capacidad de secuestro de radicales libres (DPPH), descrito por Brand-Williams et al. (1995) se basa en la reducción del radical estable DPPH<sup>•</sup> (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) a la forma DPPH-H por acción de una sustancia antioxidante, el radical tiene una coloración violeta decolorándose hacia amarillo pálido por la reacción en la presencia de una sustancia antioxidante, es decir, a mayor decoloración mayor poder antioxidante y cuya absorbancia disminuye al ser reducido por un antioxidante.

En el método de capacidad de inhibición de la oxidación lipídica, también conocido como método del tiocianato férrico (FTC), descrito por Kikuzaki y Nakatani citado y modificado por Larrauri et al. (1997), se basa en la medición de un compuesto coloreado que se forma por reacción de los derivados oxidados del ácido linoleico con el tiocianato de amonio y sulfato ferroso. Se ha determinado que bajos valores de absorbancia indican alta capacidad inhibidora de la oxidación lipídica (Aqil et al. 2006, Yusri et al. 2012). Un sistema de extracción con disolvente secuencial se empleó para la cuantificación de compuestos antioxidantes a partir de semillas (*Hibiscus cannabinus* L.), en donde la capacidad inhibidora con este método está dispuesta en el siguiente orden descendente:  $\alpha$ -tocoferol, extracto de agua, extracto metanólico, extracto de cloroformo, extracto de hexano, y ácido ascórbico (Yusri et al. 2012).

Entre las fuentes de antioxidantes naturales utilizadas para la industria, se encuentran principalmente los desechos de aceituna "torta de orujo", donde los compuestos antioxidantes mejoran la estabilidad del aceite de girasol (Abd-ElGhany et al. 2010). Igualmente, los desechos de la industria vinícola como fuente de antioxidantes para la conservación durante la congelación y el cocido de la carne (Selani et al. 2011).

### **1.3. Fibra dietaria**

La fibra dietaria se encuentra principalmente en las paredes de las células vegetales, pertenece a la familia de los carbohidratos y ha sido definida por la Asociación Americana de la Química de los Cereales como "la parte comestible de las plantas o carbohidratos análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado, con una completa o parcial fermentación en el intestino grueso" (AACC 2001). Estudios experimentales y epidemiológicos atribuyen a la fibra propiedades tan diversas como la de ser un regulador intestinal, factor preventivo del cáncer del colon, como coadyuvante en la disminución de colesterol y de glucosa en la sangre, entre otros (Slavin 2008, Anderson et al. 2009, Matos-Chamorro y Chambilla-Mamani 2010).

El método más empleado para determinar fibra dietaria total, es el desarrollado por Prosky, el cual ha sido reconocido como técnica oficial de la AOAC (Association of Official Analytical Chemists) (Prosky et al. 1988), es un procedimiento enzimático gravimétrico que consiste en una digestión enzimática secuencial con:  $\alpha$ -amilasa para gelatinización, hidrólisis y despolimerización de almidón, proteasa para solubilizar y despolimerizar las proteínas, y amiloglucosidasa para hidrolizar el almidón en fragmentos de glucosa; finalmente el valor de FDT es corregido por el contenido de proteína y cenizas.

Actualmente se dispone de diversas fuentes de fibra dietaria, entre los que se destacan por contener mayor cantidad de fibra: las frutas, hortalizas, subproductos, cáscaras y hojas, las cuales pueden ser consumidas de manera directa o transformadas en productos ricos en fibra (Matos-Chamorro y Chambilla-Mamani 2010).

### **1.4. Fibra dietaria antioxidante**

La fibra dietaria antioxidante (FDA), se puede definir como "un producto que contiene cantidades significativas de antioxidantes naturales asociados a la matriz de la fibra" (Saura-Calixto 1998, Saura-Calixto 2003), que combina los beneficios de la fibra y los antioxidantes, como son: prevención de cáncer, enfermedades cardiovasculares y retardo de envejecimiento (Saura Calixto y Larrauri García 1999).

Para que un material vegetal sea considerado como FDA debe cumplir los siguientes requisitos: su contenido en fibra dietética debe ser al menos del 50% expresado en base seca; 1 gramo de este material debe tener una capacidad de inhibir la oxidación lipídica equivalente, al menos, a 200 mg de vitamina E y una capacidad secuestrante de radicales equivalente, al menos, a 50 mg de vitamina E; y finalmente la actividad antioxidante debe ser una propiedad intrínseca del material, derivada de sus constituyentes naturales y no por adición de antioxidantes (Saura-Calixto 1998, Saura-Calixto 2003, Saura-Calixto 2010).

Se consideran como fuentes de FDA: piel de mango (70,8 g/100 g de FDT, con una actividad antioxidante mayor al  $\alpha$ -tocoferol) (Larrauri et al. 1997), la uva (65 a 80 g/100 g de FDT y la actividad antioxidante de 1 g de estas fibras expresada como capacidad de inhibición de la oxidación lipídica resulta equivalente a 200 – 400 mg  $\alpha$ -tocoferol y la capacidad de secuestro de radicales libres equivalente a 50 – 100 mg  $\alpha$ -tocoferol) (Saura Calixto y Larrauri García 1999), piel y pulpa de guayaba (50 a 67 g/100 g de FDT y la actividad antioxidantes de 1 g de estas fibras expresada como capacidad de secuestro de radicales libres equivalente a 50 – 105 mg  $\alpha$ -tocoferol) (Saura Calixto y Jiménez Escrig 2002b), y algas *Fucus* (> 50 g/100 g de FDT y la actividad antioxidantes de 1 g de este producto expresada como capacidad de secuestro de radicales libres equivalente a 65 – 80 mg  $\alpha$ -tocoferol) (Saura Calixto y Jiménez Escrig 2002a).

## **2. OBJETIVOS DEL PROYECTO**

## **2.1. General**

Contribuir a la valoración de los subproductos agroindustriales para promover su uso en la alimentación humana.

## **2.2. Específico**

Conocer la potencialidad de los subproductos de cacao (*Theobroma cacao* L.) y banano (*Musa sapientum*) como fuente de fibra dietaria antioxidante.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.1. Muestras**

Los subproductos de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad Nacional se obtuvieron de la Asociación Kallari, cultivados en la provincia de Napo y los subproductos de banano (*Musa sapientum*) variedad Cavendish proporcionados por la Industria Borja, utilizándose sólo la cáscara en ambos casos. Los subproductos fueron sometidos a un proceso de deshidratación en una estufa COLE PARMER (modelo 52000-70) por un tiempo de 23 horas a 60°C, temperatura a la cual la pérdida de antioxidantes es mínima (Pérez-Jiménez y Saura-Calixto 2007). Se deshidrató hasta una humedad inferior al 10 %, la actividad de agua fue de 0,304 y 0,194 para los subproductos de cacao y banano respectivamente. Condiciones en la cuales los microorganismos no se desarrollan (Rahman 2006) y la degradación de vitaminas hidrosolubles es menor (Badui Dergal 2006). Las muestras fueron molidas en un molino manual y tamizadas, se trabajó con un tamaño de partícula entre 355 y 500 µm, tamaño que permite una mayor extracción de antioxidantes (Pérez-Jiménez y Saura-Calixto 2007).

### **3.2. Método experimental**

#### **3.2.1. Humedad**

Se determinó mediante el método AOAC 920.151 (AOAC 2005), para lo cual las cápsulas de porcelana se desecaron, enfriaron y pesaron previamente ( $w$  cápsula), en cada cápsula se pesó 1 o 2 g de subproducto ( $w$  muestra), las cápsulas con las muestras fueron deshidratadas a 70 °C en estufa de vacío JEIO TECH (modelo OV-12) con una presión  $\leq$  100 mm Hg. Cada tres horas las muestras se retiraron de la estufa, enfriaron y pesaron, este procedimiento se lo realizó hasta obtener un peso final constante ( $w_f$ ). En Anexo A se detallan los datos y resultados.

#### **3.2.2. Actividad de agua ( $A_w$ )**

Este parámetro fue cuantificado mediante el equipo ROTRONIC (modelo HYGROPALM AW1), cuyo principio se basa en colocar la muestra en un contenedor sellado, donde la muestra intercambia su humedad con el aire que se encuentra dentro del contenedor, una vez alcanzado el equilibrio la  $A_w$  se mide con un sensor de humedad relativa, por definición la actividad de agua es igual a %HR/100.

#### **3.2.3. Fibra dietaria total**

La prueba se realizó siguiendo el procedimiento del kit de fibra dietaria total de Megazyme, basado en el método AOAC 991.43 y AACC 32-07.01 (Megazyme 2012), con



modificaciones en el proceso de filtrado (utilizando papel filtro en lugar de celite) y en el uso del buffer fosfato pH 6,0 en vez de pH 8,2.

Se pesó 1 g de cada muestra por duplicado (M1 y M2) en vasos de 600 mL. Se adicionó 50 mL de buffer fosfato pH 6,0 y 50  $\mu$ L de  $\alpha$ -amilasa termoestable a cada vaso, los vasos tapados con papel de aluminio fueron colocados en baño maría GFL (modelo 1003) durante 35 min a 95°C con agitación constante, en esta etapa se gelatiniza, hidroliza y despolimeriza el almidón que contengan las muestras. Cumplido el tiempo del tratamiento con  $\alpha$ -amilasa termoestable, se bajó la temperatura de los vasos a 60°C, removió su cubierta para enjuagar las paredes de los mismos con 10 mL de agua destilada, usando una pipeta, después se añadió 100  $\mu$ L de proteasa a cada muestra, nuevamente se colocó en el baño maría a 60°C durante 30 min con agitación constante para solubilizar y despolimerizar las proteínas. A continuación se retiró los vasos del baño maría y añadió 5 ml de HCl 0,561 N, agitó y leyó el pH, el cual se corrige a un rango de 4,1 a 4,8 con soluciones al 5% de HCl ó NaOH según el caso, para esto se utilizó el equipo METTLER TOLEDO (Seven Easy), luego se añadió 200  $\mu$ L de amiloglucosidasa e incubó en baño maría a 60°C durante 30 min con agitación constante con esto se hidrolizó los fragmentos de almidón a glucosa. Cumplido el tiempo del tratamiento con amiloglucosidasa, se añadieron 225 mL de EtOH al 95% precalentado a 60°C, luego los vasos fueron cubiertos con papel aluminio, dejó precipitar por 60 min, y filtró en un embudo Bushner al vacío con papel filtro previamente pesado, después un lavado con etanol al 78% hasta que todas las partículas fueran transferidas al embudo de filtración, este filtrado también se lavó sucesivamente con 30 mL de EtOH al 78%, 30 mL de EtOH al 95% y 30 mL de acetona, se colocó el papel filtro con la fibra en crisoles (previamente secados y pesados) en la estufa MEMMERT (modelo SNB400) a 103°C durante 12 horas, luego 1 hora en el desecador y pesó (R1 y R2). Finalmente se determinó el contenido de cenizas a una muestra y al duplicado se determinó el contenidos de proteínas.

- **Cenizas.** Se utilizó el método AOAC 940.26 (AOAC 2005), este análisis consiste en la pérdida por ignición de todos los componentes orgánicos hasta la obtención de un residuo mineral. Para esto se quemó los crisoles vacíos, enfrió y pesó, luego el residuo 1 se la colocó en los crisoles, carbonizó en una mufla THERMOLYNE (modelo 8000) a una temperatura de 525°C hasta obtener las cenizas (5 horas), enfrió, pesó (c).
- **Proteína.** Se utilizó el método AOAC 920.152 (AOAC 2005), este método constó de las siguientes etapas: digestión, fueron sometidas las muestras con ácido sulfúrico concentrado usando un catalizador para convertir el nitrógeno orgánico en iones de amonio; destilación, se añadió un álcali para destilación del amoníaco liberado

recogido en un exceso de solución de ácido clorhídrico; y valoración con ácido clorhídrico para determinar el amoníaco retenido por la muestra. Finalmente se calculó el contenido de nitrógeno a partir de la cantidad de amoníaco producido, utilizando un factor de conversión de nitrógeno a proteína de 6,25 (p). Este análisis fue realizado en el equipo BÜCHI.

Los datos y cálculos se detallan en el Anexo B y Anexo C.

### **3.2.4. Cuantificación de la actividad antioxidante**

#### **3.2.4.1. *Obtención de los extractos***

La extracción de antioxidantes se realizó según el método descrito por Pérez-Jiménez y Saura-Calixto (2007), en la Figura 1 se detalla el procedimiento seguido.

