



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLÓGICA

TITULACIÓN DE BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

Valoración de los subproductos de mango (*Mangifera indica* L.) y guayaba (*Psidium guajava* L.) como fuente de fibra dietaria y antioxidante

TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN.

AUTOR: Rojas Jiménez, Ximena Alexandra

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: "**Valoración de los subproductos de mango (*Mangifera indica* L.) y guayaba (*Psidium guajava* L.) como fuente de fibra dietaria y antioxidante**" realizado por **Ximena Alexandra Rojas Jiménez**, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo.

Loja, marzo de 2014

f) _____

Mg. Sc. Jorge Geovanny Figueroa Hurtado

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

“Yo **Rojas Jiménez Ximena Alexandra** declaro ser autora del presente trabajo de fin de titulación: "**Valoración de los subproductos de mango (*Mangifera indica* L.) y guayaba (*Psidium guajava* L.) como fuente de fibra dietaria y antioxidante**", de la Titulación de Bioquímico Farmacéutico, 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”.

f) _____

Rojas Jiménez Ximena Alexandra

C.I: 1104899263

DEDICATORIA

A mis padres, por su apoyo, comprensión, sacrificio, amor y aliento constante en todo momento y sobre todo por creer en mí, he aquí lo que soy, todo se lo debo a ustedes, los amo. A mis hermanos y sobrino que con igual cariño y empuje han sabido apoyarme constantemente.

Ximena Alexandra Rojas Jiménez

AGRADECIMIENTO

Expreso mis agradecimientos, primeramente a DIOS por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida, por su bendición y amor permanente.

A mis padres, seres incondicionales en cada momento de mi existencia, por su apoyo en todo momento. A mis hermanos, sobrino y familiares por su cariño, confianza y soporte para poder culminar este objetivo.

A la Universidad Técnica Particular de Loja, en especial a la Titulación de Bioquímica y Farmacia por permitirme ser parte integral de la misma; al personal docente, ya que con su enseñanza y orientación han hecho posible la culminación de un noble propósito como es la formación profesional.

Al Departamento de Ciencias Agropecuarias y Alimentos, por haberme permitido desarrollar mi trabajo de fin de titulación.

Un especial reconocimiento al Mg. Sc. Jorge Geovanny Figueroa Hurtado, quien con su experiencia y vastos conocimientos supo dirigir este trabajo de investigación; por su gran calidad humana y don de gente. MUCHAS GRACIAS.

Finalmente, agradezco a mis compañeros y amigos porque de alguna u otra manera fueron un empuje para ser lo que soy ahora.

Gracias a todos.

La autora

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CARÁTULA	i
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
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
LISTA DE ABREVIATURAS	3
INTRODUCCIÓN	5
1. REVISIÓN DE LITERATURA	7
1.1 Aprovechamiento de subproductos	8
1.1.1 Mango.....	8
1.1.2 Guayaba.....	9
1.2 Antioxidantes.....	10
1.2.1 Fuentes de antioxidantes.....	11
1.2.2 Determinación de actividad antioxidante y fenoles totales.....	12
1.3 Fibra dietaria	14
1.4 Fibra dietaria antioxidante	14
2. OBJETIVOS DEL PROYECTO	16
2.1 General	17
2.2 Específico.....	17
3. MATERIALES Y MÉTODOS	18
3.1 Muestras	19
3.2 Método experimental.....	19
3.2.1 Extracción de antioxidantes.....	19
3.2.2 Cuantificación de la actividad antioxidante.....	21
3.2.3 Determinación de fenoles totales.....	26
3.2.4 Fibra dietaria total.....	27
3.3 Diseño experimental.....	28
4. RESULTADOS Y DISCUSIONES	29
4.1 Actividad antioxidante.....	30
4.2 Fenoles totales.....	33

4.3	Fibra dietaria total.....	34
4.4	Fibra dietaria antioxidante	36
5.	CONCLUSIONES	37
6.	RECOMENDACIONES	39
7.	BIBLIOGRAFÍA	41
ANEXOS	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Obtención de extractos para cuantificación de actividad antioxidante	20
Figura 2. Determinación de actividad antioxidante mediante método DPPH	22
Figura 3. Determinación de actividad antioxidante mediante método FTC	23
Figura 4. Determinación de actividad antioxidante mediante método ABTS	24
Figura 5. Determinación de actividad antioxidante mediante método FRAP	25
Figura 6. Determinación de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu	26
Figura 7. Determinación de Fibra Dietaria Total (FDT)	27

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Actividad antioxidante del subproducto de mango y guayaba medida por el método de DPPH	30
Gráfico 2. Actividad antioxidante medida por el método FTC, en subproductos de mango y guayaba	31
Gráfico 3. Actividad antioxidante medida por el método ABTS, en subproductos de mango y guayaba	32
Gráfico 4. Actividad antioxidante medida por el método FRAP, en subproductos de mango y guayaba	33
Gráfico 5. Fenoles totales de los extractos en sus tres fracciones de mango y guayaba, comparados con otros subproductos	34
Gráfico 6. Fibra dietaria total (FDT) de subproductos mango y guayaba, comparada con otros subproductos	35

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Fuentes antioxidantes de subproductos agroindustriales	12
Tabla 2. Resumen de resultados obtenidos en la presente investigación en subproductos de mango y guayaba	87

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A. Cuantificación de la actividad antioxidante por DPPH	50
Anexo B. Cuantificación de la actividad antioxidante por FTC	57
Anexo C. Cuantificación de la actividad antioxidante por ABTS	64
Anexo D. Cuantificación de la actividad antioxidante por FRAP	71
Anexo E. Cuantificación de fenoles totales	77
Anexo F. Determinación de fibra dietaria total (FDT)	83
Anexo G. Fibra dietaria antioxidante	87
Anexo H. Análisis estadístico	88

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar los subproductos de mango y guayaba como fuente de fibra dietaria antioxidante (FDA). Se trabajó con la piel de mango y para la guayaba con la piel y semillas, generadas en la empresa "Agroficial" (Guayaquil-Ecuador). Se cuantificó la actividad antioxidante por los métodos: DPPH, capacidad de inhibición lipídica (FTC), ABTS, FRAP y fenoles totales (FT); y fibra dietaria total (FDT) por el método de Prosky, empleando el kit de Megazyme. La actividad antioxidante por los métodos DPPH y FTC para mango fue 367 y 511 mg E α -T/g BS, y para guayaba fue 295 y 378 mg E α -T/g BS respectivamente. Por los métodos ABTS y FRAP se encontró para mango 339 y 67 μ mol ET/g BS, y en guayaba 211 y 173 μ mol ET/g BS, respectivamente. El contenido de FT fue 6144 y 4434 mg EAG/100 g BS para mango y guayaba. La FDT para mango fue 36,3 g/100 g BS y 71,2 g/100 g BS para guayaba. Estos resultados indican que el subproducto de guayaba se puede considerar como FDA y el mango como fuente de antioxidantes.

PALABRAS CLAVE: subproducto, mango, guayaba, actividad antioxidante, fibra dietaria

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the by-products of mango and guava as a source of antioxidant dietary fiber (ADF). We worked with the skin to mango and skin and seed to guava, generated in the company "Agroficial" (Guayaquil, Ecuador). The antioxidant activity was measured by the methods: DPPH, inhibition lipid capacity (FTC), ABTS, FRAP and total phenols (FT), and total dietary fiber (TDF) by the method of Prosky, using the kit of Megazyme. The antioxidant activity by DPPH and FTC methods to mango was 367 and 511 mg α -TE/g BS, and guava was 295 and 378 mg α -TE/g BS respectively. By the ABTS and FRAP methods was found to mango 339 and 67 μ mol TE/g BS, and guava 211 and 173 μ mol ET/g BS, respectively. The content of TF was 6144 and 4434 mg AGE/100 BS for mango and guava. The TDF for mango was 36,3 g/100 g BS and guava was 71,2 g/100 g BS. These results indicate that the product of guava can be considered FDA and mango as a source of antioxidants.

KEYWORDS: by-product, mango, guava, antioxidant activity, dietary fiber

LISTA DE ABREVIATURAS

Abs:	absorbancia
ABTS:	ácido 2, 2' Azinobis-3-etil- benzotiazolin-6 sulfónico
AOAC:	Association of Official Analytical Chemists
BHT:	butilado hidroxitolueno
BHA:	hidroxianisol butilado
BS:	base seca
Co:	concentración
DPPH:	2,2-difenil -1-picrilhidrazilo
d:	densidad
Et:	estándar
ET:	equivalentes de Trolox
Eα-T:	equivalente a α -Tocoferol
FDA:	fibra dietaria antioxidante
FDT:	fibra dietaria total
FRAP:	poder antioxidante de reducción férrica
FT:	fenoles totales
FTC:	capacidad de inhibición lipídica
GAE:	equivalentes de ácido gálico
g:	gramo
HCl:	ácido clorhídrico
H₂O d.d:	agua destilada
m:	masa
MeOH:	metanol
mg:	miligramo
mL:	mililitro

N:	normal
n/a:	no aplica
n. d:	no detectado
nm:	nanómetro
PE:	polifenoles extraíbles
PM:	peso molecular
PNE:	polifenoles no extraíbles
rpm:	revoluciones por minuto
SEAG:	solución estándar de ácido gálico
SMT:	solución madre de Trolox
SMαT:	solución madre de α -Tocoferol
μmol:	micromol
μL:	microlitro
μM:	micromolar
v:	volumen
w:	peso

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, la preocupación por el aprovechamiento de subproductos ha tomado gran fuerza entre la comunidad científica y sobre todo a nivel industrial, en donde los procesos de transformación generan subproductos que pueden ser útiles como ingredientes funcionales ricos en polifenoles, carotenoides, vitaminas y fibra dietaria (Kong et al. 2010, Ayala-Zavala et al. 2011, Rufino et al. 2011, Alzate Tamayo et al. 2012). Sin embargo, los subproductos generados en las transformaciones agroindustriales no son aprovechados eficientemente, en parte, porque su valor es aún desconocido y, sobretodo, por la falta de capacidad tecnológica y recursos económicos (Tehranifar et al. 2011).

Estudios recientes han demostrado que los subproductos de mango y guayaba son buena fuente de fibra dietaria y compuestos fenólicos con actividad antioxidante que podrían tener efecto benéfico en la salud humana (Martínez et al. 2012). En el caso del mango, la piel y semilla representan cerca del 60 % del peso de la fruta (Schieber et al. 2003), con un contenido entre 18,5 a 76,80 % de fibra dietaria (FD) (Ayala-Zavala et al. 2011) y fenoles totales de 55 a 110 mg/g de piel en base seca (Ajila et al. 2007a). Para la guayaba el 25 % del peso de la fruta es descartado y contiene entre 48,55 a 49,42 % de FD, compuestos bioactivos como polifenoles solubles y taninos condensados del 26,2 a 77,9 mg/g en peso fresco (Jiménez-Escrig et al. 2001).

Los consumidores son cada vez más conscientes de los problemas de salud relacionados con la dieta, y por lo tanto al momento de elegir un alimento buscan ingredientes que sean seguros y promuevan su bienestar (Fernández-López et al. 2004). Es así, que en los últimos años la relación entre el consumo de frutas y la salud humana ha sido un punto focal de la investigación científica (Quirós Saucedo et al. 2012). Este interés se debe a la búsqueda específica de compuestos contenidos en vegetales que proporcionen beneficios a la salud del consumidor (Palafox-Carlos et al. 2011). Las frutas, además de ser fuente de vitaminas, minerales y fibra, también son fuente rica en compuestos bioactivos que puedan prevenir algunos de los procesos implicados en el desarrollo de cáncer y enfermedades cardiovasculares asociadas al estrés oxidativo (Quirós Saucedo et al. 2012).

La fibra dietaria y los antioxidantes son dos componentes de los alimentos que tanto en la industria como en investigaciones se suelen estudiar por separado (Jiménez-Escrig et al. 2001); de tal modo que el añadir a la fibra los beneficios de los antioxidantes biológicos resulta novedoso y muy beneficioso desde el punto de vista de su futura aplicación como complemento dietético, por sus potenciales efectos en salud (Saura-Calixto 2010). En este

sentido, existen diversos métodos para evaluar la actividad antioxidante basados en distintos aspectos, como la reducción de metales, la capacidad de captación de radicales y la capacidad de inhibir la oxidación lipídica (Kuskoski et al. 2005, Pérez-Jiménez y Saura-Calixto 2007). Es así como este proyecto busca conocer la potencialidad de los subproductos de mango (*Mangifera indica* L.) y guayaba (*Psidium guajava* L.) como fuente de fibra dietaria antioxidante.

1. REVISIÓN DE LITERATURA

1.1 Aprovechamiento de subproductos

La industria alimentaria genera una serie de desechos de toda índole, unos de los más representativos son los orgánicos (Maisuthisakul y Gordon 2009), cuya característica más relevante es su gran disponibilidad y bajo costo, muchos de ellos representan un problema de contaminación (Ángel et al. 2011); existiendo un considerable interés por la industria de alimentos en el aprovechamiento de estos subproductos para potenciar su uso, a la vez que se recupera una valiosa biomasa y diversos nutrientes (Serena y Knudsen 2007).

Los subproductos son productos secundarios que se obtienen al procesar cereales, algas, frutas y verduras, entre otros (Nigam y Pandey 2009); se componen de piel y semillas de diferentes formas y tamaños que normalmente no tienen más uso y son comúnmente desechados (Ayala-Zavala et al. 2010). Los subproductos contienen valiosas sustancias como azúcares, ácidos orgánicos, proteínas, compuestos fenólicos, fibra dietaria, vitaminas y minerales, que pueden ser de interés en las industrias alimentaria, farmacéutica, química y cosmética (Maisuthisakul y Gordon 2009, Vélez et al. 2009). Por ejemplo el polvo obtenido a partir de piel de frutas, puede ser utilizado como fuente de fibra dietaria y antioxidante, que puede añadirse a productos de panadería, cárnicos y otros productos alimenticios (Samonte y Trinidad 2013).

1.1.1 Mango.

El mango (*Mangifera indica* L.), pertenece a la familia Anacardiaceae, es una de las frutas tropicales más cultivadas en el mundo (Ashoush y Gadallah 2011), con una producción mundial de más de 38 millones de toneladas en el 2011 (FAO 2011). En el Ecuador es un producto de gran importancia económica, ya que el país es el cuarto productor en Latinoamérica, después de México, Brasil y Perú. Se cultiva principalmente en la provincia del Guayas (90%) con una superficie aproximada de 7700 ha registradas en plena producción dentro del gremio, y de las cuales, 6500 ha aproximadamente están dedicadas a exportación; las restantes al consumo nacional o a la elaboración de jugos y concentrado de mango (Revista El Agro 2012). El mercado exterior para esta fruta es especialmente importante en Estados Unidos, a donde va el 90% de las casi 10 millones de cajas que el país exporta todos los años; la cantidad representa alrededor de 25 millones de dólares (Diario Hoy 2012).

Durante el procesamiento del mango se genera alrededor del 35-60 % de subproductos del peso total de la fruta, dependiendo de la variedad (Schieber et al. 2003), compuestos por piel (9-40 %) y pulpa adherida a la piel (7-24 %) (Berardini et al. 2005), considerándose un

importante subproducto que no se utiliza actualmente para fines comerciales, a pesar de la valiosa cantidad de compuestos bioactivos que posee (Abdeldaiem y Hoda 2012).

Varios estudios han demostrado que extractos de esta fruta poseen actividades antivirales, antibacterianos, analgésicos, anti-inflamatorios (Barreto et al. 2008). Maisuthisakula y Gordon (2009), muestran que en la semilla la actividad antioxidante es notable, inclusive más alta que en la pulpa misma, por ser una fuente importante de compuestos bioactivos, como polifenoles, carotenoides, mangiferina, catequina, ácido benzoico y gálico, entre otros. Sumaya-Martínez et al. (2012) mencionan que en la piel existe alta concentración de ácido galacturónico, mientras que en la semilla predominan ácidos grasos y compuestos de naturaleza fenólica con actividad antioxidante y antiinflamatoria.

1.1.2 Guayaba.

La guayaba (*Psidium guajava* L.) pertenece a la familia Myrtaceae (Vásquez-Osorio et al. 2013), originaria de América, donde Brasil, Colombia, México y Venezuela producen cantidades significativas de esta fruta (Jiménez-Escrig et al. 2001). Es una especie que se encuentra prácticamente en todas las áreas tropicales y subtropicales del mundo, se caracteriza por su alta capacidad de propagación (Wu et al. 2009). De acuerdo a la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la producción en el mundo fue cerca de 39 millones de toneladas en el 2011. Mientras que a nivel nacional según el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC), para el año 2012 fue de 1.353 toneladas métricas, siendo las provincias de Pastaza, Tungurahua y Morona Santiago las que mayor volumen de producción (López 2008).

La guayaba tiene un reconocido valor nutricional, gracias a su alto contenido de ácido elágico, antocianinas, vitamina C, provitamina A, antioxidantes, fibra y carotenoides, especialmente licopeno (Kong y Ismail 2011), se la utilizada en la industria como materia prima en procesos de confitería, repostería, elaboración de jugos, néctares y bocadillos (Jiménez-Escrig et al. 2001). Así mismo, destacando sus propiedades biológicas, se la emplea como antidiabético, antiinflamatorio, antibacteriano y antiespasmódico para el tratamiento de problemas digestivos, catarro, tos y en afecciones de la piel (Nantitanon et al. 2010) .

En la industria alimenticia, la guayaba genera subproductos (piel, pulpa y semillas), alrededor del 30 % del peso de la fruta (Thongsombat et al. 2007) provenientes de las diferentes etapas de producción: trituración 5 %, refinación 12 % y tamizado 8 % (Kong et al.

2010); que generalmente es utilizado para la alimentación animal y la fertilización (Thongsombat et al. 2007).

Jiménez-Escrig et al. (2001) señalan que la piel y pulpa de la guayaba se puede utilizar como una nueva fuente de fibra dietaria y antioxidantes. Otros estudios han reportado que las semillas de guayaba se pueden considerar como una potencial fuente de antioxidantes que pueden ser explotados como agentes conservantes de alimentos o nutraceuticos (Vasco et al. 2008, Wu et al. 2009, Castro-Vargas et al. 2010).

1.2 Antioxidantes

Mucha atención se ha centrado en la actividad de los antioxidantes naturales presentes en frutas y verduras, ya que potencialmente estos componentes pueden reducir el nivel de estrés oxidativo. El estrés oxidativo se ha definido como una alteración en el estado de equilibrio de los sistemas pro-oxidante y antioxidante en las células, provocando daño oxidativo a lípidos, proteínas, hidratos de carbono y ácidos nucleicos, lo que contribuye a la disfunción patológica en el organismo (Aymoto et al. 2005).