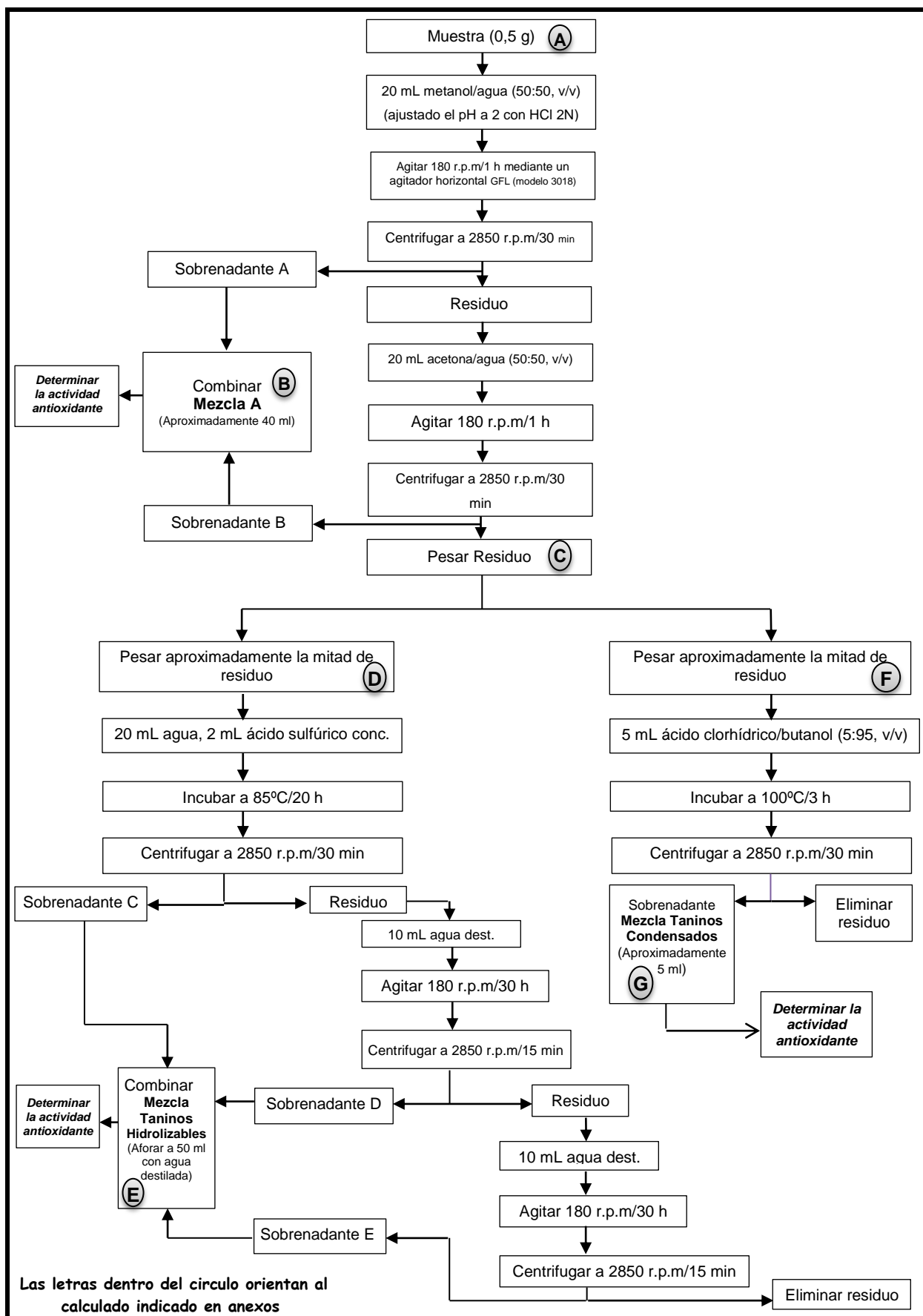


Figura 1. Obtención de extractos para cuantificación de actividad antioxidante.

### 3.2.4.2. Capacidad de secuestro de radicales libres, mediante el método DPPH

La cuantificación de la actividad antioxidante se realizó mediante la metodología descrita por Thaipong et al. (2006), en la Figura 2 se presenta el procedimiento realizado.

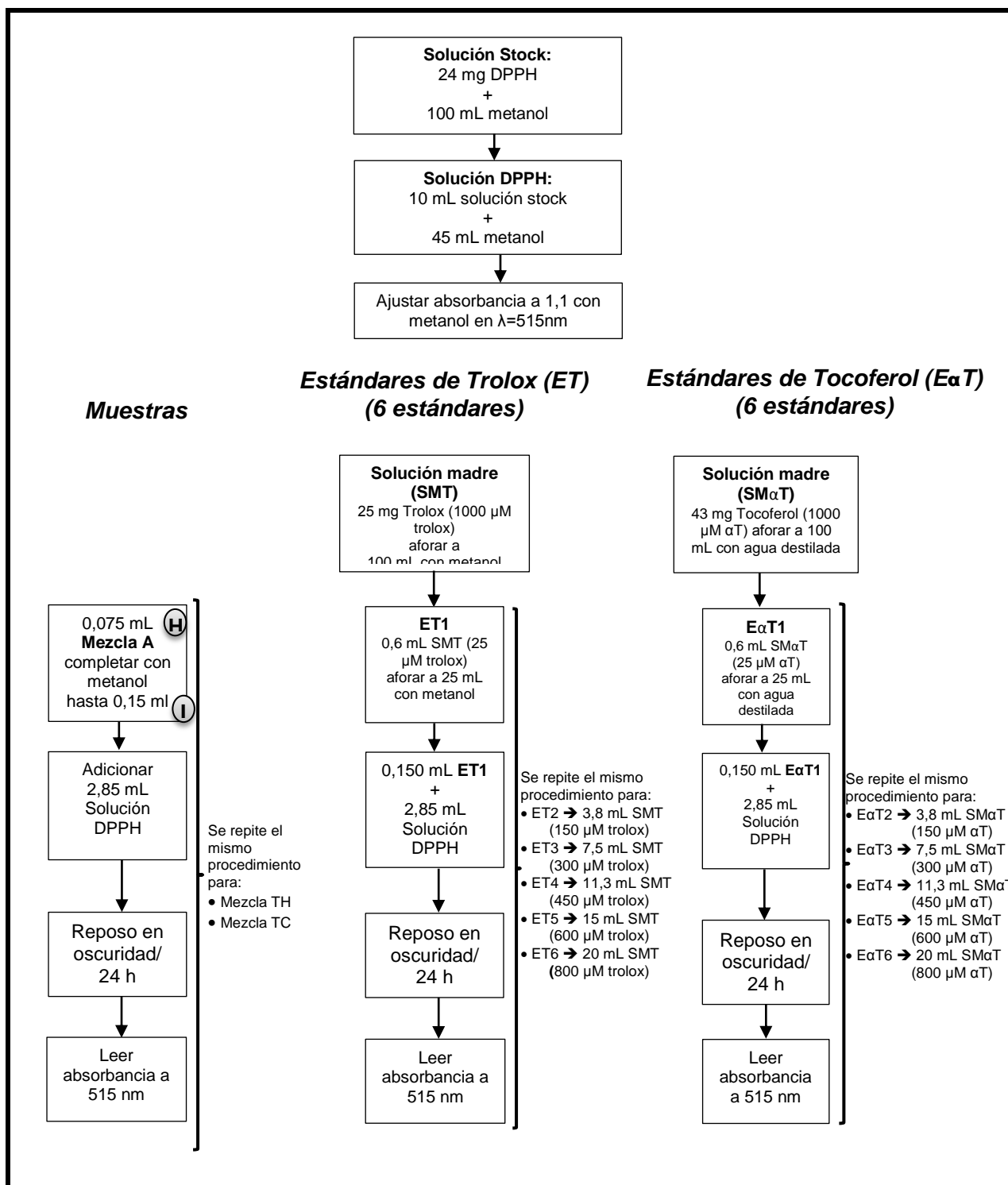
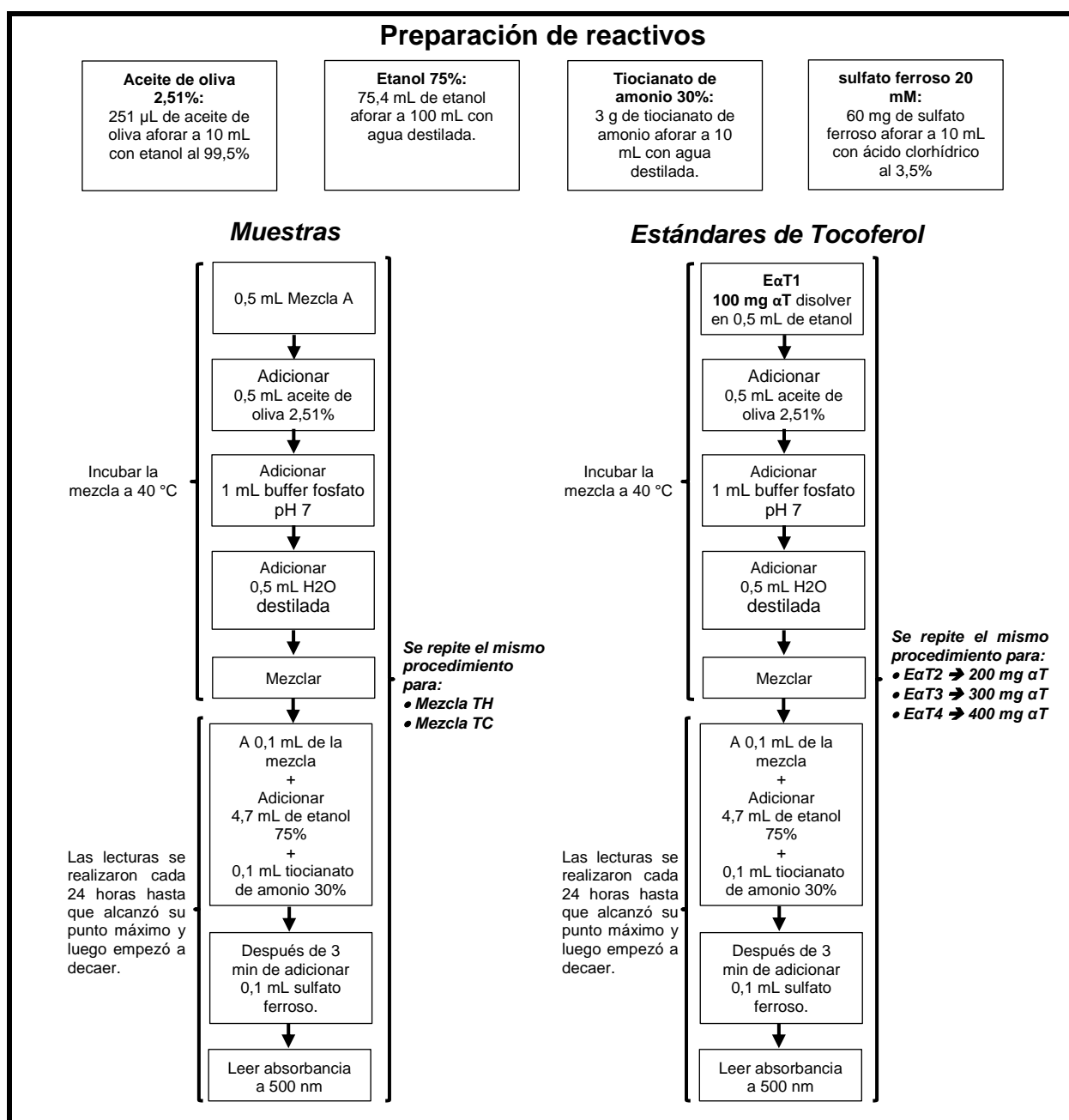


Figura 2. Determinación de actividad antioxidante mediante método DPPH.

Los resultados fueron expresados en  $\mu\text{mol}$  equivalentes de trolox por gramo de muestra ( $\mu\text{mol TE/g}$ ) y  $\text{mg}$  equivalentes de  $\alpha$ -tocoferol por gramo de muestra ( $\text{mg } \alpha\text{T/g}$ ), en el Anexo D se detallan los datos de la cuantificación de actividad antioxidante mediante este método y en el Anexo E se presenta un ejemplo de cálculo para esta metodología.

### 3.2.4.3. Capacidad de inhibición de la oxidación lipídica, mediante el método de tiocianato férrico (FTC)

Se llevó a cabo según el método descrito por Kikuzaki y Nakatani citado y modificado por Larrauri et al. (1997), con la variación del uso de aceite de oliva en lugar del ácido linoleico, en la Figura 3 se presenta el procedimiento seguido.



**Figura 3.** Determinación de actividad antioxidante mediante método FTC.

Los resultados son representados en una gráfica de absorbancia vs. tiempo de incubación.

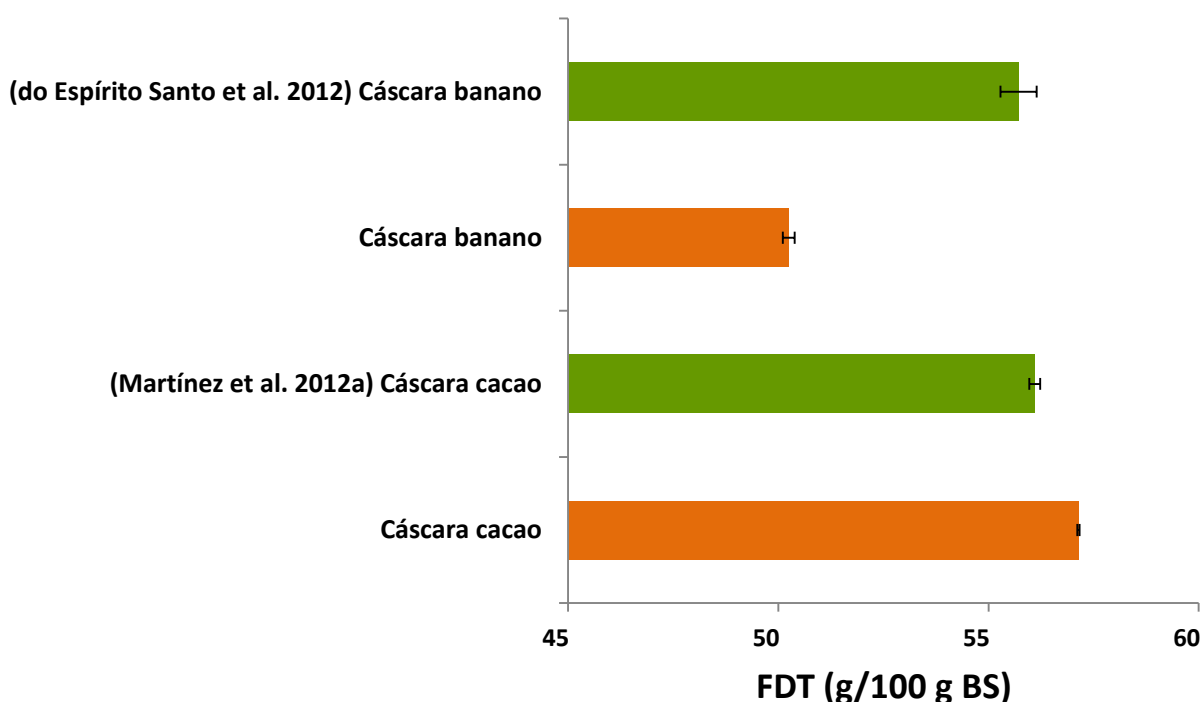
### **3.3. Diseño experimental**

Los resultados fueron expresados como la media  $\pm$  desviación estándar de tres repeticiones. Se realizó un análisis de varianza simple con un nivel de confianza del 95%, para identificar que subproducto tiene mayor contenido de fibra dietaria y actividad antioxidante. El análisis se llevó a cabo usando el paquete estadístico Minitab® Statistical Software, versión 16.

#### **4. RESULTADOS Y DISCUSIONES**

#### 4.1. Fibra dietaria total

El contenido de fibra dietaria total (FDT) de los subproductos (cáscara) de cacao y banano fueron 57,1 g/100 g BS y 50,3 g/100 g BS respectivamente (Gráfica 1), siendo estadísticamente mayor el subproducto de cacao. Según Martínez et al. (2012a) la cáscara de cacao tiene 56,1 g/100 g BS FDT, este valor es muy similar al obtenido en la cáscara de cacao, por otra parte el valor de FDT de la cáscara de banano es menor que el valor referido por do Espírito Santo et al. (2012) de 55,7 g/100 g BS FDT.



**Gráfica 1.** Fibra dietaria total de subproductos.

También el contenido de FDT de la cáscara de banano se encuentra dentro de lo descrito por Happi Emaga et al. (2007) de 40-50 g/100 g BS FDT.

Fuentes-Alventosa et al. (2009) establecen tres grupos de fuentes de FDT en subproductos, según esta clasificación los subproductos de cacao y banano se ubicaron en el grupo de recursos con contenido medio de FDT (50 – 70 g/100 g). Si comparamos los resultados de la experimentación con los de la fruta acerola (26,0 g/100 g) y marañón (20,9 g/100 g) (Rufino et al. 2010) tenemos que estos contienen menos FDT. Al hacer otra diferenciación por ejemplo con cebada (19,6 - 21,4 g/100 g) (Aalto et al. 1988), semillas sin cáscara de chocho (42,9 g/100 g), semillas enteras de soya (35,5 g/100 g) y semillas sin cáscara de soya (35,9 g/100 g) (Písaříková y Zralý 2009) obtenemos que los subproductos del presente



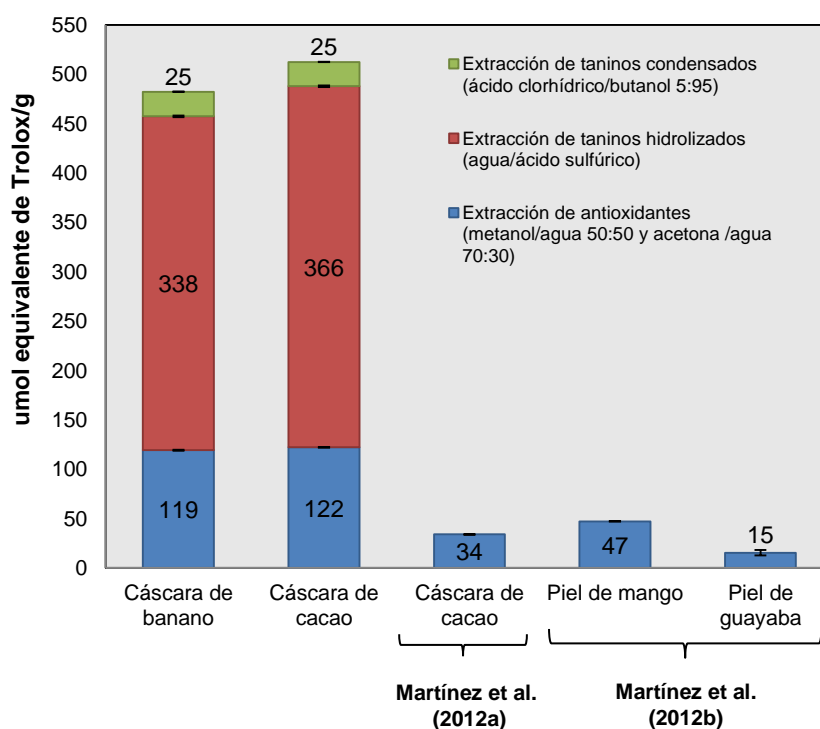
estudio presentan un porcentaje mayor de FDT, por el contrario otros subproductos como de maracuyá (81,5 g/100 g), piña (75,8 g/100 g), mango (70,0 g/100 g), guayaba (69,1 g/100 g) (Martínez et al. 2012b) y la fruta açai (79,4 g/100 g) (Rufino et al. 2011) contienen más FDT que los subproductos del presente estudio.

Los datos obtenidos de FDT en este estudio indican que las cáscaras de cacao y banano cumplen con la primera característica de la FDA, con un contenido de FDT de al menos 50 g/100 g BS (Saura-Calixto 1998, Saura-Calixto 2003, Saura-Calixto 2010).

## 4.2. Actividad antioxidante

### 4.2.1. Método DPPH

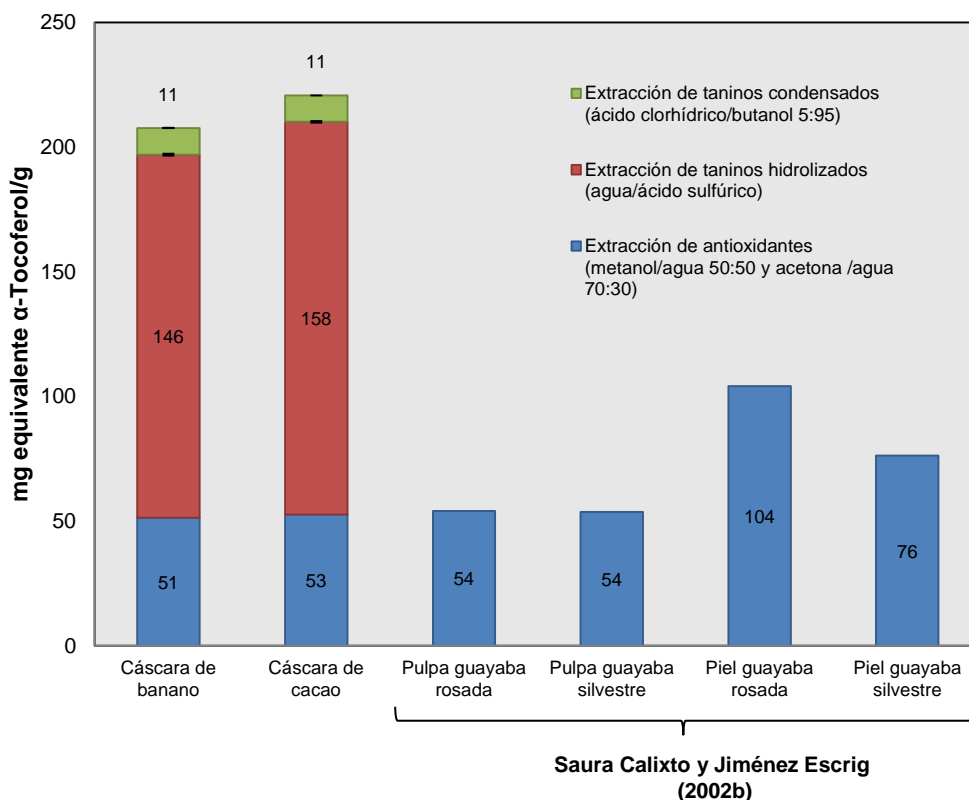
De acuerdo a los resultados del método DPPH realizado a los extractos de cáscara de cacao y banano (Gráfica 2 y Gráfica 3), tenemos que, la actividad antioxidante de cáscara de cacao fue de 513  $\mu\text{mol}$  equivalente a trolox (TE)/g o 222 mg equivalentes  $\alpha$ -tocoferol ( $\alpha\text{T}$ )/g obtenido de las tres fracciones, la extracción con metanol/agua 50:50 y acetona/agua 70:30 corresponde el 23,8%, la fracción de taninos hidrolizables (agua/ácido sulfúrico) al 71,3% y de taninos condensados (ácido clorhídrico/butanol 5:95) corresponde al 4,9% del total de la actividad antioxidante.



**Gráfica 2.** Actividad antioxidante (DPPH) expresados como equivalentes a trolox.

La actividad antioxidante de la cáscara de banano equivale a 482  $\mu\text{mol TE/g}$  o 208 mg  $\alpha\text{T/g}$ , obtenido de las tres fracciones, la extracción con metanol/agua 50:50 y acetona/agua 70:30 corresponde el 24,7%, taninos hidrolizables (agua/ácido sulfúrico) al 70,1% y taninos condensados (ácido clorhídrico/butanol 5:95) al 5,2% del total de la actividad antioxidante. De los dos subproductos, la cáscara de cacao presenta una mayor actividad antioxidante medida por DPPH (ver Anexo F).

Como se aprecia en la Gráfica 2 y Gráfica 3 la concentración más alta de actividad antioxidante se encontró en la fracción taninos hidrolizables (agua/ácido sulfúrico), esto puede deberse a que en esta extracción se usó mayor cantidad de agua y la mayoría de los antioxidantes son solubles en disolventes polares, generalmente el agua (Cerón S et al. 2010), también por su estructura, hay dos tipos de estas moléculas, unos tienen un grupo hidroxilo (OH) con gran afinidad con el agua debido a que son muy buenos formadores de puentes de hidrógeno, y los otros poseen grupos ácidos y esta condición los hace especialmente afines al agua (Córdova Frunz 1996). Yusri et al. (2012) describen en su estudio que la extracción con agua posee la mayor actividad antioxidante en comparación con otros disolventes, reafirmando lo obtenido en este estudio.