Arnao et al (2001), define a los antioxidantes como “aquellos compuestos capaces de impedir o prevenir la oxidación de distintas moléculas de importancia biológica oxidándose ellos en su lugar”. En términos químicos lo que hacen es eliminar esa capacidad que tienen las sustancias oxidantes de sustraer electrones a otras moléculas (Lim et al. 2007). Esta actividad parece estar relacionada con la capacidad quelante, inhibición de la lipoxigenasa y captura de radicales libres (Quirós Saucedo et al. 2012).

Los antioxidantes se obtienen principalmente a partir de dos rutas; síntesis química y los de extracción de fuente natural (Nantitanon et al. 2010). Los antioxidantes sintéticos como butilado hidroxitolueno (BHT) e hidroxianisol butilado (BHA) se utilizan a menudo en la elaboración de alimentos procesados (Ajila et al. 2007b). Por su parte los antioxidantes naturales presentes en los alimentos y otros materiales biológicos han atraído un considerable interés debido a su seguridad y potencial valor nutricional y terapéutico, por su alto potencial en profilaxis y tratamiento de muchas enfermedades degenerativas causadas por reacciones oxidativas (Nantitanon et al. 2010); reduciendo el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y neurológicas (Aymoto et al. 2005), diversos tipos de cáncer, cataratas, diabetes, hepatitis, artritis (Shivashankara et al. 2004).

Entre los compuestos que pueden actuar como antioxidantes se encuentran vitaminas C y E, carotenoides, antocianinas, flavonoides y otros compuestos fenólicos (Ayala-Zavala et al. 2011); de hecho estos compuestos han demostrado tener efectos antimicrobianos, que

juegan un papel importante en la protección de las frutas contra agentes patógenos, que penetran la membrana celular de los microorganismos y causan lisis (Ayala-Zavala et al. 2011).

Dentro de los antioxidantes se puede destacar los polifenoles, por ser los compuestos bioactivos más abundantes en la dieta, producto del metabolismo secundario de las plantas; su extracción se realiza generalmente con disolventes acuoso-orgánicos (Arranz Martínez 2010, Pérez-Jiménez y Torres 2011) y dependerá de la naturaleza química y del grado de polimerización de los compuestos, método de extracción (polaridad de los solventes), tamaño de partícula de la muestra y de las sustancias que pueden ejercer un efecto de interferencia (Pérez-Jiménez y Torres 2011).

Independientemente del tipo de disolventes que se utilice, la extracción siempre es incompleta y una cantidad de compuestos fenólicos puede quedar en los residuos de la extracción (Pérez-Jiménez y Saura-Calixto 2007). Por ello, se pueden dividir en polifenoles extraíbles (PE), aquellos que se solubilizan en los disolventes acuoso-orgánicos y polifenoles no extraíbles (PNE), los que quedan retenidos en el residuo resultante tras la extracción acuoso-orgánica (Arranz Martínez 2010). Los compuestos extraíbles poseen pesos moleculares bajos o medios, mientras que los no extraíbles son compuestos con un peso molecular elevado o polifenoles de bajo peso molecular unidos a los componentes de la matriz de la fibra dietética o a proteínas que se encuentran en los residuos de dicha extracción acuoso-orgánica o también pueden quedar atrapados en la matriz vegetal inaccesibles a los disolventes (Pérez-Jiménez y Torres 2011).

Según su estructura química los PE además pueden dividirse en estructuras simples como son los ácidos fenólicos que a su vez pueden encontrarse libres o esterificados, en flavonoides y en otras estructuras mucho más complejas; por su parte los PNE incluyen taninos hidrolizables y proantocianidinas de alto peso molecular o también llamados taninos condensados (Tarascou et al. 2010, Pérez-Jiménez y Torres 2011).

1.2.1 Fuentes de antioxidantes.

Las frutas y vegetales contienen gran cantidad de antioxidantes incluyendo compuestos fenólicos, carotenoides, antocianinas, ácido ascórbico y tocoferoles (Ajila et al. 2007b); siendo los subproductos agroindustriales una fuente potencial de compuestos antioxidantes (Ayala-Zavala et al. 2010). En la Tabla 1 se muestran las diferentes fuentes de antioxidantes generadas de subproductos agroindustriales que normalmente se desecha (Ajila et al. 2007b).

Tabla 1. Fuentes antioxidantes de subproductos agroindustriales.

Fruta	Subproducto	Compuesto principal	Referencia
Aguacate	Piel, pulpa, semilla	Ácido ascórbico, gálico, compuestos fenólicos	(Ayala-Zavala et al. 2011)
Guayaba	Piel, pulpa, semilla	Ácido ascórbico, carotenoides, licopeno, vitaminas A y B, ácido elágico, flavonoides	(Jiménez-Escrig et al. 2001, Kong y Ismail 2011)
Mango	Piel, semilla, pulpa	Ácido gálico, mangífera, queretina, ácido elágico, taninos, polifenoles, vitaminas C y A, ácido ascórbico	(Ajila et al. 2007b, Masibo y He 2008, Ribeiro et al. 2008)
Manzana	Piel	Proantocianinas (B1, B2), flavonoides, antocianinas, ácido fenólico	(Goñi y Hervert-Hernández 2011)
Limón	Piel, otros residuos sólidos	Hesperidina, eriocitrina	(Goñi y Hervert-Hernández 2011)
Uva	Piel, pepas	Quercetina, flavonoides, compuestos fenólicos, antocianinas	(Saura-Calixto y Larrauri García 1999, Goñi y Hervert-Hernández 2011)

Fuente: La autora

1.2.2 Determinación de actividad antioxidante y fenoles totales.

Se han desarrollado diversas metodologías para estimar la actividad antioxidante no enzimática de vegetales y sus derivados, basados en: capacidad secuestrante de radicales libres, poder antioxidante de reducción férrica y capacidad de inhibir la oxidación lipídica (Thaipong et al. 2006, Pérez-Jiménez y Saura-Calixto 2007).

Los métodos más empleados son:

- **DPPH.-** Método descrito por Brand-Williams et al. (1995), se basa en cuantificar la capacidad captadora de radicales libres de un extracto, es decir en la reducción del catión radical DPPH[•] frente a los antioxidantes de la muestra, provocando la decoloración del mismo (Molyneux 2004, Huang et al. 2005). Posee una banda de absorción a 515 nm (Thaipong et al. 2006).
- **Capacidad de inhibir la oxidación lipídica (FTC).-** Conocido también como método del tiocianato férrico (FTC). Este método colorimétrico cuantifica la cantidad de peróxido que reacciona con el cloruro ferroso para producir tiocianato férrico, generando un compuesto coloreado, que entre más intenso es, mayor será la oxidación (Farrukh et al. 2006).
- **ABTS.-** Este método mide la capacidad captadora de radicales libres, a través de la decoloración del radical ABTS^{•+}, que se absorbe a una longitud de onda de 734 nm (Arnao et al. 2001). De esta manera, el ABTS^{•+} reacciona con el compuesto polifenólico, ocasionando la formación del ABTS (incolore) y la oxidación del compuesto polifenólico. Entre mayor es la actividad antioxidante del polifenol, mayor es la decoloración generada sobre el ABTS^{•+} (Re et al. 1999).
- **FRAP.-** Método descrito por Benzie & Stran (1996), en donde se cuantifica el poder de reducción del hierro, basada en la habilidad de los compuestos para reducir los complejos amarillos férricos a complejos azules ferrosos por la acción electrodonadora de los antioxidantes, la medida del complejo azul espectroscópicamente indica la capacidad reductora total (Benzie y Strain 1996). Se evalúa la actividad antioxidante de una muestra de acuerdo con su capacidad para reducir el hierro férrico (Fe⁺³) presente en un complejo con la 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) hasta la forma ferrosa (Fe⁺²), que tiene su máxima absorción a 593 nm (Thaipong et al. 2006).
- **Contenido de fenoles totales.-** Este método consiste en la reacción entre el reactivo de Folin Ciocalteu de color amarillo y los grupos fenólicos presentes en la muestra, lo cual produce un complejo de color azul con máxima absorción a 725 nm (Restrepo-Sánchez et al. 2009). Se fundamenta en su carácter reductor y posterior neutralización con Na₂CO₃ (Thaipong et al. 2006).

1.3 Fibra dietaria

La fibra dietaria (FD) se ha definido tradicionalmente como la parte comestible de la planta que es resistente a la hidrólisis por las enzimas digestivas (Saura-Calixto 1998, Figuerola et al. 2005). Está constituido por polisacáridos, oligosacáridos y lignina, así como por compuestos no estructurales como gomas y mucílagos (Grigelmo-Miguel et al. 1999, Chantaro et al. 2008).

La mayor parte de los productos comercializados como fuente de fibra contienen salvados de trigo o avena como constituyente principal (Saura-Calixto y Larrauri García 1999). No obstante, está demostrado que las fibras obtenidas a partir de frutas resultan de mayor calidad, debido a que presentan una composición más equilibrada, menor contenido calórico y ácido fítico, mayor capacidad de retención de agua y aceite, comparado con la FD proveniente de cereales (Saura-Calixto 1998). Su importancia radica en las propiedades fisiológicas en el organismo, ayudando a prevenir la presencia de enfermedades silenciosas (Matos-Chamorro y Chambilla-Mamani 2010), su ingestión se ha relacionado con la prevención, reducción y tratamiento de enfermedades cardiovasculares, diabetes, colesterol y desórdenes gastrointestinales; reduciendo el riesgo de desarrollar algunos tipos de cáncer; así como sus efectos en las propiedades funcionales tecnológicas en los productos alimentarios (Figuerola et al. 2005).

La obtención de fibra dietaria a partir de subproductos de frutas se presenta como una alternativa tanto para un manejo adecuado de los desechos sólidos y disminución de la degradación del medio ambiente, como en la generación de nuevas fuentes de fibra dietaria con características únicas y aplicables, ya sea en la preparación de alimentos funcionales o formas farmacéuticas, con apreciable cantidad de colorantes y compuestos antioxidantes que han demostrado tener diversos efectos positivos para la salud (Ayala-Zavala et al. 2011). Estudios muestran la adición de fibra a los alimentos en productos como panadería, bebidas, confitería, lácteos, carne y pastas (Goñi y Hervert-Hernández 2011), por su bajo costo, como una alternativa para sustituir parcialmente la harina, grasa o azúcar (Martínez et al. 2012).

1.4 Fibra dietaria antioxidante

La fibra dietaria antioxidante (FDA) se refiere “aquella materia prima con un elevado porcentaje de fibra dietética y cantidades apreciables de antioxidantes naturales asociados a la matriz del conjunto de compuestos no digestibles” (Sáyago-Ayerdi y Goñi 2010); que

cumplen un papel importante en la prevención de enfermedades cardiovasculares y gastrointestinales (Rufino et al. 2011).

Para que un material vegetal sea considerado como FDA debe cumplir los siguientes requisitos: su contenido en fibra dietaria (FD) debe ser al menos del 50 % expresado en base seca; 1 g de este material debe tener una capacidad de inhibir la oxidación lipídica equivalente, al menos equivalente a 200 mg de vitamina E y una capacidad secuestrante de radicales al menos equivalente 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).

Para el desarrollo de procesos tecnológicos, la industria alimenticia busca generar alimentos e ingredientes funcionales que integren las propiedades de la fibra con compuestos bioactivos asociados (carotenoides, tocoferoles, flavonoides, etc.) (Saura-Calixto 1998), a pesar de que en la mayoría de casos se los suele estudiar por separado (Sáyago-Ayerdi y Goñi 2010).

Una de las fibras antioxidantes de origen natural es la obtenida de la pulpa de uva con un alto contenido de FD (65 a 80 g/100 g) y de compuestos bioactivos asociados equivalente a 200 - 400 mg α -tocoferol para inhibir la oxidación lipídica y capacidad secuestrante de radicales libres equivalente a 50 - 100 mg α -tocoferol por cada gramo de muestra (Saura-Calixto y Larrauri García 1999, Rufino et al. 2010, Saura-Calixto 2010); utilizada para la formulación de productos cárnicos, donde se ha observado que retarda el proceso oxidativo durante su almacenamiento (Sáyago-Ayerdi y Goñi 2010). Así mismo, Jiménez-Escrig et al. (2001), estudiaron en piel y pulpa de guayaba el contenido de FDA, obteniendo 50 a 67 g/100 g de FD, con una actividad antioxidante por gramo de muestra, equivalente a 50 - 105 mg α - tocoferol.

2. OBJETIVOS DEL PROYECTO

2.1 General

Aportar con ingredientes ricos en fibra y antioxidantes a la industria alimentaria a partir de subproductos.

2.2 Específico

Conocer la potencialidad de los subproductos de mango (*Mangifera indica* L.) y guayaba (*Psidium guajava* L.) como fuente de fibra dietaria antioxidante.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Muestras

Se trabajó con subproductos de mango (*Mangifera indica* L.) variedad Tommy Atkins y guayaba (*Psidium guajava* L.) variedad Red, obtenidos de la empresa Agroficial S.A. de la ciudad de Guayaquil. Los subproductos corresponden a la piel y pulpa adherida para el mango; y piel, semillas y pulpa adherida para la guayaba.

Estos subproductos se deshidrataron hasta una humedad inferior al 10 %, a una temperatura entre 55 a 60 °C por 48 horas en el caso del mango y 45 a 50 °C por 36 horas para la guayaba. Posteriormente se trituraron utilizando un molino vibratorio de discos Retsch hasta un tamaño de partícula entre 125 y 250 µm.

3.2 Método experimental

3.2.1 Extracción de antioxidantes.

La metodología se realizó según lo descrito por Pérez-Jiménez y Saura-Calixto (2007). En la Figura 1 se detalla el procedimiento aplicado. Se pesó 0,5 g de muestra de cada subproducto por triplicado en tubos para centrífuga; a cada uno se colocó 20 mL de metanol/agua (50:50 v/v, pH 2 acidificados con HCl 2N), tras lo que se agitó en el mezclador horizontal marca GFL (modelo 3018) durante 1 hora a 180 rpm. Luego de la maceración dinámica, se pasó por una centrífuga marca CLAY ADAMS® Brand DYNAC® (Becton, Dickinson and Company, MD, USA) a 2800 rpm por 30 minutos, se separó el sobrenadante del residuo, este último se trató con 20 mL de acetona/agua (70:30 v/v) y se agitó durante 1 hora a 180 rpm.

Tras centrifugar nuevamente a 2800 rpm por 30 minutos, se obtuvo un residuo y un sobrenadante que se combinó con el anterior para obtener la fracción 1. El residuo sobrante se dejó secar en el extractor de gases marca LABCONCO por 12 horas, para que se evaporen completamente los solventes utilizados. A continuación se tomó los pesos de cada tubo con los residuos libres de solvente. La determinación de actividad antioxidante se realizó de los sobrenadantes (Jiménez-Escrig et al. 2001).

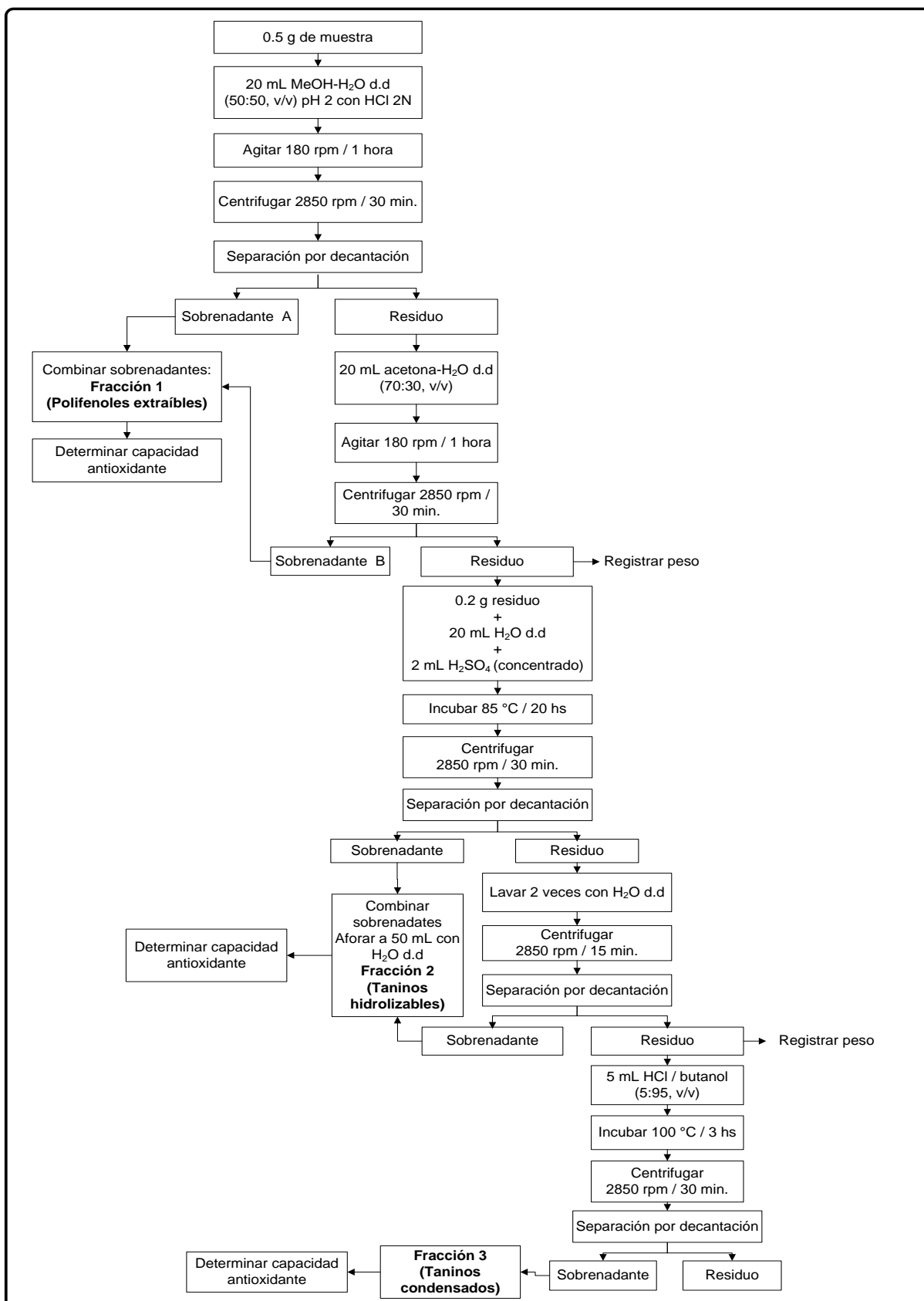


Figura 1. Obtención de extractos para cuantificación de actividad antioxidante.

Fuente: La autora

Para determinar la actividad antioxidante asociada a los residuos generados en la fase anterior, se desarrolló dos tratamientos diferentes sobre los mismos:

- Extracción de taninos hidrolizables (fracción 2). 200 mg del residuo se mezclaron con 20 mL de agua y 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. A continuación, las muestras se incubaron durante 20 horas a 85 °C con agitación constante en el baño maría marca GFL (modelo 1003). Se centrifugó y recogió los sobrenadantes.

Después de dos lavados con agua destilada, el volumen final se llevó a 50 mL. En este sobrenadante se determina la actividad antioxidante.