**Gráfica 3.** Actividad antioxidante (DPPH) expresados como equivalentes a  $\alpha$ -tocoferol.

Al comparar los datos de la presente investigación con otros obtenidos con metanol/agua 50:50 y acetona/agua 70:30, expresados en equivalentes de trolox, tenemos que, la cáscara de cacao evaluada en el presente estudio (122  $\mu\text{mol TE/g}$ ) presenta mayor actividad antioxidante que la cáscara de cacao de la localidad de Taura (33,93  $\mu\text{mol TE/g}$ ) y la cáscara de cacao de la localidad de Cone (33,07  $\mu\text{mol TE/g}$ ) (Martínez et al. 2012a) (Gráfica 2), esto puede ser atribuido al origen geográfico y al genotipo, es decir, que dentro de una misma especie existen variedades que presentan contenidos de antioxidantes significativamente diferentes (Fredes y Montenegro 2011). Y la cáscara de banano (119  $\mu\text{mol TE/g}$ ) muestra mayor actividad antioxidante que los subproductos de mango (47,1  $\mu\text{mol TE/g}$ ) y guayaba (15,4  $\mu\text{mol TE/g}$ ) (Martínez et al. 2012b) (Gráfica 2).

En cuanto a los datos de esta investigación con los reportados por Saura Calixto y Jiménez Escrig (2002b), obtenidos con la extracción de antioxidantes (metanol/agua 50:50 y acetona/agua 70:30) y expresados en equivalentes de tocoferol, establecimos que, la actividad antioxidante de la cáscara de cacao (53 mg  $\alpha$ -tocoferol ( $\alpha\text{T/g}$ )), la cáscara de banano (51 mg  $\alpha\text{T/g}$ ), la pulpa de guayaba rosada (54 mg  $\alpha\text{T/g}$ ) y la pulpa de guayaba silvestre (53,7 mg  $\alpha\text{T/g}$ ) (Saura Calixto y Jiménez Escrig 2002b) (Gráfica 3) son similares. En cambio la piel de guayaba rosada (104,1 mg  $\alpha\text{T/g}$ ) y la piel de guayaba silvestre (76,3 mg  $\alpha\text{T/g}$ ) (Saura Calixto y Jiménez Escrig 2002b) (Gráfica 3) tienen mayor actividad antioxidante que los subproductos de la presente investigación.

Para ser considerado como recurso de FDA, 1 g de muestra debe tener la capacidad secuestrante de radicales equivalente, al menos, a 50 mg de vitamina E (Saura-Calixto 1998, Saura-Calixto 2003, Saura-Calixto 2010); este argumento se da en los dos subproductos del presente estudio (Gráfica 3).

#### **4.2.2. Método FTC**

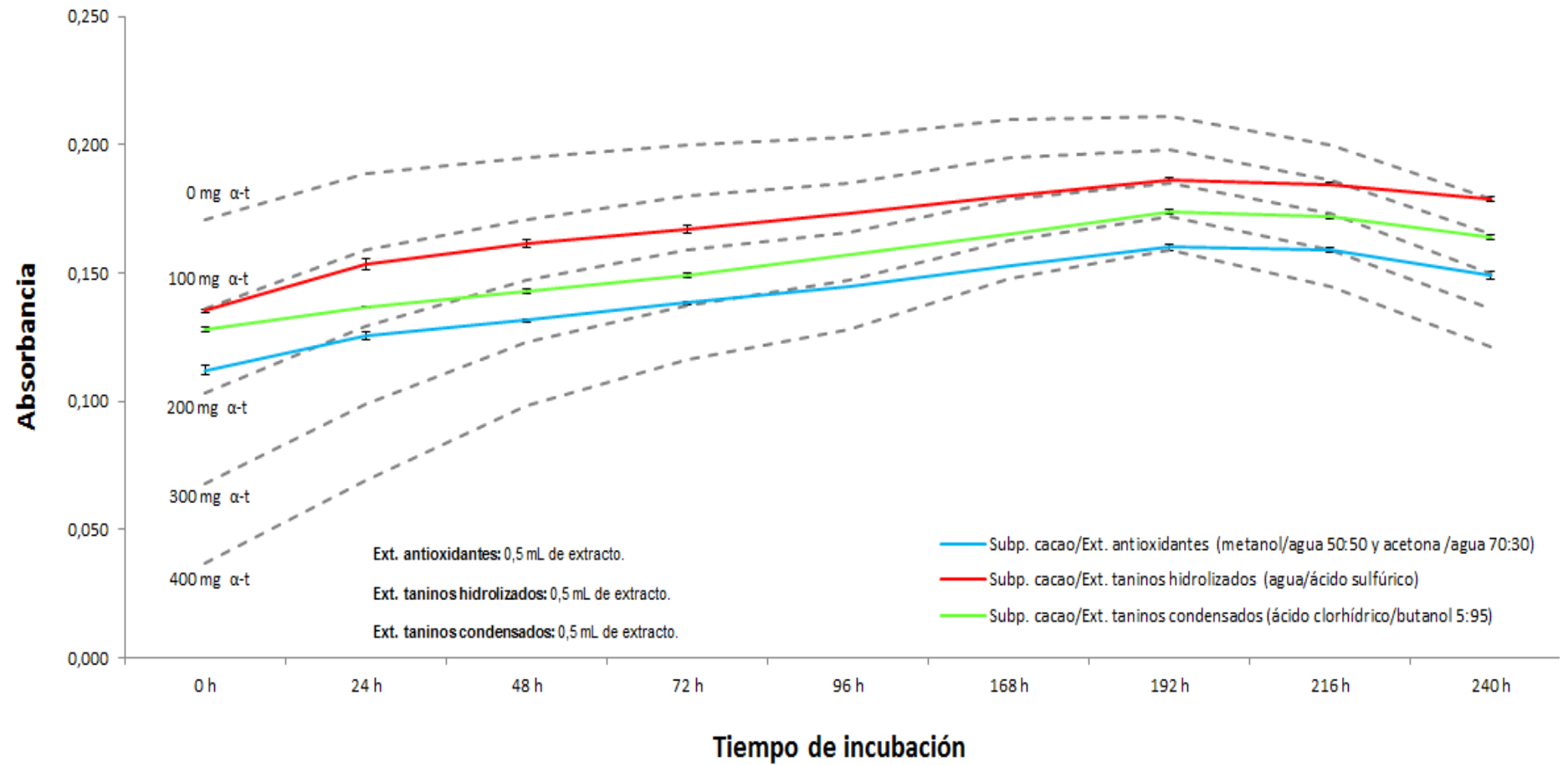
La actividad antioxidante de los extractos por el método FTC, se muestra en la Gráfica 4 y Gráfica 5, el análisis se realizó con los datos obtenidos a las 192 horas, ya que en este tiempo se logró la mayor oxidación, determinando que, la actividad antioxidante de 6,3 mg de subproducto (cáscara) de cacao equivale a 400 mg  $\alpha$ -tocoferol en la extracción de antioxidantes (metanol/agua 50:50 y acetona/agua 70:30), la actividad antioxidante de 2,1 mg de subproducto (cáscara) de cacao equivale a 200 mg  $\alpha$ -tocoferol en la extracción de taninos hidrolizables (agua/ácido sulfúrico), y la actividad antioxidante de 29 mg de subproducto (cáscara) de cacao equivale a 300 mg  $\alpha$ -tocoferol en la extracción de taninos condensados (ácido clorhídrico/butanol 5:95) (Gráfica 4). La actividad antioxidante de 6,3 mg de subproducto (cáscara) de banano equivale a 300 mg  $\alpha$ -tocoferol en la extracción de

antioxidantes (metanol/agua 50:50 y acetona /agua 70:30), la actividad antioxidante de 2,1 mg de subproducto (cáscara) de banano equivale a un rango entre 100 y 200 mg  $\alpha$ -tocoferol en la extracción de taninos hidrolizables (agua/ácido sulfúrico), y la actividad antioxidante de 28 mg de subproducto (cáscara) de banano equivale a 200 mg  $\alpha$ -tocoferol en la extracción de taninos condensados (ácido clorhídrico/butanol 5:95) (Gráfica 5). Los resultados encontrados para los dos subproductos fueron estadísticamente diferentes, ver Anexo F.

Como se observa en la Gráfica 4 y Gráfica 5, las absorbancias de los estándares y de las muestras, nos permiten establecer que a menor absorbancia mayor capacidad inhibidora de la oxidación lipídica, tal como lo describen Aqil et al. (2006), Susanti et al. (2008) y Yusri et al. (2012) en sus ensayos.

Para ser considerada como FDA, 1 g de muestra debe tener la capacidad de inhibir la oxidación lipídica equivalente, al menos, a 200 mg de vitamina E (Saura-Calixto 1998, Saura-Calixto 2003, Saura-Calixto 2010); esto se cumple con los subproductos del presente estudio en las tres extracciones (Gráfica 4 y Gráfica 5).

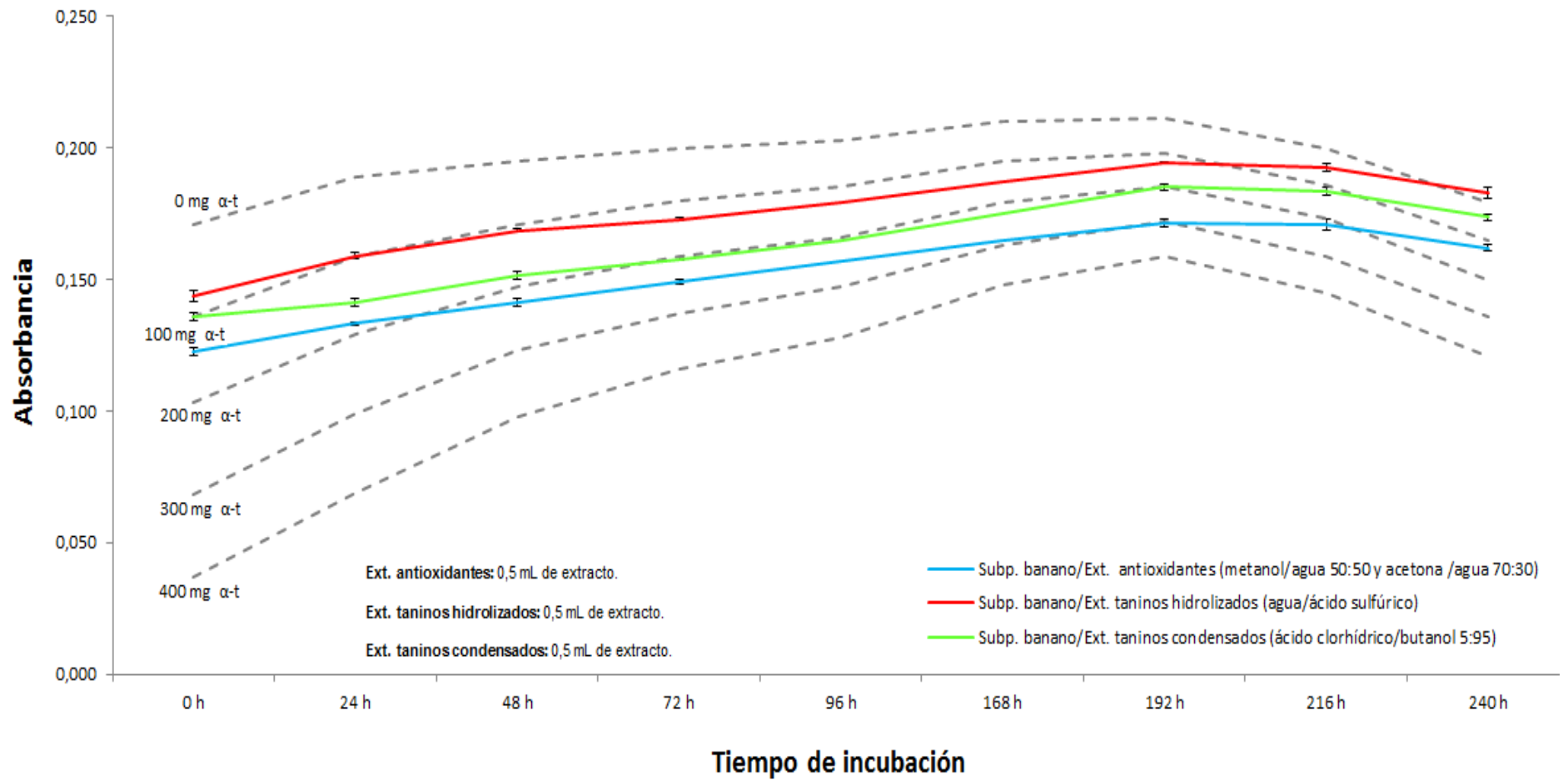
Finalmente, podemos resaltar que, los resultados de la actividad antioxidante evaluada por los métodos: capacidad de secuestro de radicales libres (DPPH) y capacidad de inhibición de la oxidación lipídica (FTC) de la presente experimentación, afirman lo descrito por Mokbel y Hashinaga (2005) para cáscara de banano y lo indicado por Martínez et al. (2012a) para cáscara de cacao, quienes consideran que estos subproductos podrían ser considerados como fuente potencial de antioxidantes.



n= 3

Los resultados están expresados en absorbancia vs. tiempo de incubación.

**Gráfica 4.** Actividad antioxidante (FTC) de la cáscara de cacao.



n= 3

Los resultados están expresados en absorbancia vs. tiempo de incubación.

**Gráfica 5.** Actividad antioxidante (FTC) de la cáscara de banano.

## CONCLUSIONES

- La fracción de taninos hidrolizables tuvo la mayor concentración de antioxidantes con un 71,3 % y 70,1 % del total de la actividad antioxidante para cáscara de cacao y banano respectivamente.
- En la cáscara de cacao el contenido de fibra dietaria total (FDT) fue de 57,1 g/100 g BS, y la actividad antioxidante de 1g. muestra expresada como capacidad de captación de radicales libres (DPPH) y de inhibición de la oxidación lipídica (FTC) resulto equivalente a 222 mg  $\alpha$ -tocoferol y mayor a 400 mg de  $\alpha$ -tocoferol, respectivamente. Por lo que puede ser considerada fuente de fibra dietaria antioxidante.
- El contenido de FDT en la cáscara de banano fue de 50,3 g/100 g BS, con actividad antioxidante de 208 mg  $\alpha$ -tocoferol/g y mayor a 400 mg de  $\alpha$ -tocoferol/g para DPPH y FTC respectivamente. Con lo cual se puede considerar una fuente de fibra dietaria antioxidante.

## RECOMENDACIONES

- Expresar la actividad antioxidante como los gramos de muestra necesaria para inhibir en 50% un gramo de DPPH ( $EC_{50}$ ), para que de esta manera sea más fácil la comparación con la bibliografía.
- Utilizar también el trolox como sustancia de referencia para la metodología FTC, con la finalidad de facilitar la comparación con otros estudios.
- En la metodología de FTC usar el ácido linoleico como fuente de oxidación, por ser un aceite hidrogenado.



## BIBLIOGRAFÍA

- AACC, American Association of Cereal Chemists. 2001. The definition of dietary fiber. *Cereal Foods World* 46(3): 112-126.
- Aalto, T.; Lehtonen, M.; Varo, P. 1988. Dietary Fiber Content of Barley Grown in Finland. *Cereal Chemistry* 65(4): 284-286.
- Abarca, D.; Martínez, R.; Muñoz, J.; Torres, M; Vargas, G. 2010. Residuos de Café, Cacao y Cladodio de Tuna: Fuentes Promisorias de Fibra Dietaria. *Revista Tecnológica ESPOL – RTE* 23(2): 63-69.
- Abd-ElGhany, M.E; Ammar, M.S; Hegazy, A.E. 2010. Use of Olive Waste Cake Extract as a Natural Antioxidant for Improving the Stability of Heated Sunflower Oil. *World Applied Sciences Journal* 11(1): 106-113.
- Agbor, R. B; Ekpo, I. A ; Udofia, U. U ; Okpako, E.C ; Ekanem, E. B. 2012. Potentials of cocoa pod husk and plantain peels in the degradation of total petroleum hydrocarbon content of crude oil polluted soil. *Archives of Applied Science Research* 4(3): 1372-1375.
- Anderson, James W; Baird, Pat; Jr, Richard H Davis; Ferreri, Stefanie; Knudtson, Mary; Ashraf Koraym; Waters, Valerie; Williams, Christine L. 2009. Health benefits of dietary fiber. *Nutrition Reviews* 67 (4): 188–205.
- AOAC. 2005. Association of Official Analytical Chemist. 18th ed. Washington, USA. (Official Methods of Analysis)
- Aqil, Farrukh; Ahmad, Iqbal; Mehmood, Zafar. 2006. Antioxidant and Free Radical Scavenging Properties of Twelve Traditionally Used Indian Medicinal Plants. *Turk Journal Biology* 30: 177-183.
- Azizah, A.H; Nik Ruslawati, N.M; Swee Tee, T. 1999. Extraction and characterization of antioxidant from cocoa by-products. *Food Chemistry* 64: 199-202.
- Badui Dergal, Salvador. 2006. *Química de los Alimentos*. Cuarta edición. México.
- Bele, Archana A; Jadhav, Varsha M; Kadam, V. J. 2010. Potential of Tannins: A Review. *Asian Journal of Plant Sciences* 9(4): 209-214.
- Bocco, Alessandra; Cuvelier, Marie-Elisabeth; Richard, Hubert; Berset, Claudette. 1998. Antioxidant Activity and Phenolic Composition of Citrus Peel and Seed Extracts. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 46(6): 2123-2129.
- Brand-Williams, W; Cuvelier, M. E; Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT- Food Science and Technology* 28(1): 25-30.
- Burkitt, D; Walker, A; Painter, N. 1974. Dietary Fiber and Disease. *The Journal of the American Medical Association: JAMA* 229(8): 1068-1074.
- Buxadé Carbó, Carlos (1995). *Alimentos y racionamiento*. Zootecnia. Bases de producción animal. Libros Mundi-Prensa: 368.

- Cerón S, Ivonne; Higueta V, Juan C; Cardona A, Carlos. 2010. Capacidad antioxidante y contenido fenólico total de tres frutas cultivadas en la región andina. *Vector* 5: 17 - 26.
- Córdova Frunz, José Luis. 1996. *La Química y la Cocina*. Fondo de Cultura Económica.
- Chen, B. H; Tang, Y. C. 1998. Processing and Stability of Carotenoid Powder from Carrot Pulp Waste. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 46(6): 2312-2318.
- do Espírito Santo, Ana Paula ; Cartolano, Nathalie S; Silva, Thaianie F; Soares, Fabiana A.S.M; Gioielli, Luiz A; Perego, Patrizia; Converti, Attilio; Oliveira, Maricê N. 2012. Fibers from fruit by-products enhance probiotic viability and fatty acid profile and increase CLA content in yoghurts. *International Journal of Food Microbiology* 154: 135-144.
- Espinoza Aguilar, Kerly Veronica (2013). Producción de la Industria Borja (entrevista telefónica).
- Farhoosh, Reza; Golmovahhed, Gholam A; Khodaparast, Mohammad H. H. 2007. Antioxidant activity of various extracts of old tea leaves and black tea wastes (*Camellia sinensis* L.). *Food Chemistry* 100: 231-236.
- Franco-Castillo, Mauricio; Ramírez-Hernández, Magaly; García-Gómez, Rolando Salvador; Bernal-González, Marisela; Espinosa-Aquino, Beatriz; Solís-Fuentes, Julio A; Durán-de-Bazúa, Carmen. 2010. Reaprovechamiento Integral de Residuos Agroindustriales: cáscara y pulpa de cacao para la producción de pectinas. *Revista Latinoamericana el Ambiente y las Ciencias* 1(2): 45-66.
- Fredes, Carolina; Montenegro, Gloria. 2011. Maqui el “súper fruto” chileno. *Agronomía y forestal* 43.
- Fuentes-Alventosa, J.M ; Rodríguez-Gutiérrez, G ; Jaramillo-Carmona, S ; Espejo-Calvo, J.A ; Rodríguez-Arcos, R ; Fernández-Bolaños, J ; Guillén-Bejarano, R ; Jiménez-Araujo, A. 2009. Effect of extraction method on chemical composition and functional characteristics of high dietary fibre powders obtained from asparagus by-products. *Food Chemistry* 113: 665-671.
- Gil-Horan, Ricardo Heliodoro; Domínguez-Espinosa, Rosa María; Pacho-Carrillo, Juan Daniel. 2008. Bioproducción de ácido láctico a partir de residuos de cáscara de naranja: Procesos de separación y purificación. *Tecnología y Ciencia* 23(2): 79-90.
- Happi Emaga, Thomas; Herinavalona Andrianaivo, Rado; Wathelet, Bernard; Tchango Tchango, Jean; Paquot, Michel. 2007. Effects of the stage of maturation and varieties on the chemical composition of banana and plantain peels. *Food Chemistry* 103: 590-600.
- Harman, Denham. 1956. Aging: A Theory Based on Free Radical and Radiation Chemistry. *Journal of Gerontology*: 298-300.
- Jayaprakasha, G.K; Selvi, Tamil; Sakariah, K.K. 2003. Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *Food Research International* 36: 117–122.

- Jayaprakasha, G.K; Singh, R.P; Sakariah, K.K. 2001. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. Food Chemistry 73: 285-290.
- Kanatt, Sweetie R; Chander, Ramesh; Radhakrishna, P; Sharma, Arun. 2005. Potato Peel Extract-a Natural Antioxidant for Retarding Lipid Peroxidation in Radiation Processed Lamb Meat. Journal Agriculture and Food Chemistry 53(5): 1499-1504.
- Khanbabaee, Karamali; Ree, Teunis van. 2001. Tannins: Classification and Definition. The Royal Society of Chemistry 18: 641–649.
- Krishna, P. Radha; Srivastava, A. K; Ramaswamy, N. K; Suprasanna, P; D'Souza, S. F. 2012. Banana peel as substrate for  $\alpha$ -amylase production using *Aspergillus niger* NCIM 616 and process optimization. Indian Journal of Biotechnology 11: 314-319.
- Laiz-Saldaña, J. C; Tovar-Miranda, R; Durán-de-Bazúa, M. C; Solís-Fuentes, J. A. 2009. Aprovechamiento de residuos agroindustriales: Producción de biodiesel por transesterificación alcalina de aceite crudo de “almendras” de zapote mamey (*Pouteria sapota*). Tecnología y Ciencia 24(1): 48-56.
- Larrauri, Jose A; Ruperez, Pilar; Saura-Calixto, Fulgencio. 1997. Mango peel fibres with antioxidant activity. Z Lebensm Unters Forsch A 205: 39–42.
- Larrauri, Jose A; Sanchez-Moreno, Concepcion; Saura-Calixto, Fulgencio. 1998. Effect of Temperature on the Free Radical Scavenging Capacity of Extracts from Red and White Grape Pomace Peels. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46: 2694-2697.
- López L, Argelia; Fernando A, Carlos ; Lazarova, Zelmira; Bañuelos V, Rómulo ; Sánchez R, Sergio Hugo. 2012. Antioxidantes, un paradigma en el tratamiento de enfermedades. Revista Anacem 6(1).
- Louli, V.; Ragoussis, N.; Magoulas, K. 2004. Recovery of phenolic antioxidants from wine industry by-products. Bioresource Technology 92: 201-208.
- Martínez, R.; Torres, P.; Meneses, M. A.; Figueroa, J. G.; Pérez-Álvarez, J. A.; Viuda-Martos, M. 2012a. Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of cocoa (*Theobroma cacao* L.) co-products. Food Research International 49: 39-45.
- Martínez, Ruth; Torres, Paulina; Meneses, Miguel A.; Figueroa, Jorge G.; Pérez-Álvarez, José A.; Viuda-Martos, Manuel. 2012b. Chemical, technological and *in vitro* antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. Food Chemistry 135: 1520-1526.
- Matos-Chamorro, Alfredo; Chambilla-Mamani, Elmer. 2010. Importancia de la Fibra Dietética, sus Propiedades Funcionales en la Alimentación Humana y en la Industria Alimentaria. Revista de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos 1 (1): 4-17.
- Matthaus, B. 2002. Antioxidant Activity of Extracts Obtained from Residues of Different Oilseeds. Journal Agricultural and Food Chemistry 50(12): 3444-3452.
- Megazyme. 2012. Total dietary fiber assay procedure. Megazyme International Ireland. K-TDFR. 05/12.