- Extracción de taninos condensados (fracción 3). Los residuos de la fracción 2 se trataron con HCl/butanol (5:95, v/v) a 100 °C durante 3 horas en la estufa MEMMERT (modelo 420101) y en este sobrenadante se determinó la actividad antioxidante.

3.2.2 Cuantificación de la actividad antioxidante.

Con la finalidad de evaluar el modo de acción e interacciones sinérgicas de los compuestos antioxidantes (Pérez-Jiménez y Saura-Calixto 2007), se emplearon cuatro métodos para cuantificar la actividad antioxidante total de los subproductos de mango y guayaba: DPPH, FTC, ABTS y FRAP. La actividad antioxidante se evaluó por triplicado en cada fracción y los resultados se los reportó de la sumatoria de las fracciones 1, 2 y 3.

3.2.2.1 Capacidad secuestrante de radicales libres mediante el método DPPH.

Para la determinación de la actividad antioxidante evaluada por DPPH, se empleó el método descrito por Brand-Williams et al. (1995), con modificaciones descritas por (Thaipong et al. 2006). Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de α -tocoferol por gramo de muestra en base seca (mg E α -T/g de muestra BS). En la Figura 2 se presenta el procedimiento aplicado. Los datos y cálculos se detallan en el Anexo A.

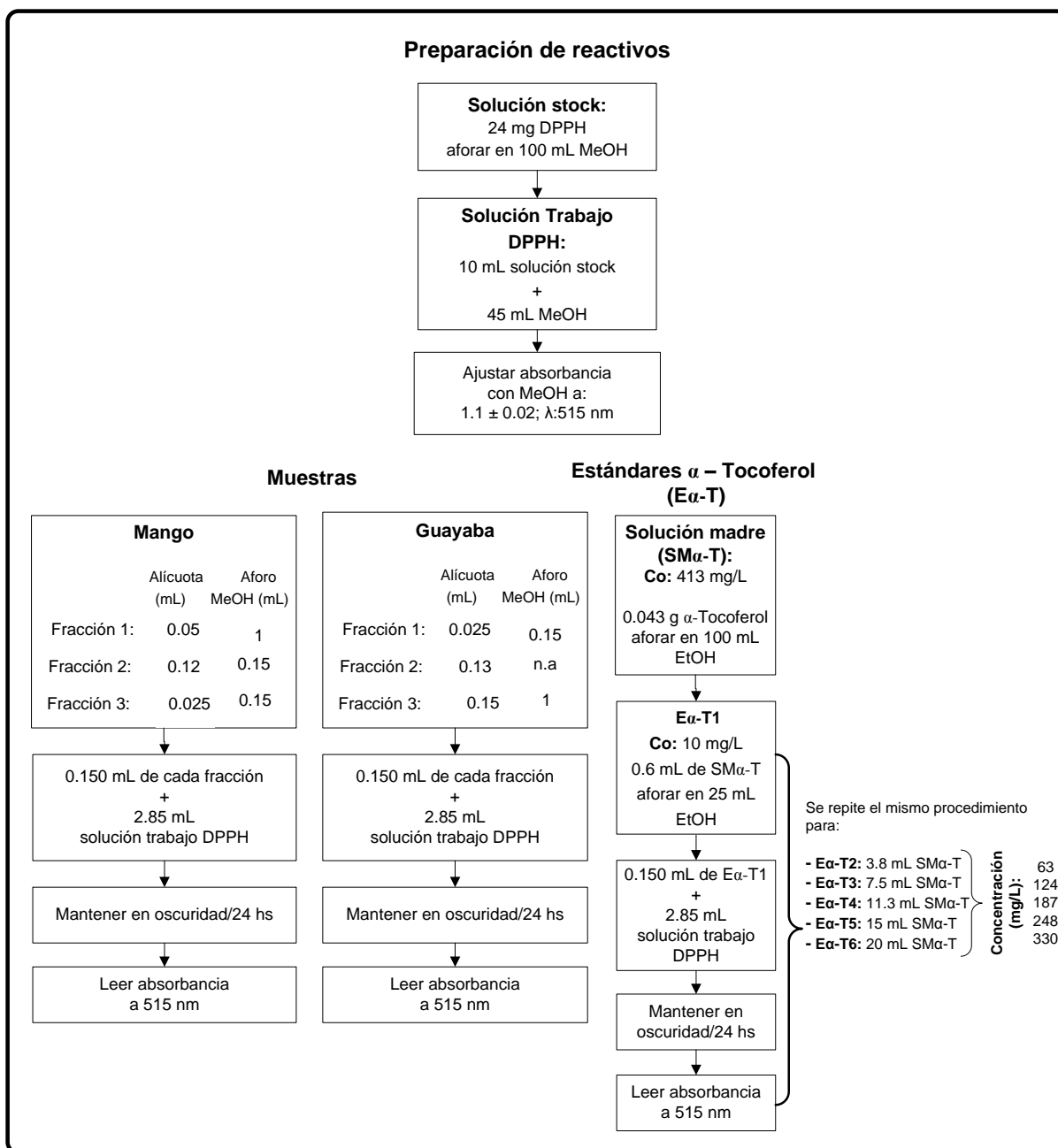


Figura 2. Determinación de actividad antioxidante mediante método DPPH.

Fuente: La autora

3.2.2.3 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 (1993), modificado por Larrauri et al. (1997b). En la Figura 3 se describe el procedimiento seguido. Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de α-tocoferol por gramo de muestra en base seca (mg Eα-T/g de muestra BS). Los datos y cálculos se detallan en el Anexo B.

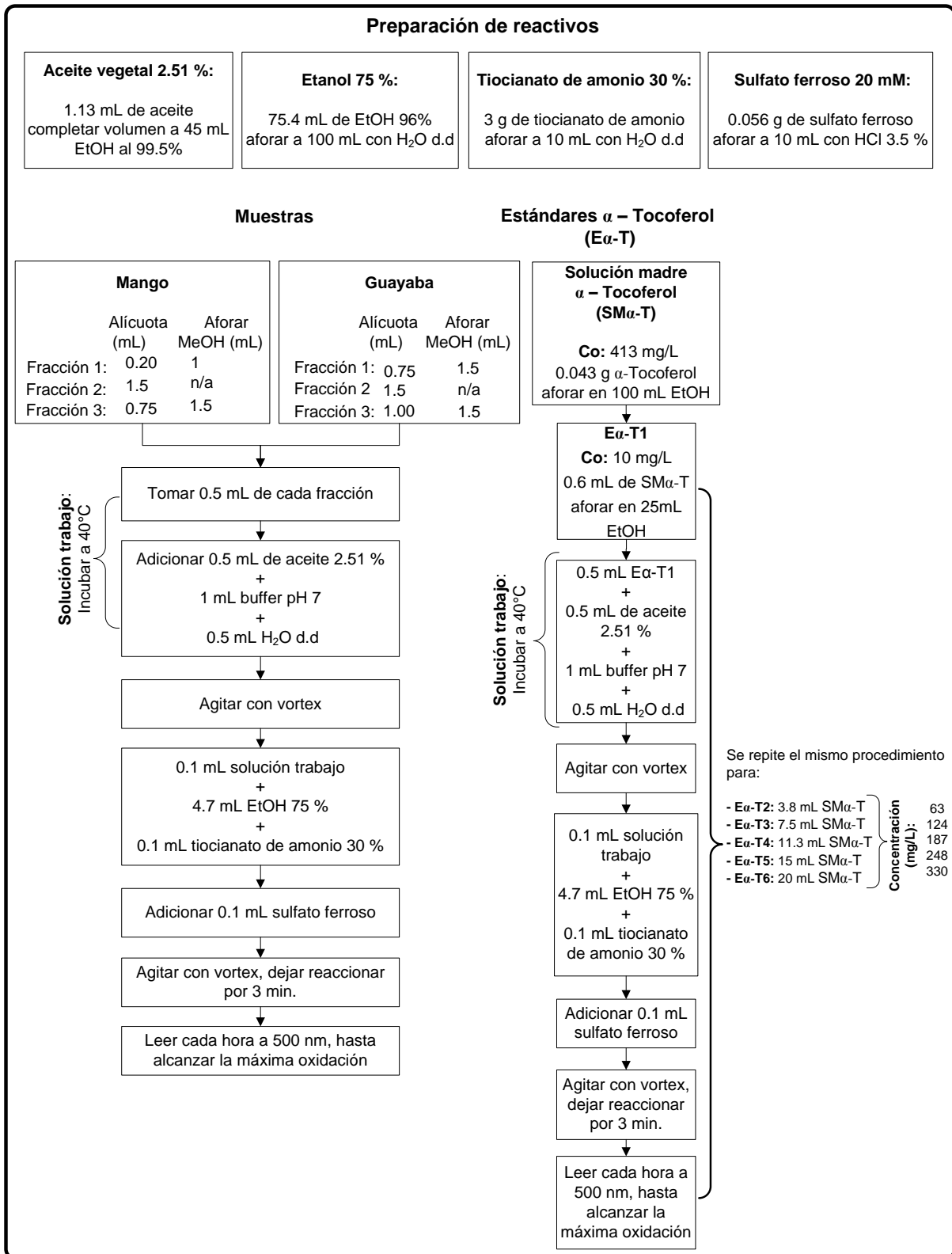


Figura 3. Determinación de actividad antioxidante mediante método FTC.

Fuente: La autora

3.2.2.4. Capacidad secuestrante de radicales libres mediante el método ABTS.

Este método está basado en lo descrito por Arnao et al. (2001); con modificaciones descritas por Thaipong et al. (2006). Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de trolox por gramo de muestra en base seca ($\mu\text{mol ET/g}$ de muestra BS). En la Figura 4 se detalla el procedimiento aplicado. Los datos y cálculos se detallan en el Anexo C.

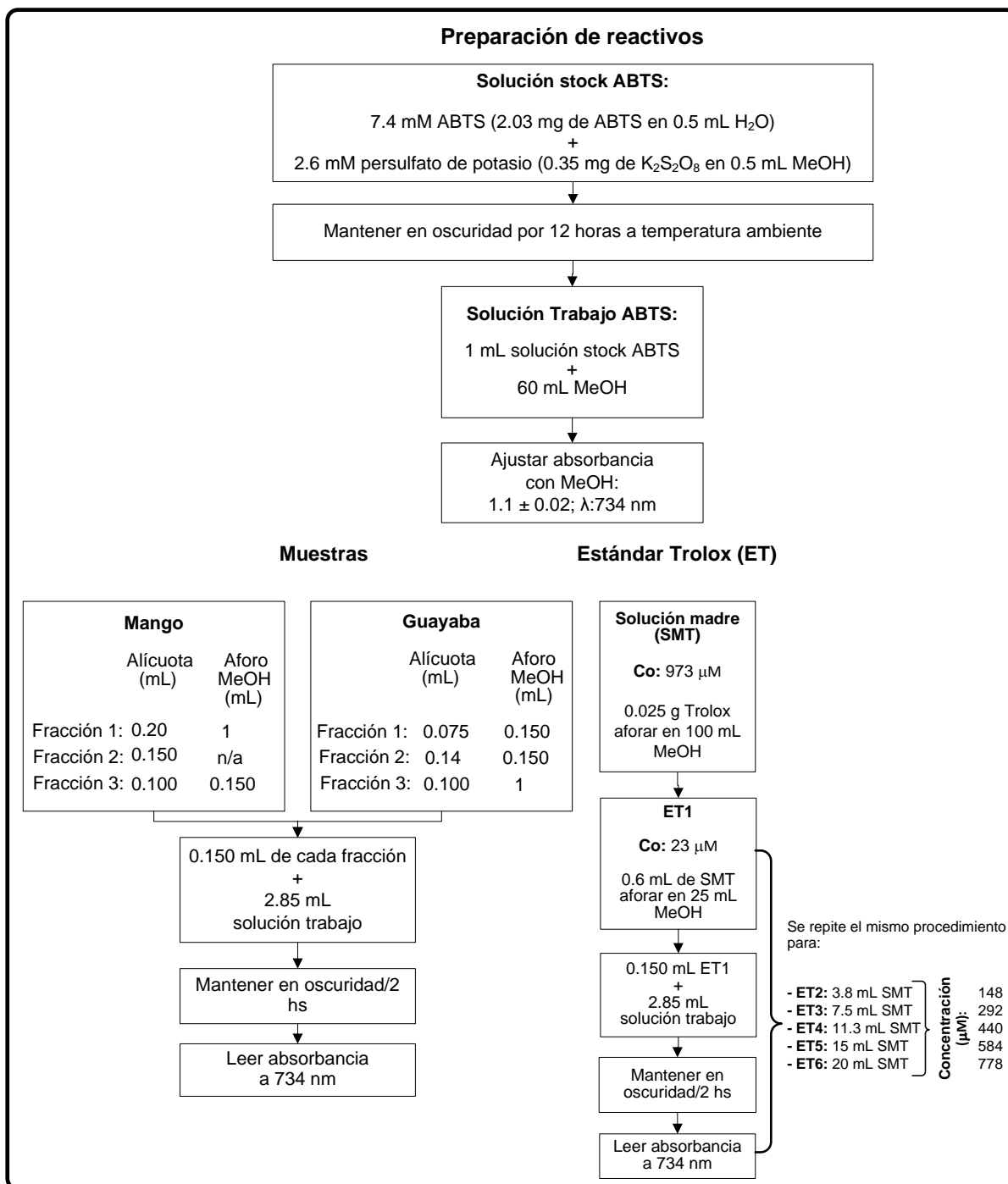


Figura 4. Determinación de actividad antioxidante mediante método ABTS.

Fuente: La autora

3.2.1.2.3 Poder antioxidante de reducción férrica (FRAP).

Para determinar la actividad antioxidante mediante FRAP, se utilizó el método descrito por Benzie y Strain (1996) con modificaciones descritas por Thaipong et al. (2006). Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de trolox por gramo de muestra en base seca ($\mu\text{mol ET/g}$ de muestra BS). En la Figura 5 se presenta el procedimiento seguido. Los datos y cálculos se detallan en el Anexo D.

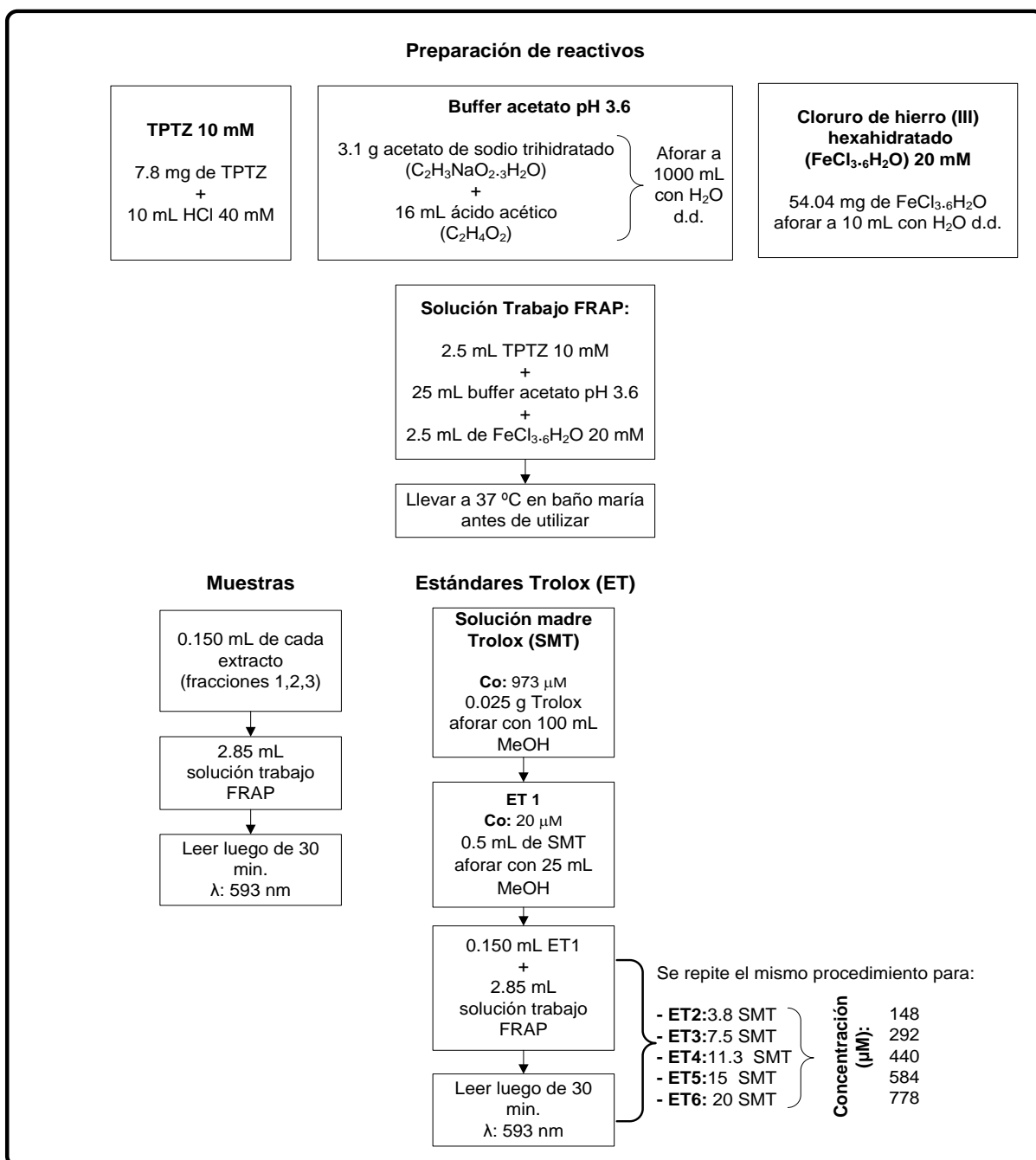


Figura 5. Determinación de actividad antioxidante mediante método FRAP.

Fuente: La autora

3.2.3 Determinación de fenoles totales.

El contenido de fenoles totales (FT) se determinó por el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, adaptado al de Swain & Hillis y modificado por Thaipong et al. (2006). Se construyó una curva patrón usando como estándar ácido gálico (0-0,1 mg/mL). Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico por cada 100 gramos de muestra en base seca (mg EAG/ 100 g BS). En la Figura 6 se detalla el procedimiento aplicado. Los datos y cálculos se detallan en el Anexo E.