- Mejía Giraldo, L. F ; Martínez Correa, H. A; Betancourt Gutiérrez, J. E; Castrillón Castaño, C. E. 2007. Aprovechamiento del residuo agroindustrial del mango común (*Mangifera indica* L.) en la obtención de azúcares fermentables. *Ingeniería y Ciencia* 3(6): 41-62.
- Memon, Jamil R. ; Memon, Saima Q. ; Bhangar, Muhammad I. ; Khuhawar, Muhammad Y. 2008. Banana Peel: A Green and Economical Sorbent for Cr(III) Removal. *Pakistan Journal Analytical Environ Chemistry* 9(1): 20 – 25.
- Meza, Alma Rosa Del Angel; Gómez, Leticia Interían; Esparza Merino, Rosa María. 2013. *Principios básicos de bromatología para estudiantes de nutrición*. Palibrio.
- Mohapatra, Debabandya; Mishra, Sabyasachi; Sutar, Namrata. 2010. Banana and its by-product utilisation: an overview. *Journal of Scientific and Industrial Research* 69: 323-329.
- Mokbel, Matook Saif; Hashinaga, Fumio. 2005. Antibacterial and Antioxidant Activities of Banana (*Musa*, AAA cv. Cavendish) Fruits Peel. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* 1(3): 125-131.
- Monsalve G, John F; Medina De Perez, Victoria Isabel; Ruiz Colorado, Angela Adriana. 2006. Producción de Etanol a partir de la Cáscara de Banano y de Almidón de Yuca. *Dyna*(150): 21-27.
- Ordu, J. I. ; Ocheme, E. J. 2010. Effect of formulation method on the use of cocoa pod husk powder and its cellulose on paracetamol tablet. *Scientia Africana* 9(2): 9-17.
- Parawira, W.; Read, J. S.; Mattiasson, B.; Bjornsson, L. 2008. Energy production from agricultural residues: High methane yields in pilot-scale two-stage anaerobic digestion. *Biomass and Bioenergy* 32: 11-50.
- Percival, Mark. 1998. *Antioxidants*. Advanced Nutrition Publications.
- Pérez-Jiménez, Jara; Saura-Calixto, Fulgencio. 2007. Metodología para la Evaluación de Capacidad Antioxidante en Frutas y Hortalizas. V CONGRESO IBEROAMERICANO DE TECNOLOGÍA POSTCOSECHA Y AGROEXPORTACIONES.
- Pinelo, M.; Rulibar, M.; Sineiro, J.; Nuñez, M.J. 2004. Extraction of antioxidant phenolics from almond hulls (*Prunus amygdalus*) and pine sawdust (*Pinus pinaster*). *Food Chemistry* 85: 267-273.
- Písaříková, Bohumila; Zralý, Zdeněk. 2009. Dietary Fibre Content in Lupine (*Lupinus albus* L.) and Soya (*Glycine max* L.) Seeds. *Acta Veterinary Brno* 79: 211-216.
- Prior, Ronald L.; Wu, Xianli; Schaich, Karen. 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 53: 4290-4302.
- Prosky, L; Asp, NG; Schweizer, TF; DeVries, JW; Furda, I. 1988. Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products: interlaboratory study. *Journal Association of Official Analytical Chemists* 71(5): 1017-1023.
- Raghavendra, S.N.; Ramachandra Swamy, S.R. ; Rastogi, N.K.; Raghavarao, K.S.M.S.; Kumar, Sourav; Tharanathan, R.N. 2006. Grinding characteristics and hydration

- properties of coconut residue: A source of dietary fiber *Journal of Food Engineering* 72: 281-286.
- Rahman, Mohammad Shafiur. 2006. State diagram of foods: Its potential use in food processing and product stability. *Trends in Food Science & Technology* 17: 129–141.
- Redgwell, R.; Trovato, V.; Merinat, S.; Curti, D.; S.Hediger; Manez, A. 2003. Dietary fibre in cocoa shell: characterisation of component polysaccharides. *Food Chemistry* 81: 103-112.
- Rufino, Maria do Socorro M.; Pérez-Jiménez, Jara; Arranz, Sara; Alves, Ricardo Elesbão; De Brito, Edy S.; Oliveira, Maria S.P.; Saura-Calixto, Fulgencio. 2011. Açai (*Euterpe oleraceae*) 'BRS Pará': A tropical fruit source of antioxidant dietary fiber and high antioxidant capacity oil. *Food Research International* 44: 2100-2106.
- Rufino, Maria do Socorro M.; Perez-Jimenez, Jara; Tabernero, Maria; Alves, Ricardo E.; De Brito, Edy S.; Saura-Calixto, Fulgencio. 2010. Acerola and cashew apple as sources of antioxidants and dietary fibre. *International Journal of Food Science and Technology* 45: 2227–2233.
- Saura-Calixto, F. 2010. Antioxidant dietary fibre: a new functional ingredient. *Ernährung/Nutrition* 34(12): 509-514.
- Saura-Calixto, Fulgencio. 1998. Antioxidant Dietary Fiber Product: A New Concept and a Potential Food Ingredient. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 4303-4306.
- Saura-Calixto, Fulgencio Diego. 2003. Antioxidant Dietary Fibre. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry* 2(1): 223-226.
- Saura Calixto, Fulgencio ; Larrauri García, José A. (1999). Concentrado de fibra dietetica antioxidante natural de uva y su procedimiento de obtencion. Oficina Española de Patentes y Marcas. Madrid.
- Saura Calixto, Fulgencio Diego ; Jiménez Escrig, Antonio (2002a). Fibra dietética antioxidante y concentrado de antioxidantes naturales de alga *Fucus* y sus procedimientos de obtención. Oficina Española de Patentes y Marcas. España.
- Saura Calixto, Fulgencio Diego; Jiménez Escrig, Antonio (2002b). Fibra dietética antioxidante y concentrado de antioxidantes naturales de piel y de pulpa de guayabas (*Psidium guava* y *Psidium acutangulum*) y sus procedimientos de obtención. Oficina Española de Patentes y Marcas. España.
- Selani, MM; Contreras-Castillo, CJ; Shirahigue, LD; Gallo, CR; Plata-Oviedo, M; Montes-Villanueva, ND. 2011. Wine industry residues extracts as natural antioxidants in raw and cooked chicken meat during frozen storage. *Meat Science* 88(3): 397-403.
- Shaker, Emad S. 2006. Antioxidative effect of extracts from red grape seed and peel on lipid oxidation in oils of sunflower. *LWT* 39: 883-892.
- Slavin, Joanne L. 2008. Position of the American Dietetic Association: Health Implications of Dietary Fiber. *Journal of the American Dietetic Association* 108: 1716-1731.

- Stein, Gabriel; Weiss, Joseph. 1948. Chemical Effects of Ionizing Radiations. *Nature* 161(4095): 650.
- Sultana, Bushra; Anwar, Farooq; Asi, Muhammad Rafique; Chatha, Shahzad Ali Shahid. 2008. Antioxidant potential of extracts from different agro wastes: Stabilization of corn oil. *Grasas y Aceites* 59(3): 205-217.
- Susanti, Deny; Sirat, Hasnah M. ; Ahmad, Farediah; Ali, Rasadah Mat. 2008. Bioactive Constituents from the Leaves of *Melastoma Malabathricum* L. *Jurnal Ilmiah Farmasi* 5(1).
- Thaipong, Kriengsak; Boonprakob, Unaroj; Crosby, Kevin; Cisneros-Zevallos, Luis; Byrne, David Hawkins. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 669-675.
- Uwagboe, Eghosa O.; Hamzat, Rasheed A.; Olumide, Martha; Akinbile, Luqman A. 2010. Utilization of cocoa pod husk (CPH) as substitute for maize in layers mash and perception of poultry farmers in Nigeria. *International Journal of Science and Nature* 1(2): 272 - 275.
- Vargas-Arispuro, I.; Sanz, B. I.; Martínez-Téllez, M. A.; Primo-Yúfera, E. 1998. Actividad antioxidante de compuestos aislados del residuo no-volátil del aceite esencial de naranja. *Grasas y Aceites* 49(2): 159-164.
- Vimala, S.; Rohana, S.; Rashih, A.A.; Juliza, M. 2011. Antioxidant Evaluation in Malaysian Medicinal Plant: *Persicaria minor* (Huds.) Leaf. *Science Journal of Medicine & Clinical Trials*: 9-16.
- Yamaguchi, Fumio; Yoshimura, Yoshihiro; Nakazawa, Hiroyuki; Ariga, Toshiaki. 1999. Free Radical Scavenging Activity of Grape Seed Extract and Antioxidants by Electron Spin Resonance Spectrometry in an H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/NaOH/DMSO System. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 47(7): 2544-2548.
- Yanquen, Paola; Dadán M., Silvana. 2005. El aceite de palma, fuente natural de vitamina E. *NotiSalud* 6(2).
- Yusri, Noordin Mohd; Chan, Kim Wei; Iqbal, Shahid; Ismail, Maznah. 2012. Phenolic Content and Antioxidant Activity of *Hibiscus cannabinus* L. Seed Extracts after Sequential Solvent Extraction. *Molecules* 17: 12612-12621.
- Zebisch, Ulrich Peter Nikolas (2013). Producción de Asociación Kallari (entrevista telefónica).

## ANEXOS

### Anexo A. Análisis de humedad.

Muestra	w cápsula (g)	w muestra (g)	w cáp. + w muestra (g)	w f1 (g)	w f2 (g)	w f3 (g)	w f4 (g)	% Humedad	
<i>Subp. fresco de cacao</i>	50,5357	1,5156	52,0513	50,8360	50,8355	50,8345	50,8340	80,3180	81 ± 1,2
	65,7168	1,9123	67,6291	66,0635	66,0620	66,0619	66,0617	81,9641	
<i>Subp. seco de cacao</i>	74,6760	1,7715	76,4475	76,2851	76,2848	76,2841	76,2836	9,2520	9 ± 0,3
	81,0322	1,7472	82,7794	82,6135	82,6118	82,6111	82,6109	9,6440	

Muestra	w cápsula (g)	w muestra (g)	w cáp. + w muestra (g)	w f1 (g)	w f2 (g)	w f3 (g)	w f4 (g)	% Humedad	
<i>Subp. fresco de banano</i>	23,9296	1,7485	25,6781	24,1375	24,1343	24,1320	24,1314	88,4587	88 ± 0,2
	23,4469	1,7401	25,1870	23,6576	23,6547	23,6541	23,6538	88,1099	
<i>Subp. seco de banano</i>	23,7974	1,2825	25,0799	25,0352	25,0330	25,0309	25,0307	3,8363	4 ± 0,1
	23,2980	1,2270	24,5250	24,4766	24,4760	24,4757	24,4755	4,0342	

Los resultados están expresados en porcentaje, reportando el valor promedio de dos repeticiones ± desviación estándar.

**Pf** = Peso final en gramos (**w f (g)**) - Peso de la cápsula en gramos (**w cápsula (g)**)

**Pi** = Peso de la muestra en gramos (**w muestra (g)**)

$$\% \text{Humedad} = \frac{P_i - P_f}{P_i} * 100 \text{ (Meza et al. 2013)}$$

$$\% \text{Humedad} = \frac{1,5156 - 0,2983}{1,5156} * 100$$

$$\% \text{Humedad} = 80,3180$$

**Anexo B.** Datos fibra dietaria total.

<b>Fibra Dietaria Total</b>															
<i>Muestra</i>	<i>Peso muestra (g)</i>	<i>Peso residuo (g)</i>	<i>w cápsula (g)</i>	<i>w papel filtro (g)</i>	<i>w cápsula, residuo, papel filtro (g)</i>	<i>w cenizas (g)</i>	<i>Viraje muestra (ml)</i>	<i>Peso cenizas (g)</i>	<i>Peso proteína (g)</i>	<i>FDT</i>	<i>Humedad</i>	<i>FDT BS</i>			
Cacao 1 c	1,0028	0,6643	74,7843	0,9032	76,3518	74,8716	0	0,0873	0	51,79	9	57,2	57,1 ± 0,03		
Cacao 1 p	1,0042	0,6655	82,2341	0,9143	83,8139	0	4,2	0	0,0326						
Cacao 2 c	1,0019	0,6627	122,9368	0,9127	124,5122	123,0253	0	0,0885	0			51,74		57,1	
Cacao 2 p	1,0021	0,6653	66,5546	0,8903	68,1102	0	4,1	0	0,0317	51,78		57,1			
Cacao 3 c	1,0026	0,6636	112,5089	0,9113	114,0838	112,5979	0	0,0890	0	48,34		4		50,4	50,3 ± 0,14
Cacao 3 p	1,0035	0,6654	53,3638	0,9127	54,9419	0	4,0	0	0,0308						
Banano 1 c	1,0036	0,6719	52,7436	0,9190	54,3345	52,8370	0	0,0934	0		48,30		50,3		
Banano 1 p	1,0025	0,6709	112,6841	0,9009	114,2559	0	8,2	0	0,0679	48,09	50,1				
Banano 2 c	1,0028	0,6728	81,5542	0,8992	83,1262	81,6486	0	0,0944	0	48,09	4		50,3	50,3 ± 0,14	
Banano 2 p	1,0015	0,6722	116,1282	0,9213	117,7217	0	8,3	0	0,0687						
Banano 3 c	1,0038	0,6715	113,8181	0,9105	115,4001	113,9142	0	0,0961	0						
Banano 3 p	1,0032	0,6704	92,3914	0,9265	93,9883	0	8,1	0	0,0670						
Blanco 1 c	0	0,0303	51,3929	0,8978	52,3210	51,3930	0	0,0001	0						
Blanco 1 p	0	0,0205	85,7584	0,8895	86,6684	0	0,5	0	0,0000						

Los resultados están expresados en g/100g, reportando el valor promedio de tres repeticiones ± desviación estándar.