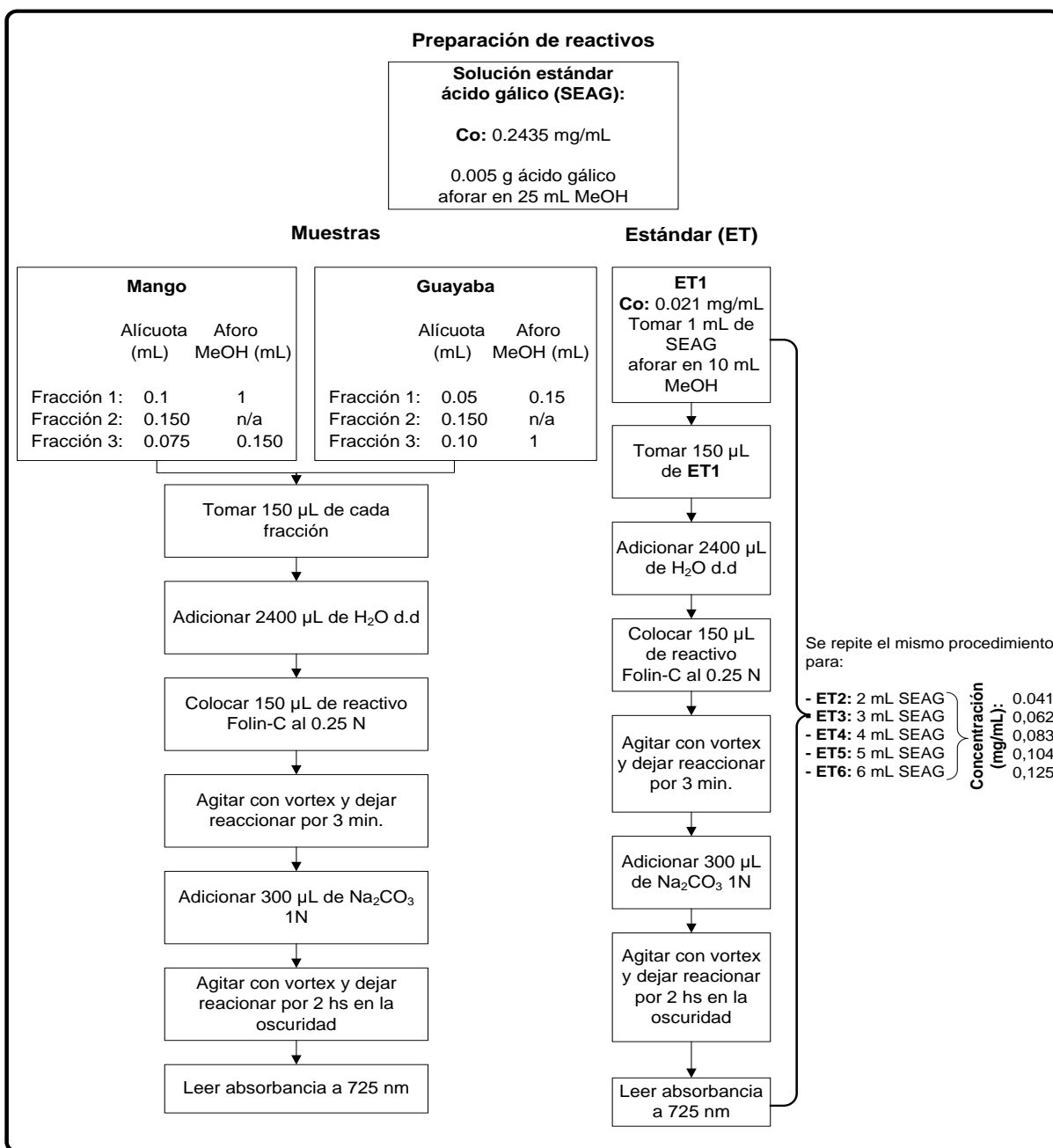


Figura 6. Determinación de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu.

Fuente: La autora

3.2.4 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 32-07.0 (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. En la Figura 7 se resume el procedimiento empleado.

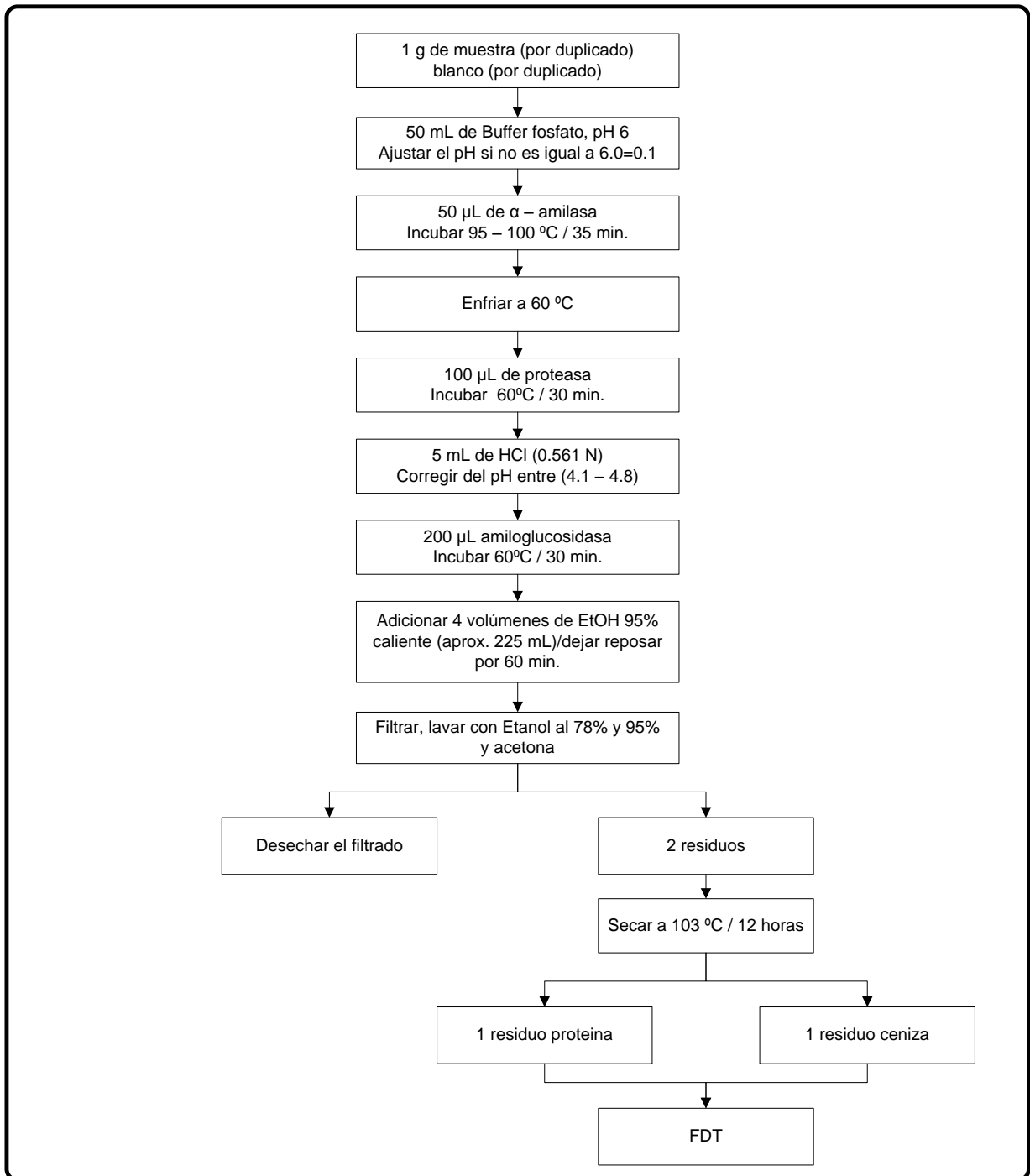


Figura 7. Determinación de Fibra Dietaria Total (FDT).

Fuente: Encalada, M. (2014).

Se utiliza la diferencia de pesos entre la proteína y cenizas del residuo deshidratado para corregir el valor de fibra total, a continuación se detalla la metodología utilizada para estos dos parámetros.

Cenizas.- Para establecer el porcentaje de cenizas, se aplicó el método gravimétrico AOAC 940.26. Determinación de cenizas en frutas y derivados (AOAC 2005). Con ayuda de una hornilla eléctrica, se carbonizó los crisoles con los residuos obtenidos en la fase anterior, hasta eliminar la mayor parte de materia orgánica posible. A continuación se incineró las muestras a una temperatura de 525 °C en la mufla THERMOLYNE (modelo F48015) previamente calentada, hasta observar que las muestras se tornen blancas (aproximadamente 5 horas). Pasado el tiempo de incineración se transfirió los crisoles al desecador por 1 hora, se enfrió y pesó inmediatamente. El porcentaje de cenizas se determinó por diferencia de pesos.

Proteína.- Se determinó por el método de la AOAC 920.152. Determinación de proteína en frutas y derivados (AOAC 2005), donde la muestra se cuantificó mediante la digestión en medio ácido y destilación con ayuda del equipo Kjeldahl (BÜCHI), usando pastillas kjeldahl como catalizador convirtiendo el nitrógeno orgánico en iones de amonio. Posteriormente se realizó la valoración del destilado con una base estandarizada; con este método se determinó el contenido de nitrógeno para convertirlo a proteína corregido con el factor numérico constante de 6,25.

Los datos y cálculos se detallan en el Anexo F.

3.3 Diseño experimental

La actividad antioxidante y fibra dietaria total se evaluó por medio de un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia de $P < 0,05$, empleando el programa Minitab® Statistical Software, versión 16 (Minitab Inc., State College, PA, USA).

4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 Actividad antioxidante

DPPH.- La actividad antioxidante cuantificada en subproductos de mango fue equivalente a 366 mg α -T/g BS, siendo mayor a lo reportado en guayaba (294 mg E α -T/g BS) (Anexo H). Como se puede apreciar en el Gráfico 1, ambos subproductos superan la concentración equivalente a 50 mg de vitamina E por gramo de muestra, cumpliendo con el requisito para ser considerados como fibra dietaria antioxidante (FDA) (Saura-Calixto 1998, Saura-Calixto 2010).

Al comparar los resultados obtenidos en el presente estudio, aplicando el método del DPPH, con otros subproductos considerados como fuente de fibra dietaria antioxidante, se puede notar que el mango y la guayaba poseen mayor actividad antioxidante que lo reportado por Espinosa Cumbicus (2014) en banano (222 mg E α -T/g BS) y cacao (208 mg E α -T/g BS), como se indica en el Gráfico 1.

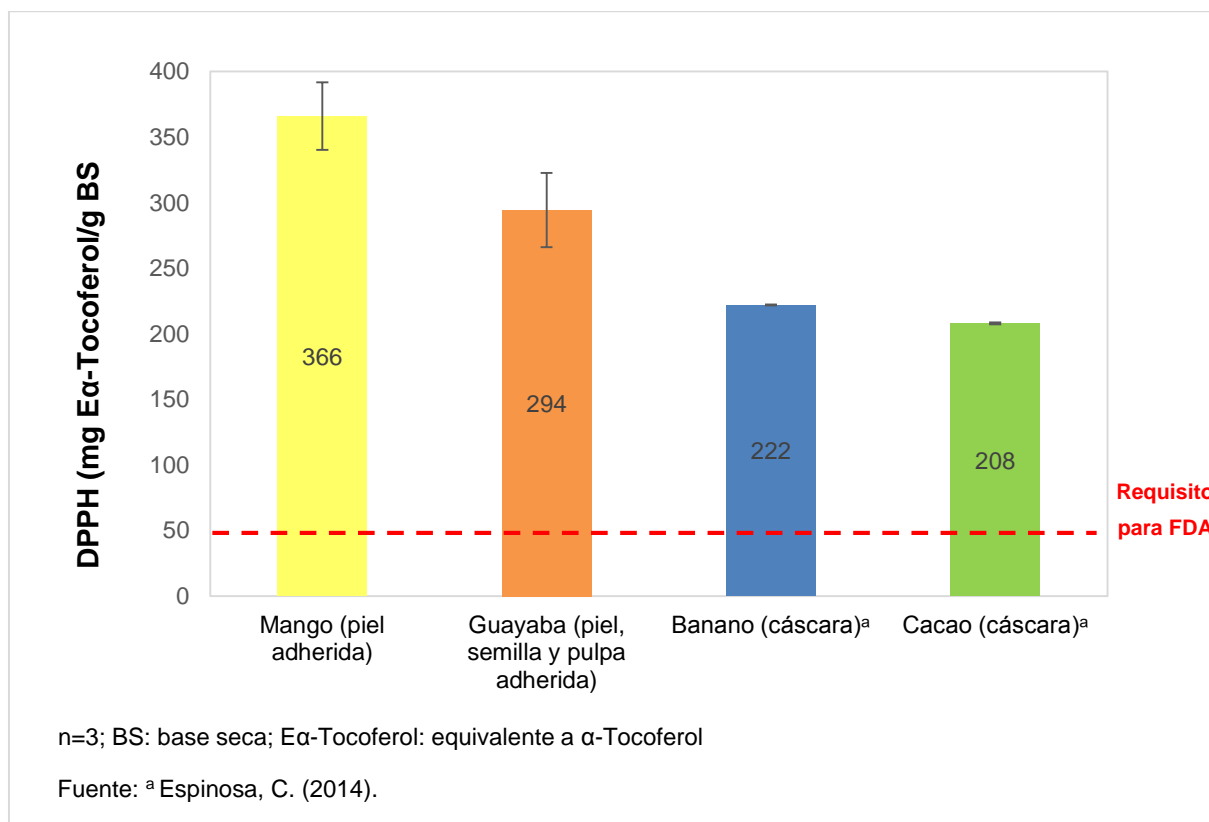


Gráfico 1. Actividad antioxidante del subproducto de mango y guayaba medida por el método de DPPH.

Capacidad de inhibición lipídica (FTC).- En el Gráfico 2 se puede apreciar que los subproductos de mango y guayaba mostraron una excelente capacidad para inhibir la

oxidación lipídica, equivalente a 511 mg α -Tocoferol/g BS y 380 mg α -Tocoferol/g BS respectivamente; superando en ambos casos el requisito para considerarlos como FDA, de que un 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 2010).

Comparando los resultados entre los subproductos de mango (511 mg α -Tocoferol/g BS) y guayaba (380 mg α -Tocoferol/g BS), estudiados en la presente investigación, se puede observar que el mango posee mayor poder de inhibición lipídica que la guayaba (Anexo H). No se pudo hacer la comparación de los resultados del presente estudio con otras investigaciones, debido a que no se reportan en las mismas unidades.

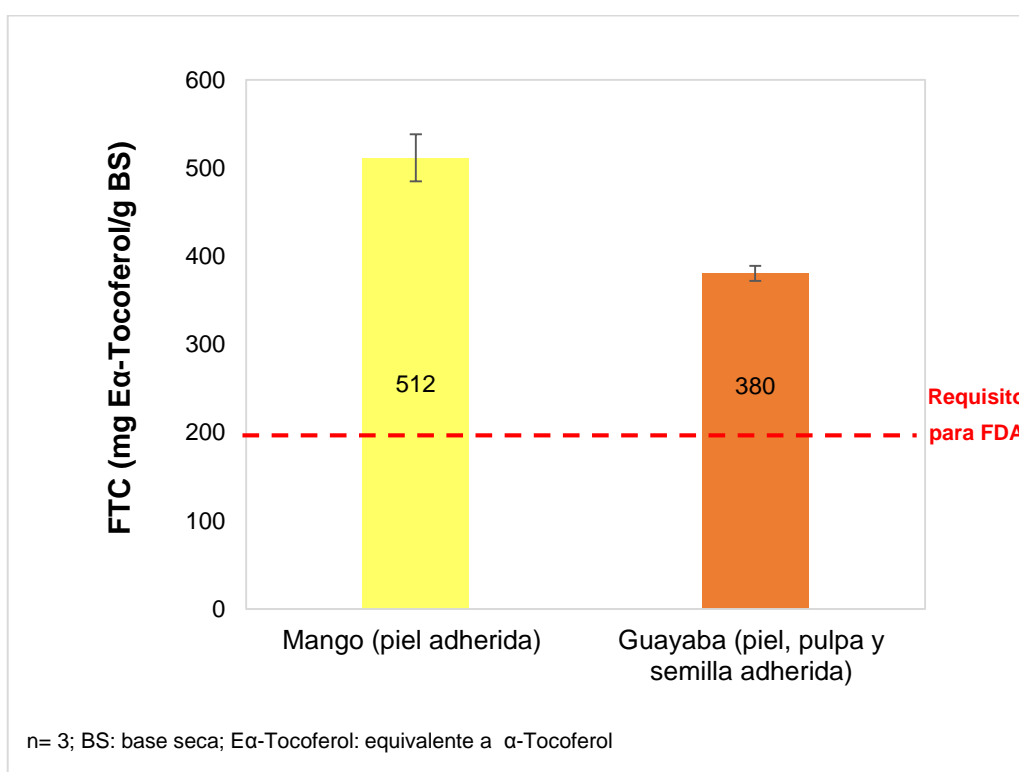


Gráfico 2. Actividad antioxidante medida por el método FTC, en subproductos de mango y guayaba.

ABTS.- De acuerdo a los resultados mostrados en el Gráfico 3, la actividad antioxidante para mango fue equivalente a 339 μ mol de Trolox/g BS y para guayaba 211 μ mol Trolox/g BS; presentando mayor potencial antioxidante el mango que la guayaba (Anexo H). Al comprar estos resultados con otros estudios realizados en subproductos considerados con gran actividad antioxidante, podemos notar que el mango y la guayaba presentan mayor actividad antioxidante que lo reportado por Rufino et al. (2011) para açai (102 μ mol ETrolox/g BS) y similar a marañón (249 μ mol ETrolox/g BS).

En relación con otros subproductos con alta actividad antioxidante, se tiene que lo encontrado por ABTS para mango (339 μmol de Trolox/g BS) y guayaba (211 μmol Trolox/g BS) superan notablemente a lo reportado por Bensadón et al. (2010) en la tuna verde (66 μmol de Trolox/g BS), tuna roja (65 μmol de Trolox/g BS) y cladodios de nopal (52 μmol de Trolox/g BS); pudiendo ser considerados los subproductos de mango y guayaba como fuente de antioxidantes.