**BS** = Base seca

**w** = Peso

**Peso muestra (g)** = M

**Peso residuo (g)** = R

**Peso proteína (g)** = p

**Peso cenizas (g)** = c

**Humedad** = Humedad final



**Anexo C. Cálculos de fibra dietaria total.**

Ejemplo de cálculo de la primera muestra de cacao

**Residuo de Cacao 1 c**

$$\text{Peso residuo} = ((w \text{ cápsula} + w \text{ papel filtro} + w \text{ residuo seco}) - w \text{ papel filtro} - w \text{ cápsula})$$

$$\text{Peso residuo} = (76,3518 \text{ g} - 0,9032 \text{ g} - 74,7843 \text{ g})$$

$$\text{Peso residuo (R1)} = 0,6643 \text{ g}$$

**Residuo de Cacao 1 p**

$$\text{Peso residuo} = ((w \text{ cápsula} + w \text{ papel filtro} + w \text{ residuo seco}) - w \text{ papel filtro} - w \text{ cápsula})$$

$$\text{Peso residuo} = (83,8139 \text{ g} - 0,9143 \text{ g} - 82,2341 \text{ g})$$

$$\text{Peso residuo (R2)} = 0,6655 \text{ g}$$

**Peso cenizas**

$$\text{Ceniza} = \frac{(w \text{ cenizas} - w \text{ cápsula})}{\text{Peso residuo}} * 100$$

$$\text{Ceniza} = \frac{74,8716 \text{ g} - 74,7843 \text{ g}}{0,6643 \text{ g}} * 100 = 13,14$$

$$13,14 \text{ g} \text{ _____ } 100 \text{ g}$$

$$X \text{ _____ } 0,6643 \text{ g}$$

$$c = 0,0873 \text{ g}$$

**Peso proteína**

$$\% \text{Nitrogeno} = \frac{(\text{viraje muestra} - \text{viraje blanco}) * N_{\text{Real HCl}} * 1,4007}{\text{Peso residuo}}$$

$$\% \text{Nitrogeno} = \frac{((4,2 - 0,5) * 0,1007 * 1,4007)}{0,6655 \text{ g}} = 0,7842$$

$$\% \text{Proteína} = 0,7842 * 6,25 = 4,90$$

$$4,90 \text{ g} \text{ _____ } 100 \text{ g}$$

$$X \text{ _____ } 0,6655 \text{ g}$$

$$p = 0,0326 \text{ g}$$

Ejemplo de cálculo del blanco

### Residuo del Blanco 1 c

$$\text{Peso residuo} = ((w \text{ cápsula} + w \text{ papel filtro} + w \text{ residuo seco}) - w \text{ papel filtro} - w \text{ cápsula})$$

$$\text{Peso residuo} = (52,3210 \text{ g} - 0,8978 \text{ g} - 51,3929 \text{ g})$$

$$\text{Peso residuo (BR1)} = 0,0303 \text{ g}$$

### Residuo del Blanco 1 p

$$\text{Peso residuo} = ((w \text{ cápsula} + w \text{ papel filtro} + w \text{ residuo seco}) - w \text{ papel filtro} - w \text{ cápsula})$$

$$\text{Peso residuo} = (86,6684 \text{ g} - 0,8895 \text{ g} - 85,7584 \text{ g})$$

$$\text{Peso residuo (BR2)} = 0,0205 \text{ g}$$

### Peso cenizas

$$\text{Ceniza} = \frac{(w \text{ cenizas} - w \text{ cápsula})}{\text{Peso residuo}} * 100$$

$$\text{Ceniza} = \frac{51,3930 \text{ g} - 51,3929 \text{ g}}{0,0303 \text{ g}} * 100 = 0,3300$$

$$0,3300 \text{ g} \text{ _____ } 100 \text{ g}$$

$$X \text{ _____ } 0,0303 \text{ g}$$

$$\text{Bc} = 0,0001 \text{ g}$$

### Peso proteína

$$\% \text{Nitrogeno} = \frac{(\text{viraje muestra} - \text{viraje blanco}) * N_{\text{Real HCl}} * 1,4007}{\text{Peso residuo}}$$

$$\% \text{Nitrogeno} = \frac{((0,5 - 0,5) * 0,1007 * 1,4007)}{0,0205 \text{ g}} = 0$$

$$\% \text{Proteína} = 0 * 6,25 = 0$$

$$0 \text{ g} \text{ _____ } 100 \text{ g}$$

$$X \text{ _____ } 0,0205 \text{ g}$$

$$\text{Bp} = 0 \text{ g}$$

### Blanco

$$B = \frac{BR1 + BR2}{2} - Bp - Bc$$

$$B = \frac{0,0303 + 0,0205}{2} - 0,0001$$

$$B = 0,0253 \text{ g}$$

$$FDT = \left( \frac{\frac{R1 + R2}{2} - p - c - B}{\frac{M1 + M2}{2}} \right) * 100$$

$$FDT = \left( \frac{\frac{0,6643 + 0,6655}{2} - 0,0326 - 0,0873 - 0,0253}{\frac{1,0028 + 1,0042}{2}} \right) * 100$$

$$FDT = 51,79$$

$$FDT \text{ BS} = \frac{FDT * 100}{100 - \text{Humedad final}}$$

$$FDT \text{ BS} = \frac{51,79 * 100}{100 - 9}$$

$$FDT \text{ BS} = 57,2 \frac{g}{100 g}$$

**Anexo D.** Datos de la cuantificación de la actividad antioxidante (DPPH).

Extracciones	Muestra	w Muestra (g)	w Residuo (g)	V. Sobrenadantes (mL)	Absorbancia	Co	μmol TE/g muestra		Co	mg α-tocoferol/g muestra		
Extracción de antioxidantes (metanol/agua 50:50 y acetona /agua 70:30)	Cacao 1	0,5001	0,4890	40	0,133	762	122	122 ± 0,2	328	53	53 ± 0,1	
	Cacao 2	0,5000	0,4896	40	0,131	764	122		329	53		
	Cacao 3	0,5002	0,4907	40	0,130	765	122		330	53		
	Banano 1	0,5085	0,4779	40	0,139	756	119	119 ± 0,4	326	51	51 ± 0,2	
	Banano 2	0,5070	0,4791	40	0,141	755	119		325	51		
	Banano 3	0,5061	0,4796	40	0,138	757	120		326	52		
Extracción de taninos hidrolizados (agua/ácido sulfúrico)	Cacao 1	0,2009	0,4890	50	0,146	750	365	366 ± 0,8	323	157	158 ± 0,3	
	Cacao 2	0,2007	0,4896	50	0,145	751	366		323	158		
	Cacao 3	0,2008	0,4907	50	0,146	750	366		323	158		
	Banano 1	0,2079	0,4779	50	0,150	746	337	338 ± 0,9	321	145	146 ± 0,4	
	Banano 2	0,2082	0,4791	50	0,149	747	339		322	146		
	Banano 3	0,2086	0,4796	50	0,151	745	339		321	146		
Extracción de taninos condensados (ácido clorhídrico/butanol 5:95)	Cacao 1	0,2881	0,4890	5	0,175	723	25	25 ± 0,1	311	11	11 ± 0,0	
	Cacao 2	0,2889	0,4896	5	0,171	726	25		312	11		
	Cacao 3	0,2899	0,4907	5	0,176	722	24		310	11		
	Banano 1	0,2700	0,4779	5	0,187	712	25	25 ± 0,1	306	11	11 ± 0,1	
	Banano 2	0,2709	0,4791	5	0,181	717	25		308	11		
	Banano 3	0,2710	0,4796	5	0,189	710	25		305	11		

Los resultados están expresados en μmol TE/g y mg α-tocoferol/g reportando el valor promedio de tres repeticiones ± desviación estándar.

**w Muestra (g)** = Peso de la muestra en gramos

**V. Sobrenadantes (mL)** = Volumen de los sobrenadantes

**Co** = Concentración realizada con datos obtenidos de la curva de calibración

**w Residuo (g)** = Residuo de la primera extracción

**Anexo E.** Cálculo de la actividad antioxidante (DPPH) expresado en  $\mu\text{mol TE/g}$  y  $\text{mg } \alpha\text{T/g}$ .

**Preparación de la solución madre**

**TROLOX**

**Solución Madre**

250290 mg (PM trolox)	→	1000000 $\mu\text{M}$	
25,2 mg (peso trolox)	→	X	
X= 100,7 $\mu\text{M}$			
100,7 $\mu\text{M}$	→	100% Riqueza	
X	←	96 %	
X= 96,7 $\mu\text{M}$			
96,7 $\mu\text{M}$	→	1000 mL	
X	←	100 mL	
<b>Cm T = 967 <math>\mu\text{M}</math></b>			

**TOCOFEROL**

**Solución Madre**

43,6 mg (peso tocoferol)	→	100 mL	
X	←	1 mL	
X= 0,436 mg			
0,436 mg	→	100% Riqueza	
X	←	96%	
X= 0,419 mg			
0,419 mg	→	1 mL	
X	←	1000 mL	
<b>Cm <math>\alpha\text{T}</math> = 419 mg/L</b>			

**Preparación de los estándares (curva de calibración)**

**Ejemplo ET1**

$$C_{mT} * V_{mT} = C_{ET1} * V_{ET1}$$

$$C_{ET1} = \frac{C_{mT} * V_{mT}}{V_{ET1}} = \frac{967 \mu\text{M} * 0,6 \text{ mL}}{25 \text{ mL}} = 23 \mu\text{M}$$

**Ejemplo E $\alpha\text{T}$ 1**

$$C_{m\alpha T} * V_{m\alpha T} = C_{E\alpha T1} * V_{E\alpha T1}$$

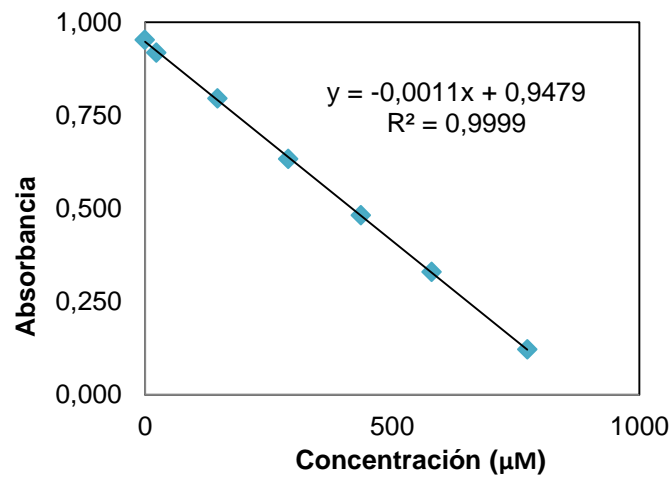
$$C_{E\alpha T1} = \frac{C_{m\alpha T} * V_{m\alpha T}}{V_{E\alpha T1}} = \frac{419 \text{ mg/L} * 0,6 \text{ mL}}{25 \text{ mL}} = 10 \text{ mg/L}$$

### Curvas de calibración con trolox y tocoferol

Estándar	Alícuota (mL)	Aforo (mL)	Concentración (µM)	Absorbancia
E T1	0	25	0	0,952
E T2	0,6	25	23	0,918
E T3	3,8	25	147	0,795
E T4	7,5	25	290	0,633
E T5	11,3	25	437	0,481
E T6	15	25	580	0,329
E T7	20	25	773	0,121