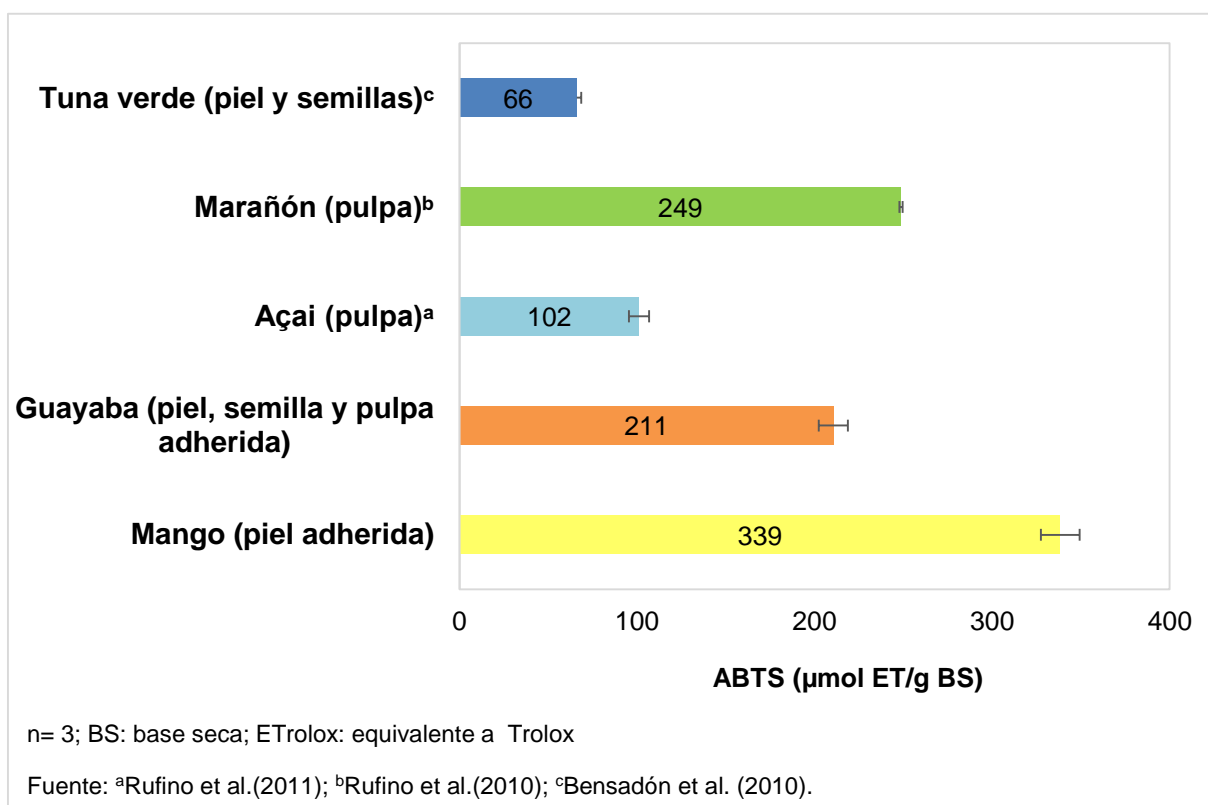


Gráfico 3. Actividad antioxidante medida por el método ABTS, en subproductos de mango y guayaba.

FRAP.- El potencial antioxidante de los subproductos de mango y guayaba se estimó a partir de su capacidad para reducir el hierro férrico a ferroso (Martínez et al. 2012). En el Gráfico 4, se puede apreciar que la actividad antioxidante medida mediante el método FRAP para el mango fue equivalente a 67 μmol Trolox/g BS y para guayaba 173 μmol Trolox/g BS, presentando mayor capacidad reductora los extractos de guayaba (Anexo H). Así mismo, al comparar estos resultados con otras investigaciones, podemos notar que el mango y la guayaba superan a lo reportado por Bensadón et al. (2010) en los subproductos del cladodio de nopal (52 μmol ETrolox/g BS), tuna verde (40 μmol ETrolox/g BS) y tuna roja (47 μmol

ETrolox/g BS); de tal manera que el mango y la guayaba pueden ser considerados como fuente de antioxidantes (Gráfico 4).

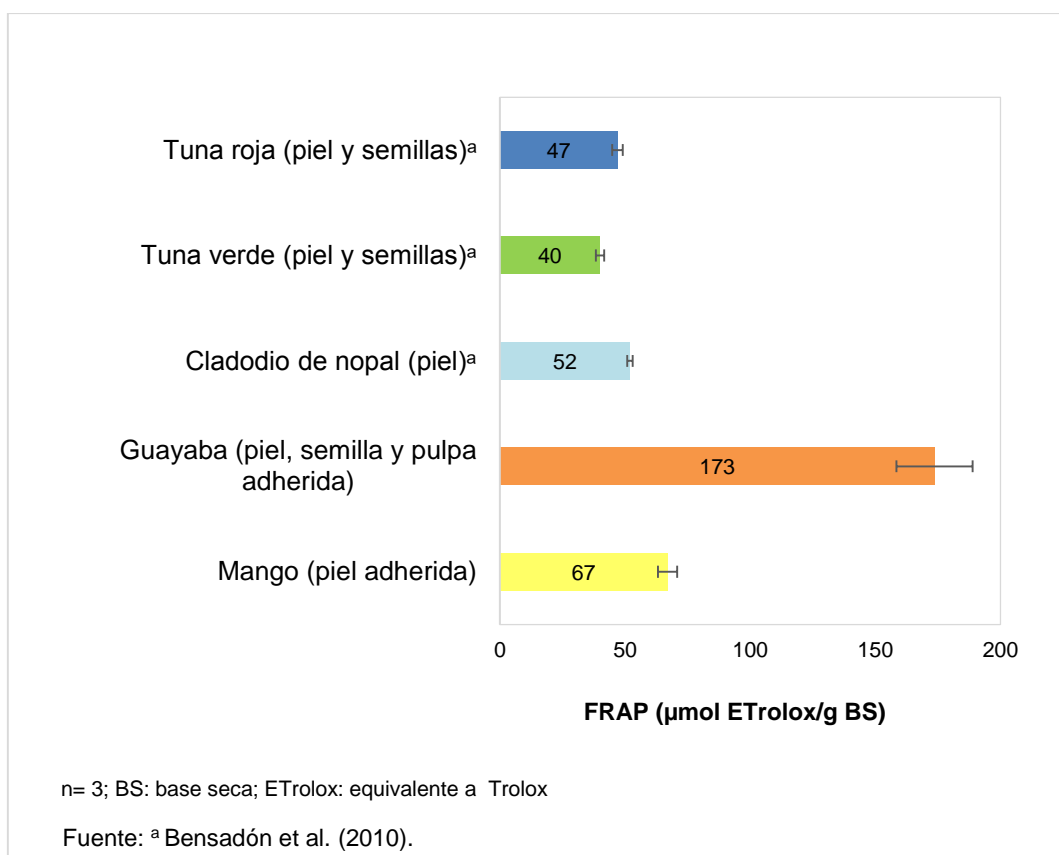


Gráfico 4. Actividad antioxidante medida por el método FRAP, en subproductos de mango y guayaba.

4.2 Fenoles totales

El contenido de fenoles totales (FT) determinado en extractos de guayaba y mango se ilustran en el Gráfico 5. Con respecto al contenido de FT podemos apreciar que existe mayor concentración en el mango (6144 mg EAG/100 g BS) que en la guayaba (4434 mg EAG/100 g BS) (Anexo H). Estos resultados se los puede comparar con otros subproductos considerados fuente de compuestos fenólicos como açai (4330 mg EAG/100 g BS) (Rufino et al. 2011) y con los reportados por Bensadón et al. (2010) en cladodio de nopal (2690 mg EAG/100 g BS), tuna verde (2760 mg EAG/100 g BS) y tuna roja (1540 mg EAG/100 g BS).

Vasco et al. (2008), para el contenido de polifenoles quienes probaron en 17 frutas tropicales de Ecuador, determinando tres categorías para las muestras en base seca: bajo (< 1,000 mg EAG/100 g), medio (1000-5000 mg EAG/100 g) y alta (> 5000 mg EAG/100 g); ubicándose los subproductos de mango en la categoría alta, mientras que la guayaba en la categoría media.

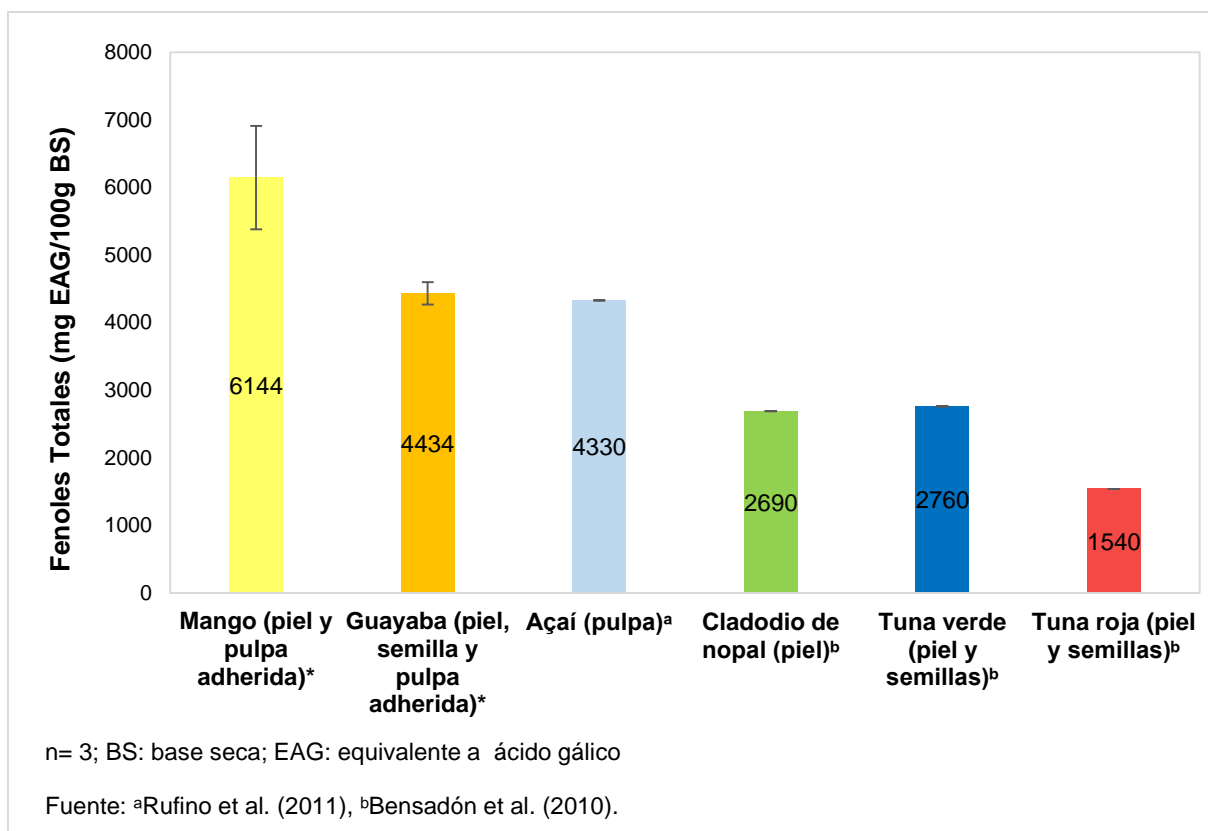


Gráfico 5. Fenoles totales de los extractos en sus tres fracciones de mango y guayaba, comparados con otros subproductos.

En este sentido, se puede apreciar que son numerosos los autores, que muestran en sus trabajos una relación proporcional entre la actividad antioxidante de los extractos producidos y la concentración de FT en los mismos (Pérez-Jiménez y Saura-Calixto 2007, Rufino et al. 2010, Saura-Calixto 2010, Vega-Vega et al. 2013).

4.3 Fibra dietaria total

En el Gráfico 6 se puede apreciar que el contenido de fibra dietaria total (FDT) en los subproductos de guayaba (71,2 g/100 g BS) cumple con la característica para ser considerado fuente de fibra dietaria antioxidante, disponiendo de una concentración de FDT mayor a 50 g/100 g BS (Saura-Calixto 1998, Saura-Calixto y Jiménez Escrig 2002, Saura-Calixto 2010); en cambio el mango no cumple con 36,3 g/100 g BS.

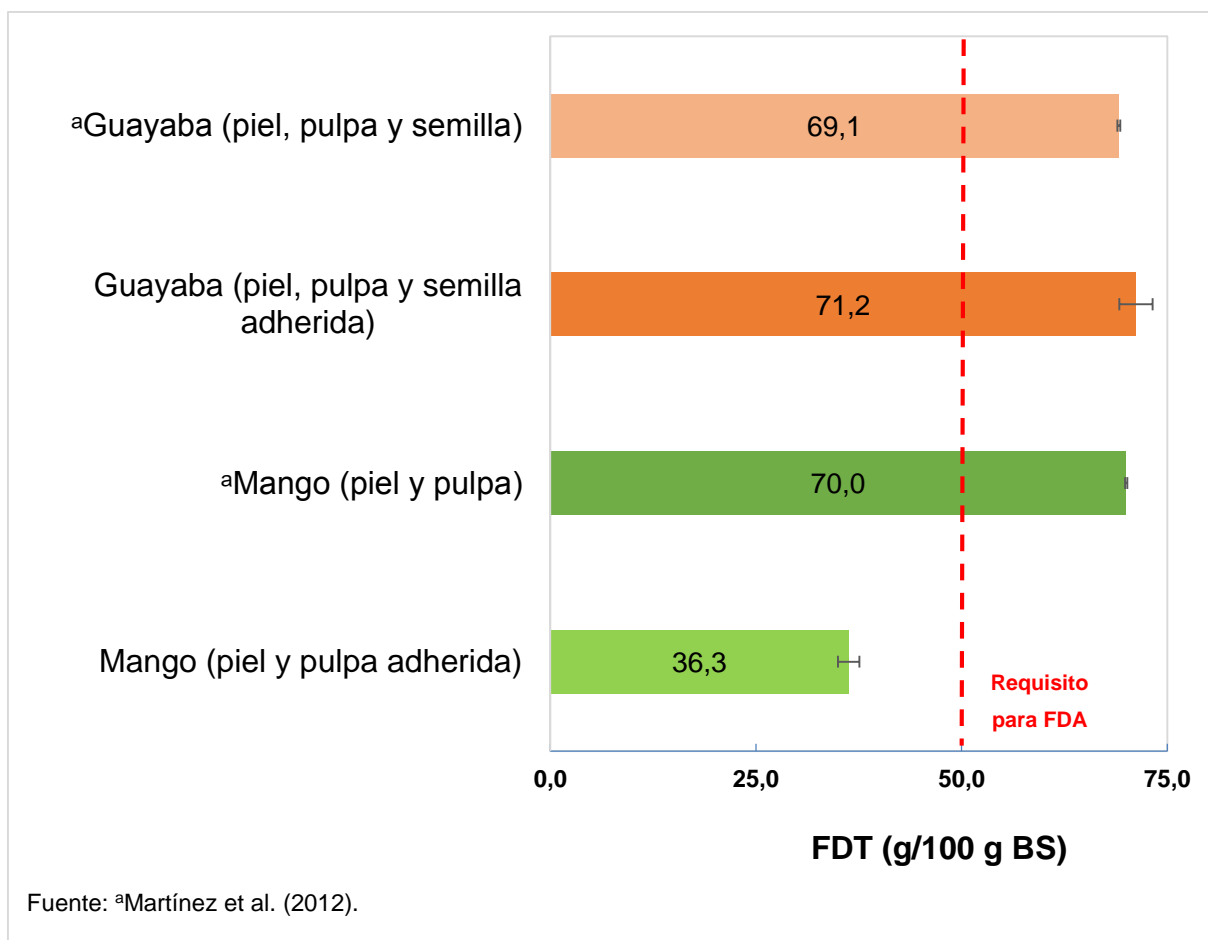


Gráfico 6. Fibra dietaria total (FDT) de subproductos mango y guayaba, comparada con otros subproductos.

El subproducto de mango presentó un valor mucho más bajo de FDT en comparación al obtenido por Martínez et al. (2012) para la piel y pulpa de mango de 70 g/100 g BS. Llorach et al. (2003), establecen que el contenido FDT en la piel del mango varía de 45 a 78 g/100 g en base seca. Si se compara con otros subproductos el mango es mayor que lo reportado por Correa et al. (2012) para pulpa y semillas de guanábana (3,30 g/100 g), piel de manzana (16,62 g/100 g BS) (Saura-Calixto 2010), pulpa de marañón (20,9 g/100 g BS) y pulpa de acerola (26,0 g/100 g BS) (Rufino et al. 2010).

Analizando los datos obtenidos de FDT del subproducto de guayaba con lo reportado por otros autores, resultan comparables con la piel, pulpa y semillas de guayaba (69,1 g/100 g BS) (Martínez et al. 2012), y piel y pulpa de guayaba (48 – 49 g/100 g BS) (Jiménez-Escrig et al. 2001). Esta concentración es similar a la pulpa de limón (68,3 g/100 g BS) (Figuerola et al. 2005), piel de uva (73,6 g/100 g BS) (Saura-Calixto 2010), cáscara de piña (70,6 g/100 g BS) (Larrauri et al. 1997a); y superiores a los obtenidos por Saura-Calixto (1998) para piel

y semillas de uva (64,6 g/100 g BS), pulpa de naranja (64,3 g/100 g BS) y pulpa de uva (44,2 g/100 g BS) (Figuerola et al. 2005).

4.4 Fibra dietaria antioxidante

Muy pocos subproductos de frutas y vegetales son materias primas que cumplan con los requerimientos para ser calificados como fibra dietaria antioxidante (FDA) (Saura-Calixto 1998, Saura-Calixto y Jiménez Escrig 2002).

Estudios previos realizados en subproductos ricos en fibra y compuestos polifenólicos asociados, justifican la utilización de la FDA como ingrediente funcional. Tal es el caso de los subproductos de uva con un valor de fibra dietaria total (FDT) equivalente a 65 - 80 g/100 g y actividad antioxidante de 1 g de muestra expresada como capacidad de inhibición de la oxidación lipídica (FTC), equivalente a 200 – 400 mg α -Tocoferol y capacidad secuestrante de radicales libres equivalente a 50 – 100 mg α -Tocoferol (DPPH) (Saura-Calixto y Larrauri García 1999); y la guayaba con un contenido de FDT equivalente a 50 - 67 g/100 g y actividad antioxidante de 1 g de muestra equivalente a 50 – 105 mg α -Tocoferol (DPPH) (Saura-Calixto y Jiménez Escrig 2002). De esta manera los resultados obtenidos en la presente investigación resumidos en el Anexo G, respecto a la guayaba, cumplen con los requisitos para ser considerada como fuente de FDA, reportando para FDT 71,2 g/100 g BS y actividad antioxidante medida por DPPH y FTC equivalente a 294 mg α -Tocoferol/g BS y 380 mg α -Tocoferol/g BS, respectivamente; a diferencia de los subproductos de mango que se pueden considerar como fuente de antioxidantes, reportando la actividad antioxidante por DPPH equivalente a 366 mg α -Tocoferol/g BS y 511 mg E α -Tocoferol/g BS por FTC, con un contenido de FDT de 36,3 g/100 g BS.

5. CONCLUSIONES

- El subproducto de guayaba presentó una concentración de fibra dietaria de 71,2 g/100 g BS, actividad antioxidante de 295 y 378 mg de E α -Tocoferol/g para DPPH y FTC respectivamente, con lo cual se puede considerar como fuente de fibra antioxidante.
- El subproducto de mango se puede considerar como fuente de antioxidantes con una actividad antioxidante de 367 y 511 mg E α -Tocoferol/g para DPPH y FTC respectivamente.

6. RECOMENDACIONES

- El método del FTC es sensible a cambios de temperatura, por ello se recomienda que la temperatura de la estufa permanezca estable a 40 °C; para evitar interferencias en los resultados.
- Para futuras investigaciones, se recomienda expresar la actividad antioxidante como los gramos de muestra necesarios para inhibir en 50% de un gramo de DPPH (IC50) para facilitar la comparación con la bibliografía.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Abdeldaiem, M. H; Hoda, G. M. 2012. Use of Irradiated Mango (*Mangifera Indica*) Peels Powder as Potential Source of Dietary Fiber and Antioxidant in Beef Burger. Journal of Applied Sciences Research 8(7): 3677-3687.
- Ajila, C. M; Bhat, S. G; Prasada Rao, U. J. S. 2007a. Valuable components of raw and ripe peels from two Indian mango varieties. Food Chemistry 102(4): 1006-1011.
- Ajila, C. M; Naidu, K. A; Bhat, S. G; Rao, U. J. S. 2007b. Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. Food chemistry 105(3): 982-988.
- Alzate Tamayo, Luz María; Jiménez Cartagena, Claudio; Londoño Londoño, Julián. 2012. Aprovechamiento de residuos agroindustriales para mejorar la calidad sensorial y nutricional de productos avícolas.
- Ángel, Zoraida Cañas; Molina, Diego Alonso Restrepo; Rodríguez, Misael Cortés (2011). Revisión: Productos vegetales como fuente de fibra dietaria en la industria de alimentos. Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín. 64: 6023-6035.
- AOAC. 2005. Official methods of analysis of AOAC international. 18 th ed. Washington, USA. (Official Methods of Analysis)
- Arnao, Marino B; Cano, Antonio; Acosta, Manuel. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. Food Chemistry 73(2): 239-244.
- Arranz Martínez, Sara. 2010. Compuestos polifenólicos (extraíbles y no extraíbles) en alimentos de la dieta española: metodología para su determinación e identificación. Madrid, España, Universidad Complutense de Madrid.
- Ashoush, I; Gadallah, M. 2011. Utilization of mango peels and seed kernels powders as sources of phytochemicals in biscuit. World Journal of Dairy & Food Sciences 6(1): 35-42.
- Ayala-Zavala, J. F; Vega-Vega, V; Rosas-Domínguez, C; Palafox-Carlos, H; Villa-Rodríguez, J. A; Siddiqui, Md Wasim; Dávila-Aviña, J. E; González-Aguilar, G. A. 2011. Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. Food Research International 44(7): 1866-1874.
- Ayala-Zavala, J. F; Rosas-Domínguez, C; Vega-Vega, V; González-Aguilar, G. A. 2010. Antioxidant Enrichment and Antimicrobial Protection of Fresh-Cut Fruits Using Their Own Byproducts: Looking for Integral Exploitation. Journal of Food Science 75(8): R175-R181.

- Aymoto, Neuza Mariko Aymoto; Genovese, Maria Ines; Lajolo, Franco Maria. 2005. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(8): 2928-2935.
- Barreto, Jacqueline C; Trevisan, Maria T. S; Hull, William E; Erben, Gerhard; De Brito, Edy S; Pfundstein, Beate; Würtele, Gerd; Spiegelhalder, Bertold; Owen, Robert W. 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.
- Bensadón, Sara; Hervert-Hernández, Deisy; Sáyago-Ayerdi, Sonia G; Goñi, Isabel. 2010. By-products of *Opuntia ficus-indica* as a source of antioxidant dietary fiber. *Plant Foods for Human Nutrition* 65(3): 210-216.
- Benzie, Iris F. F; Strain, J. J. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry* 239(0292): 70-76.
- Berardini, Nicolai; Knödler, Matthias; Schieber, Andreas; Carle, Reinhold. 2005. Utilization of mango peels as a source of pectin and polyphenolics. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 6(4): 442-452.
- Brand-Williams, W; Cuvelier, ME; Berset, CLWT. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology* 28(1): 25-30.
- Castro-Vargas, Henry I; Rodríguez-Varela, Luis I; Ferreira, Sandra RS; Parada-Alfonso, Fabián. 2010. Extraction of phenolic fraction from guava seeds (*Psidium guajava* L.) using supercritical carbon dioxide and co-solvents. *The Journal of Supercritical Fluids* 51(3): 319-324.
- Correa, Justine; Ortiz, Darwin; Larrahondo, Jesus; Sanchez, Myriam; Pachon, Helena. 2012. Actividad antioxidante en guanábana (*Annona muricata* L.): una revisión bibliográfica. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 11(2).
- Chantaro, Prawta; Devahastin, Sakamon; Chiewchan, Naphaporn. 2008. Production of antioxidant high dietary fiber powder from carrot peels. *LWT-Food Science and Technology* 41(10): 1987-1994.
- Diario Hoy (2012) "Mango ecuatoriano: 100 productores producen 10 millones de cajas al año." Diario HOY.

- Encalada Macas, Rosa Cristina (2014). Residuos de Palmito (*Chamaerops humilis*) como un recurso alternativo de fibra dietaria. Loja-Ecuador, Universidad Técnica Particular de Loja.
- Espinosa Cumbicus, Johanna del Cisne (2014). Potencial de los subproductos de cacao (*Theobroma cacao* L.) y banano (*Musa sapientum*) como fuente de fibra dietaria antioxidante. Loja-Ecuador, Universidad Técnica Particular de Loja.
- FAO (2011). Producción de productos alimentarios y agrícolas. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- Farrukh, AQIL; Iqbal, A; Zafar, M. 2006. Antioxidant and free radical scavenging properties of twelve traditionally used Indian medicinal plants. *Turk J Biol* 30: 177-183.
- Fernández-López, J; Fernández-Ginés, JM; Aleson-Carbonell, L; Sendra, E; Sayas-Barberá, E; Pérez-Alvarez, JA. 2004. Application of functional citrus by-products to meat products. *Trends in Food Science & Technology* 15(3): 176-185.
- Figuerola, Fernando; Hurtado, María Luz; Estévez, Ana María; Chiffelle, Italo; Asenjo, Fernando. 2005. Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. *Food Chemistry* 91(3): 395-401.
- Goñi, Isabel; Hervert-Hernández, Deisy. 2011. By-Products from plant foods are sources of dietary fibre and antioxidants. *Phytochemicals—Bioactivities and Impact on Health*: 95-116.
- Grigelmo-Miguel, Nuria; Gorinstein, Shela; Martín-Belloso, Olga. 1999. Characterisation of peach dietary fibre concentrate as a food ingredient. *Food chemistry* 65(2): 175-181.
- Huang, Dejian; Ou, Boxin; Prior, Ronald L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry* 53(6): 1841-1856.
- INEC (2012). Visualizador de Estadísticas Agropecuarias del Ecuador (ESPAC). INEC.
- Jiménez-Escrig, Antonio; Rincón, Mariela; Pulido, Raquel; Saura-Calixto, Fulgencio. 2001. Guava Fruit (*Psidium guajava* L.) as a New Source of Antioxidant Dietary Fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49(11): 5489-5493.
- Kikuzaki, Hiroe; Nakatani, Nobuji. 1993. Antioxidant effects of some ginger constituents. *Journal of Food Science* 58(6): 1407-1410.
- Kong, K. W; Ismail, A. 2011. Lycopene content and lipophilic antioxidant capacity of by-products from *Psidium guajava* fruits produced during puree production industry. *Food and Bioproducts Processing* 89(1): 53-61.

- Kong, Kin-Weng; Ismail, Abdul Razak; Tan, Seok-Tyug; Prasad, Nagendra; Murthy, Krishna; Ismail, Amin. 2010. 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.
- Kuskoski, E Marta; Asuero, Agustín G; Troncoso, Ana M; Mancini-Filho, Jorge; Fett, Roseane. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciencia y Tecnología de Alimentos* 25(4): 726-732.
- Larrauri, José A; Rupérez, Pilar; Calixto, Fulgencio Saura. 1997a. Pineapple shell as a source of dietary fiber with associated polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45(10): 4028-4031.
- Larrauri, José A; Rupérez, Pilar; Saura-Calixto, Fulgencio. 1997b. Mango peel fibres with antioxidant activity. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A* 205(1): 39-42.
- Lim, Y. Y; Lim, T. T; Tee, J. J. 2007. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food chemistry* 103(3): 1003-1008.
- López, Betty 2008. Caracterización de las variedades de la guayaba (*Psidium guajava* L.) cultivadas en el Ecuador. Quito-Ecuador, Universidad Tecnológica Equinoccial. 1-224.
- Llorach, Rafael; Espín, Juan Carlos; Tomás-Barberán, Francisco A; Ferreres, Federico. 2003. Valorization of cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis*) by-products as a source of antioxidant phenolics. *Journal of agricultural and food chemistry* 51(8): 2181-2187.
- Maisuthisakul, Pitchaon; Gordon, Michael H. 2009. Antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of mango seed kernel by product. *Food Chemistry* 117(2): 332-341.
- Martínez, Ruth; Torres, Paulina; Meneses, Miguel A; Figueroa, Jorge G; Pérez-Álvarez, José A; Viuda-Martos, Manuel. 2012. Chemical, technological and *in vitro* antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. *Food Chemistry* 135(3): 1520-1526.
- Masibo, Martin; He, Qian. 2008. Major mango polyphenols and their potential significance to human health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 7(4): 309-319.

- 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 en Alimentos* 1(1): 4-14.
- Megazyme. 2012. Total Dietary Fibre. Megazyme International Ireland.
- Molyneux, Philip. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26(2): 211-219.
- Nantitanon, Witayapan; Yotsawimonwat, Songwut; Okonogi, Siriporn. 2010. Factors influencing antioxidant activities and total phenolic content of guava leaf extract. *LWT-Food Science and Technology* 43(7): 1095-1103.
- Nigam, Poonam Singh; Pandey, Ashok. 2009. *Biotechnology for agro-industrial residues utilisation: utilisation of agro-residues*, Springer.
- Palafox-Carlos, Hugo; Ayala-Zavala, Jesús Fernando; González-Aguilar, Gustavo A. 2011. The role of dietary fiber in the bioaccessibility and bioavailability of fruit and vegetable antioxidants. *Journal of food science* 76(1): R6-R15.
- 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.
- Pérez-Jiménez, Jara; Torres, Josep Lluís. 2011. Analysis of nonextractable phenolic compounds in foods: the current state of the art. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59(24): 12713-12724.
- Quirós Saucedo, Ana Elena; Palafox, Hugo ; Robles Sánchez, Rosario Maribel; González Aguilar, Gustavo A. 2012. Interacción de compuestos fenólicos y fibra dietaria: Capacidad antioxidante y biodisponibilidad. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud* 13(3): 3-11.
- Re, Roberta; Pellegrini, Nicoletta; Proteggente, Anna; Pannala, Ananth; Yang, Min; Rice-Evans, Catherine. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26(9): 1231-1237.
- Restrepo-Sánchez, Diana-Chavely; Narváez-Cuenca, Carlos-Eduardo; Restrepo-Sánchez, Luz-Patricia. 2009. Extracción de compuestos con actividad antioxidante de frutos de guayaba cultivada en Vélez-Santander, Colombia. *Quim. Nova* 32(6): 1517-1522.

- Revista El Agro (2012). Ecuador arranca con la cosecha del mango. Revista El Agro, Ecuador.
- Ribeiro, S. M. R; Barbosa, L. C. A; Queiroz, J. H; Knödler, M; Schieber, A. 2008. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. Food Chemistry 110(3): 620-626.
- 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(7): 2100-2106.
- Rufino, Maria do Socorro M; Pérez-Jiménez, Jara; Tabernero, María; 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 & Technology 45(11): 2227-2233.
- Samonte, Priscilla Alice L; Trinidad, Trinidad P. 2013. Dietary Fiber, Phytonutrients and Antioxidant Activity of Common Fruit Peels as Potential Functional Food Ingredient. J. Chem 7: 70-75.
- Saura-Calixto, Fulgencio. 1998. Antioxidant dietary fiber product: A new concept and a potential food ingredient. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46(10): 4303-4306.
- Saura-Calixto, Fulgencio. 2010. Antioxidant dietary fibre: a new functional ingredient. ERNÄHRUNG/NUTRITION 34: 509-514.
- Saura-Calixto, Fulgencio; Larrauri García, José A. (1999). Concentrado de fibra dietética antioxidante natural de uva y su procedimiento de obtención. Oficina Española de Patentes y Marcas. Madrid.
- Saura-Calixto, Fulgencio; Jiménez Escrig, Antonio (2002). 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. Marcas. Oficina Española de Patentes y. España.
- Sáyago-Ayerdi, Sonia G; Goñi, Isabel. 2010. *Hibiscus sabdariffa* L: Fuente de fibra antioxidante. 60: 79-84.
- Schieber, Andreas; Berardini, Nicolai; Carle, Reinhold. 2003. Identification of Flavonol and Xanthone Glycosides from Mango (*Mangifera indica* L. Cv. "Tommy Atkins") Peels by

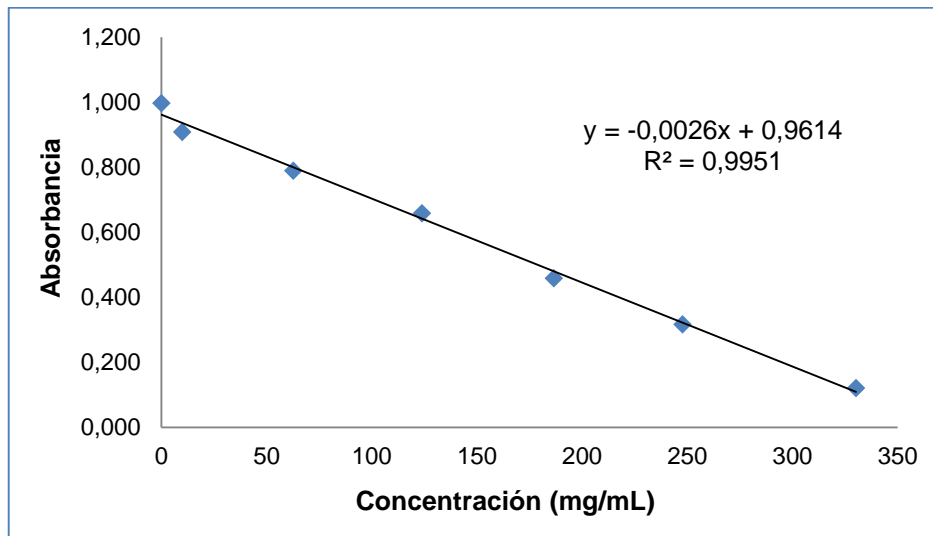
- High-Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Journal of agricultural and food chemistry* 51(17): 5006-5011.
- Serena, Anja; Knudsen, K. E. 2007. Chemical and physicochemical characterisation of co-products from the vegetable food and agro industries. *Animal feed science and technology* 139(1): 109-124.
- Shivashankara, K. S; Isobe, Seiichiro; Al-Haq, Muhammad Imran; Takenaka, Makiko; Shiina, Takeo. 2004. Fruit Antioxidant Activity, Ascorbic Acid, Total Phenol, Quercetin, and Carotene of Irwin Mango Fruits Stored at Low Temperature After High Electric Field Pretreatment. *Journal of agricultural and food chemistry* 52(5): 1281-1286.
- Sumaya-Martínez, Ma Teresa; Herrera, Leticia Mónica Sánchez; García, Gerardo Torres; Paredes, Diego García. 2012. Red de valor del mango y sus desechos con base en las propiedades nutricionales y funcionales. *Revista Mexicana de Agronegocios* 30.
- Tarascou, I; Souquet, J. M; Mazauric, J. P; Carrillo, S; Coq, S; Canon, F; Fulcrand, H; Cheynier, V. 2010. The hidden face of food phenolic composition. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 501(1): 16-22.
- Tehranifar, Ali; Selahvarzi, Yahya; Kharrazi, Mahdiyeh; Bakhsh, Vahid Jahan. 2011. High potential of agro-industrial by-products of pomegranate (*Punica granatum* L.) as the powerful antifungal and antioxidant substances. *Industrial Crops and Products* 34(3): 1523-1527.
- Thaipong, Kriengsak; Boonprakob, Unaroj; Crosby, Kevin; Cisneros-Zevallos, Luis; Hawkins Byrne, David. 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): 669-675.
- Thongsombat, Woranong; Sirichote, Anchalee; Chanthachum, Suganya. 2007. The production of guava juice fortified with dietary fiber. *Songklanakarin J. Sci. Technol* 29: 187-196.
- Vasco, Catalina; Ruales, Jenny; Kamal-Eldin, Afaf. 2008. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry* 111(4): 816-823.
- Vásquez-Osorio, Diana; Serpa, Angélica M; Martínez, Diana C Castrillón; Hincapié-Llanos, Gustavo Adolfo. 2013. Evaluación de la harina de guayaba como ingrediente funcional en matrices alimentarias. *Universidad Pontificia Bolivariana*: 121-142.

- Vega-Vega, V; Silva-Espinoza, B. A; Cruz-Valenzuela, M. R; Bernal-Mercado, A. T; González-Aguilar, G. A; Ruíz-Cruz, S; Moctezuma, E; Siddiqui, W; Ayala-Zavala, J. Fernando. 2013. Antimicrobial and antioxidant properties of byproduct extracts of mango fruit. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 86(1).
- Vélez, Lina María; Gañan, Piedad; Severiche, Juan David; Hincapié, Gustavo Adolfo; Restrepo, Maria Clara. 2009. Aprovechamiento de la fibra dietaria de frutas y/o residuos de su transformación en la elaboración de productos de panificación y de maíz 7.
- Wu, Ju-Wen; Hsieh, Chiu-Lan; Wang, Hsiao-Yun; Chen, Hui-Yin. 2009. Inhibitory effects of guava (*Psidium guajava* L.) leaf extracts and its active compounds on the glycation process of protein. *Food Chemistry* 113(1): 78-84.

ANEXOS

Anexo A. Cuantificación de la actividad antioxidante por DPPH.

1.- Curva de calibración y preparación de los estándares (Et) con α -Tocoferol.



w (mg) α -Tocoferol	Pureza	Aforo (mL)	Concentración (mg/L)
43,0	0,96	100	413

Estándar	Alícuota (mL)	Aforo (mL)	Concentración (μ M)	Absorbancia
Et1	0,6	25	10	0,908
Et2	3,8	25	63	0,789
Et3	7,5	25	124	0,658
Et4	11,3	25	187	0,458
Et5	15	25	248	0,317
Et6	20	25	330	0,121
Pendiente		-0,002582		
Intersección		0,961367		
R		-0,9975		
R²		0,9951		

Para calcular la concentración de la solución madre de α -Tocoferol (SM α -T), se aplicó la siguiente fórmula:

$$C_{O_{SMT}} = \frac{m * p}{v}$$

Donde:

m = cantidad de Trolox pesada (mg)

p = pureza de Trolox

v = volumen de dilución del Trolox (mL)

Reemplazando se tuvo:

$$C_{O_{SM\alpha-T}} = \frac{43 \text{ mg} * 0,96}{100 \text{ mL}} = 0,413 \text{ mg/mL}$$

Por cada litro:

$$C_{O_{SM\alpha-T}} = 413 \text{ mg/L}$$

La concentración de los diferentes estándares está regida por:

$$C_{O_{SM\alpha-T}} * V_{aforo} = C_{O_{Et}} * V_{Et}$$

Despejando $C_{O_{Et}}$:

$$C_{O_{Et}} = \frac{C_{O_{SM\alpha-T}} * V_{Et}}{V_{aforo}}$$

Donde:

$C_{O_{SM\alpha-T}}$ = concentración de la solución madre de α -Tocoferol (SM α -T)

V_{Et} = volumen alícuota (mL)

V_{aforo} = volumen de aforo (mL)

Calculando la concentración del estándar 1 (Et1) como ejemplo, se tuvo:

$$C_{O_{Et1}} = \frac{412,8 \frac{\text{mg}}{\text{L}} * 0,6 \text{ mL}}{25 \text{ mL}} = 10 \text{ mg/L}$$

2.- Datos de la cuantificación de la actividad antioxidante por DPPH.