Pendiente
-0,0011

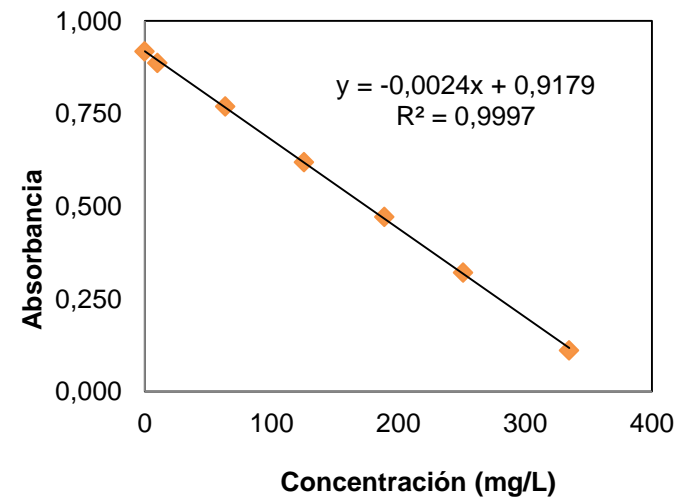
Intersección
0,9479



Estándar	Alícuota (mL)	Aforo (mL)	Concentración (mg/L)	Absorbancia
E αT1	0	25	0	0,918
E αT2	0,6	25	10	0,887
E αT3	3,8	25	64	0,769
E αT4	7,5	25	126	0,619
E αT5	11,3	25	189	0,471
E αT6	15	25	251	0,321
E αT7	20	25	335	0,111

Pendiente
-0,0024

Intersección
0,9179



**Cálculo de la actividad antioxidante (DPPH) de las muestras.**

• **Fracción antioxidantes**

Ejemplo Cacao 1

**Trolox**

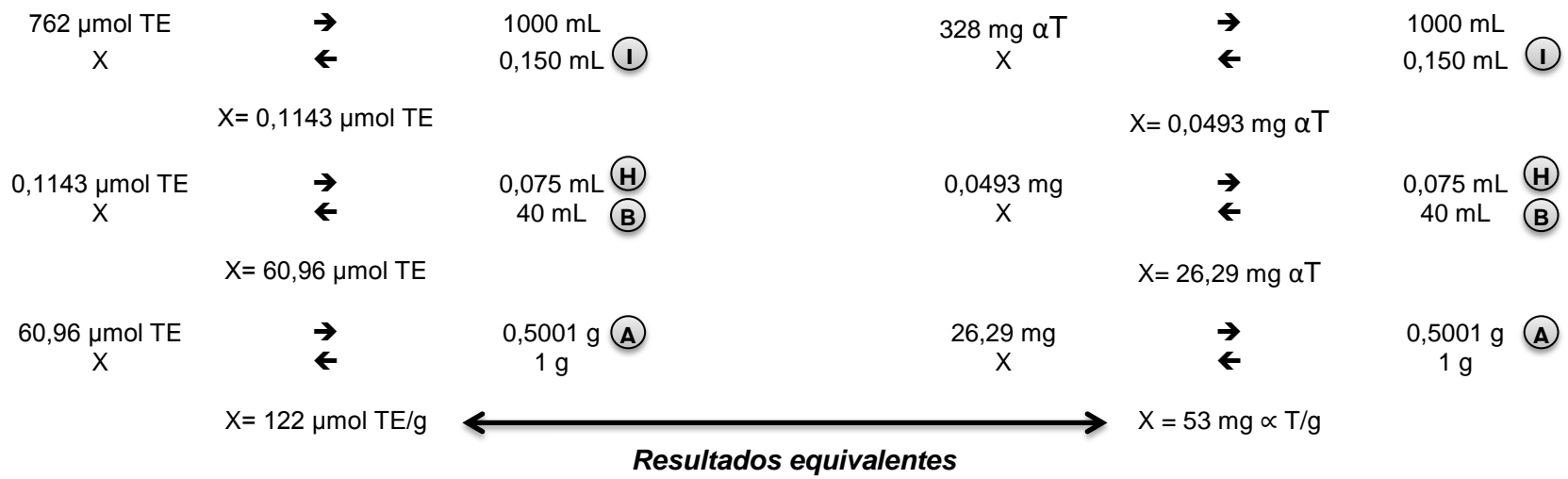
$$Co \text{ cacao 1} = \frac{\text{Absorbancia} - \text{Interseccion}}{\text{Pendiente}}$$

$$Co \text{ cacao 1} = \frac{0,133 - 0,947908623}{-0,00106942 \mu\text{M}^{-1}} = 762 \mu\text{M TE} = 762 \mu\text{mol TE/L}$$

**Tocoferol**

$$Co \text{ cacao 1} = \frac{\text{Absorbancia} - \text{Interseccion}}{\text{Pendiente}}$$

$$Co \text{ cacao 1} = \frac{0,133 - 0,91788973}{-0,0023904 \text{ L/mg}} = 328 \text{ mg } \alpha\text{T/L}$$



- Extracción de taninos hidrolizables

Ejemplo Cacao 1

**Trolox**

$$Co \text{ cacao 1} = \frac{\text{Absorbancia} - \text{Interseccion}}{\text{Pendiente}}$$

$$Co \text{ cacao 1} = \frac{0,146 - 0,947908623}{-0,00106942 \mu\text{M}^{-1}} = 750 \mu\text{M TE} = 750 \mu\text{mol TE/L}$$

750 $\mu\text{mol TE}$	→	1000 mL
X	←	0,150 mL (I)

$$X = 0,1125 \mu\text{mol TE}$$

0,1125 $\mu\text{mol TE}$	→	0,075 mL (H)
X	←	50 mL (E)

$$X = 75 \mu\text{mol TE}$$

75 $\mu\text{mol TE}$	→	0,2009 g (D)
X	←	0,4890 g (C)

$$X = 182,6 \mu\text{mol TE}$$

182,6 $\mu\text{mol TE}$	→	0,5001 g (A)
X	←	1 g

$$X = 365 \mu\text{mol TE/g}$$

**Tocoferol**

$$Co \text{ cacao 1} = \frac{\text{Absorbancia} - \text{Interseccion}}{\text{Pendiente}}$$

$$Co \text{ cacao 1} = \frac{0,146 - 0,91788973}{-0,0023904 \text{ L/mg}} = 323 \text{ mg } \alpha\text{T/L}$$

323 mg $\alpha\text{T}$	→	1000 mL
X	←	0,150 mL (I)

$$X = 0,0485 \text{ mg } \alpha\text{T}$$

0,0485 mg $\alpha\text{T}$	→	0,075 mL (H)
X	←	50 mL (E)

$$X = 32,33 \text{ mg } \alpha\text{T}$$

32,33 mg $\alpha\text{T}$	→	0,2009 g (D)
X	←	0,4890 g (C)

$$X = 78,69 \text{ mg } \alpha\text{T}$$

78,69 mg $\alpha\text{T}$	→	0,5001 g (A)
X	←	1 g

$$X = 157 \text{ mg } \alpha\text{T/g}$$

←—————→  
**Resultados equivalentes**



- Extracción de taninos condensados

Ejemplo Cacao 1

**Trolox**

$$Co \text{ cacao 1} = \frac{\text{Absorbancia} - \text{Interseccion}}{\text{Pendiente}}$$

$$Co \text{ cacao 1} = \frac{0,175 - 0,947908623}{-0,00106942 \mu\text{M}^{-1}} = 723 \mu\text{M TE} = 723 \mu\text{mol TE/L}$$

$$\begin{array}{ccc} 723 \mu\text{mol TE} & \rightarrow & 1000 \text{ mL} \\ X & \leftarrow & 0,150 \text{ mL } \textcircled{\text{I}} \end{array}$$

$$X = 0,1083 \mu\text{mol TE}$$

$$\begin{array}{ccc} 0,1083 \mu\text{mol TE} & \rightarrow & 0,075 \text{ mL } \textcircled{\text{H}} \\ X & \leftarrow & 5 \text{ mL } \textcircled{\text{G}} \end{array}$$

$$X = 7,22 \mu\text{mol TE}$$

$$\begin{array}{ccc} 7,22 \mu\text{mol TE} & \rightarrow & 0,2881 \text{ g } \textcircled{\text{F}} \\ X & \leftarrow & 0,4890 \text{ g } \textcircled{\text{C}} \end{array}$$

$$X = 12,25 \mu\text{mol TE}$$

$$\begin{array}{ccc} 12,25 \mu\text{mol TE} & \rightarrow & 0,5001 \text{ g } \textcircled{\text{A}} \\ X & \leftarrow & 1 \text{ g} \end{array}$$

$$X = 25 \mu\text{mol TE/g}$$

**Tocoferol**

$$Co \text{ cacao 1} = \frac{\text{Absorbancia} - \text{Interseccion}}{\text{Pendiente}}$$

$$Co \text{ cacao 1} = \frac{0,175 - 0,91788973}{-0,0023904 \text{ L/mg}} = 311 \text{ mg } \alpha\text{T/L}$$

$$\begin{array}{ccc} 311 \text{ mg } \alpha\text{T} & \rightarrow & 1000 \text{ mL} \\ X & \leftarrow & 0,150 \text{ mL } \textcircled{\text{I}} \end{array}$$

$$X = 0,0467 \text{ mg } \alpha\text{T}$$

$$\begin{array}{ccc} 0,0467 \text{ mg } \alpha\text{T} & \rightarrow & 0,075 \text{ mL } \textcircled{\text{H}} \\ X & \leftarrow & 5 \text{ mL } \textcircled{\text{G}} \end{array}$$

$$X = 3,11 \text{ mg } \alpha\text{T}$$

$$\begin{array}{ccc} 3,11 \text{ mg } \alpha\text{T} & \rightarrow & 0,2881 \text{ g } \textcircled{\text{F}} \\ X & \leftarrow & 0,4890 \text{ g } \textcircled{\text{C}} \end{array}$$

$$X = 5,28 \text{ mg } \alpha\text{T}$$

$$\begin{array}{ccc} 78,69 \text{ mg } \alpha\text{T} & \rightarrow & 0,5001 \text{ g } \textcircled{\text{A}} \\ X & \leftarrow & 1 \text{ g} \end{array}$$

$$X = 11 \text{ mg } \alpha\text{T/g}$$

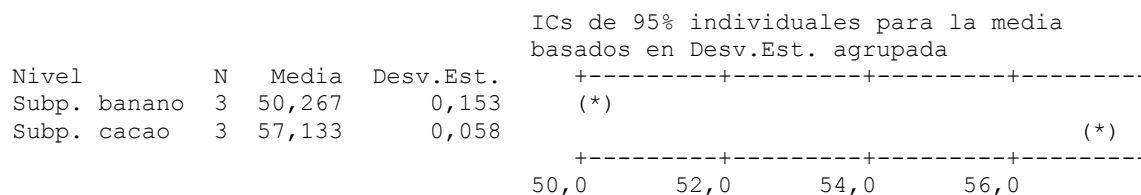
←—————→  
**Resultados equivalentes**

**Anexo F. Análisis estadístico.**

**ANOVA unidireccional: FDT vs. Subproductos**

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Subproductos	1	70,7267	70,7267	5304,50	0,000
Error	4	0,0533	0,0133		
Total	5	70,7800			

S = 0,1155    R-cuad. = 99,92%    R-cuad.(ajustado) = 99,91%

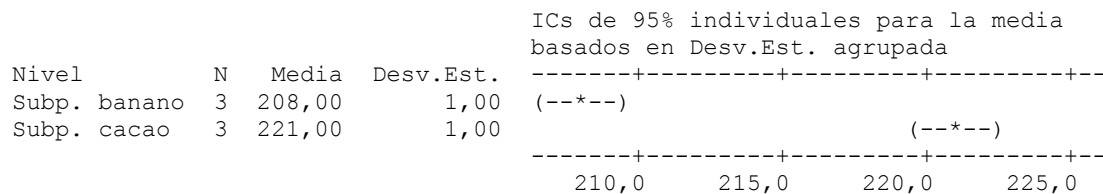


Desv.Est. agrupada = 0,115

**ANOVA unidireccional: DPPH (Tocoferol) vs. Subproductos**

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Subproductos	1	253,50	253,50	253,50	0,000
Error	4	4,00	1,00		
Total	5	257,50			

S = 1    R-cuad. = 98,45%    R-cuad.(ajustado) = 98,06%



Desv.Est. agrupada = 1,00

### ANOVA unidireccional: FTC (192 h) vs. Subproductos

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Subproductos	1	0,0001927	0,0001927	115,60	0,000
Error	4	0,0000067	0,0000017		
Total	5	0,0001993			

S = 0,001291    R-cuad. = 96,66%    R-cuad.(ajustado) = 95,82%

ICs de 95% individuales para la media  
basados en Desv.Est. agrupada

Nivel	N	Media	Desv.Est.	
Subp. banano	3	0,17133	0,00153	-----+-----+-----+-----+----- (-----*-----)
Subp. cacao	3	0,16000	0,00100	-----+-----+-----+-----+----- 0,1600    0,1640    0,1680    0,1720

Desv.Est. agrupada = 0,00129