Fracción	Muestra	w muestra (g)	w residuo (g)	alícuota (mL)	aforo (mL)	Abs	w residuo (g) (fracción 3)	Volumen adicionado MeOH (mL)	m= d*v	Cantidad adicionada (g)	Co (mg/L)	Co (mg Eα-T/g) BS	
Fracción 1: metanol/agua 50:50 y acetona/agua 70:30	Mango	0,5047*	0,4761*	0,05*	1*	0,740*	n/a	n/a	n/a	n/a	86*	151*	144 ± 6*
		0,5079	0,4820			0,753					81	141	
		0,5080	0,4740			0,755					80	140	
	Guayaba	0,5020	0,4857	0,025	0,15	0,738	n/a	n/a	n/a	n/a	86	45	59 ± 12
		0,5010	0,4773			0,630					128	66	
		0,5037	0,4869			0,629					129	66	
Fracción 2: agua/ácido sulfúrico	Mango	0,5047*	0,4761*	0,12*	0,15*	0,201*	n/a	n/a	n/a	n/a	294*	96*	96 ± 1*
		0,5079	0,4820			0,208					292	96	
		0,5080	0,4740			0,204					293	95	
	Guayaba	0,5047	0,4857	0,15	0,15	0,166	n/a	n/a	n/a	n/a	308	80	80 ± 1
		0,5010	0,4773			0,168					307	79	
		0,5037	0,4869			0,166					308	80	
Fracción 3: ácido clorhídrico/ butanol 5:95	Mango	0,5047*	0,4761*	0,025*	0,15*	0,319*	0,2828*	1*	0,7920*	1,0748*	249*	148*	127 ± 19*
		0,5079	0,4820			0,320	0,4814	1,2	0,9504	1,4318	248	117	
		0,5080	0,4740			0,321	0,4798	1,2	0,9504	1,4302	248	115	
	Guayaba	0,5020	0,4857	0,15	1	0,210	0,4043	1,2	0,9504	1,3547	291	169	156 ± 15
		0,5010	0,4773			0,211	0,3630	1	0,7920	1,1550	291	158	
		0,5037	0,4869			0,212	0,4474	1	0,7920	1,2394	290	140	

Cada valor es la media con la desviación estándar de tres réplicas experimentales. Los resultados se expresan como micromoles equivalentes a Trolox por gramo de muestra (µmol ET/g).

w: peso; BS: base seca; g: gramos; mL: mililitro; L: litro; mg: miligramos; Abs: absorbancia; m: masa; d: densidad; v: volumen; Co: concentración; n/a: no aplica; * valores que se han utilizado como ejemplo en los cálculos.

3.- Cálculo de la actividad antioxidante de las fracciones 1, 2 y 3 por el método DPPH.

- **Fracción 1:** metanol/agua 50:50 y acetona/agua 70:30

La concentración expresada en miligramos equivalentes a α -Tocoferol por gramo de muestra, se determinó por un retroceso en los cálculos, partiendo de la fórmula:

$$C_o = \frac{\text{Absorbancia} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

Los valores de la intersección y pendiente de la curva de calibración del estándar, y la absorbancia obtenida de la muestra (fracción 1), se reemplazaron en la siguiente fórmula:

$$C_{o_{mango}} = \frac{0,740 - 0,96136}{-0,00258} = 86 \text{ mg/L}$$

Esta concentración es por cada litro, pero como la muestra se aforó a un volumen final de 1mL, se obtuvo:

$$86 \text{ mg} \rightarrow 1000 \text{ mL}$$

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

$$X = 0,086 \text{ mg}$$

Con una alícuota de 0,5 mL, tomada del volumen total de los sobrenadantes combinados en la fracción 1:

$$0,086 \text{ mg} \rightarrow 0,5 \text{ mL}$$

$$X \leftarrow 40 \text{ mL}$$

$$X = 68,8 \text{ mg}$$

El valor encontrado equivale a la cantidad de muestra pesada, para reportar por cada gramo se tuvo:

$$68,8 \text{ mg} \rightarrow 0,5047 \text{ g}$$

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

$$X = 136,31 \text{ mg}$$

El resultado está expresado en base húmeda, por lo tanto para reportarlo en base seca se utilizó el % de humedad de la muestra, como se indica a continuación:

$$136,31 \text{ mg} \rightarrow (100-9,83) \%$$

$$X \leftarrow 100 \%$$

$$X = 151 \text{ mg E}\alpha\text{-T/g BS}$$

Se aplica el mismo procedimiento para los datos de la guayaba.

- **Fracción 2:** agua/ácido sulfúrico

La concentración de la muestra se calculó con la siguiente fórmula:

$$C_0 = \frac{\text{Absorbancia} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

Reemplazando los valores de la intersección y pendiente del estándar, y la absorbancia de la muestra (mango), se tuvo:

$$C_{0_{mango}} = \frac{0,201 - 0,96136}{- 0,00258} = 294 \text{ mg/L}$$

Esta concentración es por cada litro, pero como la muestra se aforo a 0,150 mL, se obtuvo:

$$294 \text{ mg} \rightarrow 1000 \text{ mL}$$

$$X \leftarrow 0,150 \text{ mL}$$

$$X = 0,044 \text{ mg}$$

Se tomó una alícuota de 0,12 mL de la fracción 2 cuyo volumen final se llevó a 50 mL, resultando:

$$0,044 \text{ mg} \rightarrow 0,12 \text{ mL}$$

$$X \leftarrow 50 \text{ mL}$$

$$X = 18,375 \text{ mg}$$

Como se ocupó 0,2 g del peso total del residuo sólido obtenido en la fracción 1, por tanto:

$$18,375 \text{ mg} \rightarrow 0,2 \text{ mg}$$

$$X \leftarrow 0,4761 \text{ mg}$$

$$X = 43,74 \text{ mg}$$

El valor encontrado equivale a la cantidad de muestra pesada, reportada por gramo se tuvo:

$$43,74 \text{ mg} \rightarrow 0,5047 \text{ g}$$

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

$$X = 86,67 \text{ mg}$$

El resultado está expresado en base húmeda, por lo tanto para reportarlo en base seca se utilizó el % de humedad de la muestra, como se indica a continuación:

$$86,67 \text{ mg} \rightarrow (100-9,83) \%$$

$$X \leftarrow 100 \%$$

$$X = 96 \text{ mg E}\alpha\text{-T/g BS}$$

Se aplica el mismo procedimiento para los datos de la guayaba.

- **Fracción 3:** ácido clorhídrico/butanol 5:95

La concentración de la muestra se determinó con la siguiente fórmula:

$$C_o = \frac{\text{Absorbancia} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

Por lo tanto, al reemplazar los valores de la intersección y pendiente del estándar, y la absorbancia de la muestra (mango), se tuvo:

$$C_{o_{mango}} = \frac{0,319 - (-0,016)}{4,804} = 249 \text{ mg/L}$$

Concentración que se calcula por cada litro, pero como la muestra se aforo a 0,150 mL, se obtuvo:

$$\begin{array}{r} 249 \text{ mg} \quad \rightarrow \quad 1000 \text{ mL} \\ X \quad \leftarrow \quad 0,150 \text{ mL} \\ X = 0,0374 \text{ mg} \end{array}$$

Como se adicionó más cantidad de MeOH en el residuo de la última extracción, esta cantidad fue transformada a masa, de la siguiente manera:

$$m = d * v$$

Donde:

d = densidad del MeOH: 0,792 g/cm³

v = volumen adicionado de MeOH (mL)

Reemplazando los valores a la fórmula, tomando como ejemplo lo adicionado en la muestra de mango, se calculó:

$$m = 0,792 \text{ g/cm}^3 * 1 \text{ mL}$$

$$m = 0,792 \text{ g}$$

Para obtener la cantidad adicionada de MeOH, se sumó el peso del residuo obtenido en la última extracción más el valor de la masa del MeOH que se transformó en el paso anterior, obteniendo:

$$\text{Cantidad adicionada} = 0,2828 \text{ g} + 0,792 \text{ g} = 1,0748 \text{ g}$$

Con el valor de la cantidad adicionada de MeOH en gramos, se tomó una alícuota de 0,025 mL, obteniendo:

$$0,0374 \text{ mg} \rightarrow 0,025 \text{ mL}$$

$$X \leftarrow 1,0748 \text{ g}$$

$$X = 1,60557 \text{ mg} \cdot \text{g/mL}$$

El valor encontrado equivale a la cantidad de residuo de la última extracción, en el volumen final de fracción 3 (5 mL), por lo tanto:

$$1,60557 \text{ mg} \cdot \text{g/mL} \rightarrow 0,2828 \text{ g}$$

$$X \leftarrow 5 \text{ mL}$$

$$X = 28,39 \text{ mg}$$

Como se ocupó 0,2 g del peso total del residuo sólido obtenido en la fracción 1, se tuvo:

$$28,39 \text{ mg} \rightarrow 0,2 \text{ mg}$$

$$X \leftarrow 0,4761 \text{ mg}$$

$$X = 67,583 \text{ mg}$$

El valor encontrado equivale a la cantidad de muestra pesada, reportada por gramo es igual a:

$$67,583 \text{ mg} \rightarrow 0,5047 \text{ g}$$

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

$$X = 133,90 \text{ mg}$$

El resultado está expresado en base húmeda, por lo tanto para reportarlo en base seca se utilizó el % de humedad de la muestra, como se indica a continuación:

$$133,90 \text{ mg} \rightarrow (100-9,83) \%$$

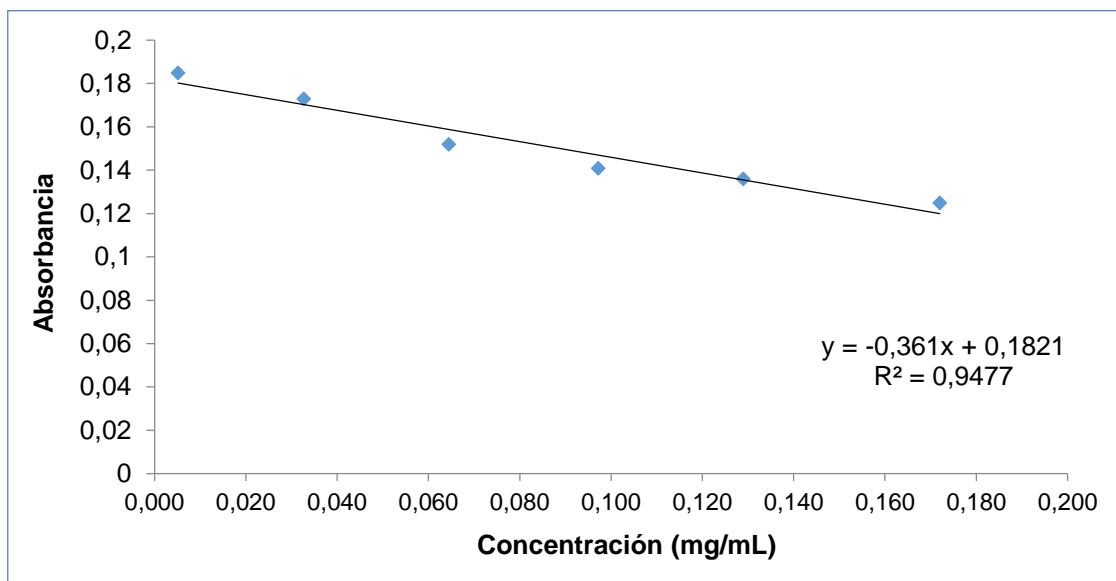
$$X \leftarrow 100 \%$$

$$X = 148 \text{ mg E}\alpha\text{-T/g BS}$$

Se aplica el mismo procedimiento para los datos de la guayaba.

Anexo B. Cuantificación de la actividad antioxidante por FTC.

1.- Curva de calibración y preparación de los estándares (Et) con α -Tocoferol.



w (mg) α -Tocoferol	Pureza	Aforo (mL)	Concentración (mg/mL)
43,0	0,96	100	0,413

Estándar	Alícuota (mL)	Aforo (mL)	Concentración (mg/L)	Absorbancia
Et1	0,6	25	10	0,185
Et2	3,8	25	63	0,173
Et3	7,5	25	124	0,152
Et4	11,3	25	187	0,141
Et5	15	25	248	0,136
Et6	20	25	330	0,125
Pendiente		-0,18049724		
Intersección		0,18211416		
R		-0,97351758		
R²		0,94773648		

Para calcular la concentración de la solución madre de α -Tocoferol (SM α -T), se aplicó la siguiente fórmula:

$$C_{O_{SMT}} = \frac{m * p}{v}$$

Donde:

m = cantidad de Trolox pesada (mg)

p = pureza de Trolox

v = volumen de dilución del Trolox (mL)

Reemplazando se tuvo:

$$C_{O_{SM\alpha-T}} = \frac{43 \text{ mg} * 0,96}{100 \text{ mL}} = 0,413 \text{ mg/mL}$$

La concentración de los diferentes estándares está regida por:

$$C_{O_{SM\alpha-T}} * V_{aforo} = C_{O_{Et}} * V_{Et}$$

Despejando $C_{O_{Et}}$:

$$C_{O_{Et}} = \frac{C_{O_{SM\alpha-T}} * V_{Et}}{V_{aforo}}$$

Donde:

$C_{O_{SM\alpha-T}}$ = concentración de la solución madre de α -Tocoferol (SM α -T)

V_{Et} = volumen alícuota (mL)

V_{aforo} = volumen de aforo (mL)

Calculando la concentración del estándar 1 (Et1) como ejemplo, se tuvo:

$$C_{O_{Et1}} = \frac{413 \frac{\text{mg}}{\text{L}} * 0,6 \text{ mL}}{25 \text{ mL}} = 10 \text{ mg/L}$$

2.- Datos de la cuantificación de la actividad antioxidante por FTC.

Fracción	Muestra	w muestra (g)	w residuo (g)	alícuota (mL)	aforo (mL)	Abs	w residuo (g) (fracción 3)	Volumen adicionado MeOH (mL)	m= d.v	Cantidad adicionada (g)	Co (mg/mL)	Co (µmol Eα-T/g) BS
Fracción 1: metanol/agua 50:50 y acetona/agua 70:30	Mango	0,5047*	0,4761*	0,2*	1*	0,092*	n/a	n/a	n/a	n/a	0,499*	219*
		0,5079	0,4820			0,078					0,576	252
		0,5080	0,4740			0,075					0,593	259
	Guayaba	0,5020	0,4857	0,75	1,5	0,099	n/a	n/a	n/a	n/a	0,460	79
		0,5010	0,4773			0,093					0,493	85
		0,5037	0,4869			0,098					0,466	80
Fracción 2: agua/ácido sulfúrico	Mango	0,5047*	0,4761*	1,5*	1,5*	0,003*	n/a	n/a	n/a	n/a	0,992*	260*
		0,5079	0,4820			0,005					0,981	258
		0,5080	0,4740			0,007					0,970	251
	Guayaba	0,5047	0,4857	1,5	1,5	0,010	n/a	n/a	n/a	n/a	0,953	249
		0,5010	0,4773			0,009					0,959	245
		0,5037	0,4869			0,010					0,953	248
Fracción 3: ácido clorhídrico/ butanol 5:95	Mango	0,5047*	0,4761*	0,75*	1,5*	0,171*	0,2828*	1*	0,7920*	1,0748*	0,062*	12*
		0,5079	0,4820			0,169	0,4814	1,2	0,9504	1,4318	0,073	11
		0,5080	0,4740			0,167	0,4798	1,2	0,9504	1,4302	0,084	13
	Guayaba	0,5020	0,4857	1	1,5	0,111	0,4043	1,2	0,9504	1,3547	0,394	52
		0,5010	0,4773			0,112	0,363	1	0,7920	1,1550	0,433	53
		0,5037	0,4869			0,110	0,4474	1	0,7920	1,2394	0,433	47

Cada valor es la media con la desviación estándar de tres réplicas experimentales. Los resultados se expresan como micromoles equivalentes a α-Tocoferol por gramo de muestra (µmol Eα-T/g).

w: peso; BS: base seca; g: gramos; mg: miligramos; mL: mililitro; L: litro; Abs: absorbancia; Co: concentración; µmol: micromoles; n/a: no aplica; * valores que se han utilizado como ejemplo en los cálculos.

3.- Cálculo de la actividad antioxidante de las fracciones 1, 2 y 3 por el método FTC.

- **Fracción 1:** metanol/agua 50:50 y acetona/agua 70:30

La concentración expresada en miligramos equivalentes a α -Tocoferol por gramo de muestra, se determinó por un retroceso en los cálculos, partiendo de la fórmula:

$$C_o = \frac{\text{Absorbancia} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

Los valores de la intersección y pendiente de la curva de calibración del estándar, y la absorbancia obtenida de la muestra (fracción 1), se reemplazaron en la siguiente fórmula:

$$C_{o_{mango}} = \frac{0,092 - 0,18211416}{-0,18049724} = 0,499 \text{ mg/mL}$$

Esta concentración es por cada litro, pero como la muestra se aforó a un volumen final de 1mL, se obtuvo:

$$0,499 \text{ mg} \rightarrow 1 \text{ mL}$$

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

$$X = 4,99 \text{ mg}$$

Con una alícuota de 0,2 mL, tomada del volumen total de los sobrenadantes combinados en la fracción 1:

$$4,99 \text{ mg} \rightarrow 0,2 \text{ mL}$$

$$X \leftarrow 40 \text{ mL}$$

$$X = 99,8 \text{ mg}$$

El valor encontrado equivale a la cantidad de muestra pesada, para reportar por cada gramo se tuvo:

$$99,8 \text{ mg} \rightarrow 0,5047 \text{ g}$$

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

$$X = 197,74 \text{ mg}$$

El resultado está expresado en base húmeda, por lo tanto para reportarlo en base seca se utilizó el % de humedad de la muestra, como se indica a continuación:

$$197,74 \text{ mg} \rightarrow (100-9,83) \%$$

$$X \leftarrow 100 \%$$

$$X = 219 \text{ mg E}\alpha\text{-T/g BS}$$

Se aplica el mismo procedimiento para los datos de la guayaba.

• **Fracción 2:** agua/ácido sulfúrico

La concentración de la muestra se calculó con la siguiente fórmula:

$$C_o = \frac{\text{Absorbancia} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

Reemplazando los valores de la intersección y pendiente del estándar, y la absorbancia de la muestra (mango), se tuvo:

$$C_{o_{mango}} = \frac{0,003 - 0,18211416}{-0,18049724} = 0,992 \text{ mg/mL}$$

Esta concentración es por cada litro, pero como la muestra se aforo a 1,5 mL, se obtuvo:

$$\begin{array}{l} 0,992 \text{ mg} \rightarrow 1 \text{ mL} \\ X \leftarrow 1,5 \text{ mL} \\ X = 1,485 \text{ mg} \end{array}$$

Se tomó una alícuota de 1,5 mL de la fracción 2 cuyo volumen final se llevó a 50 mL, resultando:

$$\begin{array}{l} 1,485 \text{ mg} \rightarrow 1,5 \text{ mL} \\ X \leftarrow 50 \text{ mL} \\ X = 49,5 \text{ mg} \end{array}$$

Como se ocupó 0,2 g del peso total del residuo sólido obtenido en la fracción 1, por tanto:

$$\begin{array}{l} 49,5 \text{ mg} \rightarrow 0,2 \text{ mg} \\ X \leftarrow 0,4761 \text{ mg} \\ X = 117,8 \text{ mg} \end{array}$$

El valor encontrado equivale a la cantidad de muestra pesada, reportada por gramo se tuvo:

$$\begin{array}{l} 117,8 \text{ mg} \rightarrow 0,5047 \text{ g} \\ X \leftarrow 1 \text{ g} \\ X = 233,5 \text{ mg} \end{array}$$

El resultado está expresado en base húmeda, por lo tanto para reportarlo en base seca se utilizó el % de humedad de la muestra, como se indica a continuación:

$$\begin{array}{l} 233,5 \text{ mg} \rightarrow (100-9,83) \% \\ X \leftarrow 100 \% \\ X = 260 \text{ mg E}\alpha\text{-T/g BS} \end{array}$$

Se aplica el mismo procedimiento para los datos de la guayaba.

- **Fracción 3:** ácido clorhídrico/butanol 5:95

La concentración de la muestra se determinó con la siguiente fórmula:

$$C_0 = \frac{\text{Absorbancia} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

Por lo tanto, al reemplazar los valores de la intersección y pendiente del estándar, y la absorbancia de la muestra (mango), se tuvo:

$$C_{0\text{mango}} = \frac{0,171 - 0,18211416}{-0,18049724} = 0,062 \text{ mg/mL}$$

Concentración que se calcula por cada litro, pero como la muestra se aforo a 1,5 mL, se obtuvo:

$$\begin{array}{rcl} 0,062 \text{ mg} & \longrightarrow & 1 \text{ mL} \\ X & \longleftarrow & 1,5 \text{ mL} \\ X = 0,0915 \text{ mg} & & \end{array}$$

Como se adicionó más cantidad de MeOH en el residuo de la última extracción, esta cantidad fue transformada a masa, de la siguiente manera:

$$m = d * v$$

Donde:

d = densidad del MeOH: 0,792 g/cm³

v = volumen adicionado de MeOH (mL)

Reemplazando los valores a la fórmula, tomando como ejemplo lo adicionado en la muestra de mango, se calculó:

$$m = 0,792 \text{ g/cm}^3 * 1 \text{ mL}$$

$$m = 0,792 \text{ g}$$

Para obtener la cantidad adicionada de MeOH, se sumó el peso del residuo obtenido en la última extracción más el valor de la masa del MeOH que se transformó en el paso anterior, obteniendo:

$$\text{Cantidad adicionada} = 0,2828 \text{ g} + 0,792 \text{ g} = 1,0748 \text{ g}$$

Con el valor de la cantidad adicionada de MeOH en gramos, se tomó una alícuota de 0,75 mL, obteniendo:

$$0,0915 \text{ mg} \rightarrow 0,75 \text{ mL}$$

$$X \leftarrow 1,0748 \text{ g}$$

$$X = 0,131 \text{ mg} \cdot \text{g/mL}$$

El valor encontrado equivale a la cantidad de residuo de la última extracción, en el volumen final de fracción 3 (5 mL), por lo tanto:

$$0,131 \text{ mg} \cdot \text{g/mL} \rightarrow 0,2828 \text{ g}$$

$$X \leftarrow 5 \text{ mL}$$

$$X = 2,318 \text{ mg}$$

Como se ocupó 0,2 g del peso total del residuo sólido obtenido en la fracción 1, se tuvo:

$$2,318 \text{ mg} \rightarrow 0,2 \text{ mg}$$

$$X \leftarrow 0,4761 \text{ mg}$$

$$X = 5,518 \text{ mg}$$

El valor encontrado equivale a la cantidad de muestra pesada, reportada por gramo es igual a:

$$5,518 \text{ mg} \rightarrow 0,5047 \text{ g}$$

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

$$X = 10,93 \text{ mg}$$

El resultado está expresado en base húmeda, por lo tanto para reportarlo en base seca se utilizó el % de humedad de la muestra, como se indica a continuación:

$$10,93 \text{ mg} \rightarrow (100 - 9,83) \%$$

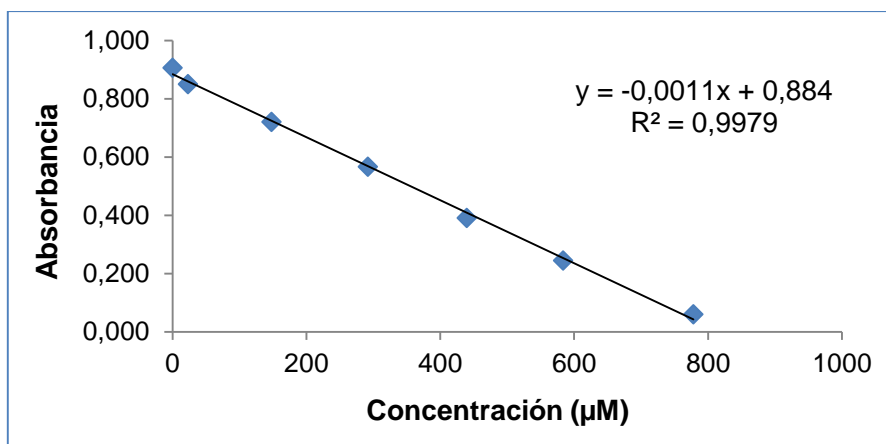
$$X \leftarrow 100 \%$$

$$X = 12,12 \text{ mg E}\alpha\text{-T/g BS}$$

Se aplica el mismo procedimiento para los datos de la guayaba.

Anexo C. Cuantificación de la actividad antioxidante por ABTS.

1.- Curva de calibración y preparación de los estándares (Et) con Trolox.



w (g) Trolox	PM g/mol	Pureza	Aforo (mL)	Concentración (mg/mL)	Concentración (µM)
0,0251	250,29	0,97	100	0,2435	973

Estándar	Alícuota (mL)	Aforo (mL)	Concentración (µM)	Absorbancia
Et1	0,6	25	23	0,850
Et2	3,8	25	148	0,721
Et3	7,5	25	292	0,567
Et4	11,3	25	440	0,391
Et5	15	25	584	0,245
Et6	20	25	778	0,061
Pendiente		-0,001081		
Intersección		0,883983		
R		-0,9989		
R²		0,9979		

Para calcular la concentración de la solución madre de Trolox (C_{0SMT}), se aplicó la siguiente fórmula:

$$C_{0SMT} = \frac{m * p}{v}$$

Donde:

m = cantidad de Trolox pesada (mg)

p = pureza de Trolox

v = volumen de dilución del Trolox (mL)

Reemplazando se tuvo:

$$C_{0SMT} = \frac{25,1 \text{ mg} * 0,97}{100 \text{ mL}} = 0,243 \text{ mg/mL}$$

Luego se transformó la concentración encontrada de mg/mL a μM , utilizando el peso molecular del Trolox, la cantidad de reactivo pesado y el volumen de dilución:

$$\begin{array}{l} 250,29 \text{ g} \quad \swarrow \quad 1000 \text{ mL} \quad \rightarrow \quad 1 \text{ M} \\ 0,0251 \text{ g} \quad \searrow \quad 100 \text{ mL} \quad \rightarrow \quad X \\ X = 1,0028 \times 10^{-3} \text{ M} \end{array}$$

$$x = 1,0028 \times 10^{-3} \text{ M} * \frac{1 \mu\text{M}}{10^{-6} \text{ M}} = 1002,8 \mu\text{M}$$

Como la muestra no es 100% pura, se calculó con la pureza del reactivo:

$$\begin{array}{l} 1002,8 \mu\text{M} \rightarrow 100 \% \\ X \leftarrow 97 \% \\ X = 973 \mu\text{M} \end{array}$$

Esta concentración permitió calcular la concentración de los estándares (C_{Et}) con la siguiente fórmula:

$$C_{\text{SMT}} * V_{\text{aforo}} = C_{\text{Et}} * V_{\text{Et}}$$

Despejando C_{Et} :

$$C_{\text{Et}} = \frac{C_{\text{SMT}} * V_{\text{Et}}}{V_{\text{aforo}}}$$

V_{aforo} = volumen de aforo del estándar (mL)

V_{Et} = volumen de la alícuota tomada de SMT (mL)

C_{Et} = concentración del estándar (mg/mL)

Calculando la concentración del estándar 1 (Et1) como ejemplo, se tuvo:

$$C_{\text{Et1}} = \frac{973 \mu\text{M} * 0,6 \text{ mL}}{25 \text{ mL}} = 23 \mu\text{M}$$

2.- Datos de la cuantificación de la actividad antioxidante por ABTS.

Fracción	Muestra	w muestra (g)	w residuo (g)	alícuota (mL)	aforo (mL)	Abs	w residuo (g) (fracción 3)	Volumen adicionado MeOH (mL)	m= d.v	Cantidad adicionada (g)	Co (µM)	Co (µmol ET/g) BS
Fracción 1: metanol/agua 50:50 y acetona/agua 70:30	Mango	0,5047*	0,4761*			0,142*					687*	302*
		0,5079	0,4820	0,2*	1*	0,152	n/a	n/a	n/a	n/a	677	296
		0,5080	0,4740			0,159					671	293
	Guayaba	0,5020	0,4857			0,255					582	100
		0,5010	0,4773	0,075	0,15	0,263	n/a	n/a	n/a	n/a	575	99
		0,5037	0,4869			0,249					588	101
Fracción 2: agua/ácido sulfúrico	Mango	0,5047*	0,4761*			0,819*					60*	16*
		0,5079	0,4820	0,15*	0,150*	0,819	n/a	n/a	n/a	n/a	60	16
		0,5080	0,4740			0,808					70	18
	Guayaba	0,5047	0,4857			0,865					18	5
		0,5010	0,4773	0,14	0,150	0,841	n/a	n/a	n/a	n/a	40	11
		0,5037	0,4869			0,841					40	11
Fracción 3: ácido clorhídrico/ butanol 5:95	Mango	0,5047*	0,4761*			0,680*	0,2828*	1*	0,7920*	1,0748*	189*	28*
		0,5079	0,4820	0,1*	0,150*	0,746	0,4814	1,2	0,9504	1,4318	128	19
		0,5080	0,4740			0,683	0,4798	1,2	0,9504	1,4302	186	27
	Guayaba	0,5020	0,4857	0,1	1	0,770	0,4043	1,2	0,9504	1,3547	105	104
		0,5010	0,4773			0,776	0,363	1	0,7920	1,1550	100	97
		0,5037	0,4869			0,771	0,4474	1	0,7920	1,2394	105	103

Cada valor es la media con la desviación estándar de tres réplicas experimentales. Los resultados se expresan como micromoles equivalentes a Trolox por gramo de muestra (µmol ET/g).

w: peso; BS: base seca; g: gramos; mL: mililitro; L: litro; Abs: absorbancia; Co: concentración; µM: micromolar; µmol: micromoles; n/a: no aplica; * valores que se han utilizado como ejemplo en los cálculos.

3.- Cálculo de la actividad antioxidante de las fracciones 1, 2 y 3 por el método ABTS.

- **Fracción 1:** metanol/agua 50:50 y acetona/agua 70:30

La concentración expresada en micromoles equivalentes a Trolox por gramo de muestra, se determinó por un retroceso en los cálculos, partiendo de la fórmula:

$$C_o = \frac{\text{Absorbancia} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

Los valores de la intersección y pendiente de la curva de calibración del estándar, y la absorbancia obtenida de la muestra (fracción 1), se reemplazaron en la siguiente fórmula:

$$C_{o_{mango}} = \frac{0,142 - 0,883983}{-0,001081} = 687 \mu\text{M}$$

Esta concentración es por cada litro, pero como el volumen final de la muestra se aforó a 1 mL, se obtuvo:

$$\begin{array}{l} 687 \mu\text{mol} \rightarrow 1000 \text{ mL} \\ X \leftarrow 1 \text{ mL} \\ X = 0,687 \mu\text{mol} \end{array}$$

Con una alícuota de 0,2 mL, tomada del volumen total de los sobrenadantes combinados en la fracción 1:

$$\begin{array}{l} 0,687 \mu\text{mol} \rightarrow 0,2 \text{ mL} \\ X \leftarrow 40 \text{ mL} \\ X = 137,4 \mu\text{mol} \end{array}$$

El valor encontrado equivale a la cantidad de muestra pesada, para reportar por cada gramo se obtuvo:

$$\begin{array}{l} 137,4 \mu\text{mol} \rightarrow 0,5047 \text{ g} \\ X \leftarrow 1 \text{ g} \\ X = 272,2 \mu\text{mol} \end{array}$$

El resultado está expresado en base húmeda, por lo tanto para reportarlo en base seca se utilizó el % de humedad de la muestra, como se indica a continuación:

$$\begin{array}{l} 272,2 \mu\text{mol} \rightarrow (100-9,83) \% \\ X \leftarrow 100 \% \\ X = 3020 \mu\text{mol ET/g BS} \end{array}$$

Se aplica el mismo procedimiento para los datos de la guayaba.

- **Fracción 2:** agua/ácido sulfúrico

La concentración de la muestra se calculó con la siguiente fórmula:

$$C_0 = \frac{\text{Absorbancia} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

Reemplazando los valores de la intersección y pendiente del estándar, y la absorbancia de la muestra (mango), se tuvo:

$$C_{0_{mango}} = \frac{0,819 - 0,883983}{-0,001081} = 60 \mu\text{M}$$

Esta concentración es por cada litro, pero como el volumen final de la muestra se aforó a 0,150 mL, se obtuvo:

$$60 \mu\text{mol} \rightarrow 1000 \text{ mL}$$

$$X \leftarrow 0,150 \text{ mL}$$

$$X = 0,009 \mu\text{mol}$$

Se tomó una alícuota de 0,15 mL de la fracción 2 cuyo volumen final se llevó a 50 mL, resultando:

$$0,009 \mu\text{mol} \rightarrow 0,15 \text{ mL}$$

$$X \leftarrow 50 \text{ mL}$$

$$X = 3 \mu\text{mol}$$

Como se ocupó 0,2 g del peso total del residuo sólido obtenido en la fracción 1, por tanto:

$$3 \mu\text{mol} \rightarrow 0,2 \text{ mg}$$

$$X \leftarrow 0,4761 \text{ mg}$$

$$X = 7,14 \mu\text{mol}$$

El valor encontrado equivale a la cantidad de muestra pesada, reportada por gramo se tuvo:

$$7,14 \mu\text{mol} \rightarrow 0,5047 \text{ g}$$

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

$$X = 14,15 \mu\text{mol}$$

El resultado está expresado en base húmeda, por lo tanto para reportarlo en base seca se utilizó el % de humedad de la muestra, como se indica a continuación:

$$14,15 \mu\text{mol} \rightarrow (100-9,83) \%$$

$$X \leftarrow 100 \%$$

$$X = 16 \mu\text{mol ET/g BS}$$

Se aplica el mismo procedimiento para los datos de la guayaba.

- **Fracción 3:** ácido clorhídrico/butanol 5:95

La concentración de la muestra se determinó con la siguiente fórmula:

$$C_o = \frac{\text{Absorbancia} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

Por lo tanto, al reemplazar los valores de la intersección y pendiente del estándar, y la absorbancia de la muestra (mango), se tuvo:

$$C_{o_{mango}} = \frac{0,857 - 0,883983}{-0,001081} = 25 \mu\text{M}$$

Concentración que se calcula por cada litro, pero como el volumen final de la muestra se aforó a 0,150 mL, se obtiene:

$$\begin{array}{r} 25 \mu\text{mol} \quad \rightarrow \quad 1000 \text{ mL} \\ X \quad \leftarrow \quad 0,150 \text{ mL} \\ X = 0,0038 \mu\text{mol} \end{array}$$

Como se adicionó más cantidad de MeOH en el residuo de la última extracción, esta cantidad fue transformada a masa, de la siguiente manera:

$$m = d * v$$

Donde:

$$d = \text{densidad del MeOH: } 0,792 \text{ g/cm}^3$$

$$v = \text{volumen adicionado de MeOH (mL)}$$

Reemplazando los valores a la fórmula, tomando como ejemplo lo adicionado en la muestra de mango, se calcula:

$$m = 0,792 \text{ g/cm}^3 * 1 \text{ mL}$$

$$m = 0,792 \text{ g}$$

Para obtener la cantidad adicionada de MeOH, se sumó el peso del residuo obtenido en la última extracción más el valor de la masa del MeOH que se transformó en el paso anterior, obteniendo:

$$\text{Cantidad adicionada} = 0,2828 \text{ g} + 0,792 \text{ g} = 1,0748 \text{ g}$$

Con la cantidad adicionada de MeOH en gramos, se tomó una alícuota de 0,025 mL, encontrando:

$$0,0038 \mu\text{mol} \rightarrow 0,025 \text{ mL}$$

$$X \leftarrow 1,0748 \text{ g}$$

$$X = 0,1637 \mu\text{mol} \cdot \text{g/mL}$$

El valor encontrado equivale a la cantidad de residuo de la última extracción, en el volumen final de la fracción 3 (5 mL), por lo tanto:

$$0,1637 \mu\text{mol} \cdot \text{g/mL} \rightarrow 0,2828 \text{ g}$$

$$X \leftarrow 5 \text{ mL}$$

$$X = 2,888 \mu\text{mol}$$

Como se ocupó 0,2 g del peso total del residuo sólido obtenido en la fracción 1, se tuvo:

$$2,888 \mu\text{mol} \rightarrow 0,2 \text{ mg}$$

$$X \leftarrow 0,4761 \text{ mg}$$

$$X = 6,876 \mu\text{mol}$$

El valor encontrado equivale a la cantidad de muestra pesada, reportada por gramo es igual a:

$$6,876 \mu\text{mol} \rightarrow 0,5047 \text{ g}$$

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

$$X = 13,62 \mu\text{mol}$$

El resultado está expresado en base húmeda, por lo tanto para reportarlo en base seca se utilizó el % de humedad de la muestra, como se indica a continuación:

$$13,62 \mu\text{mol} \rightarrow (100-9,83) \%$$

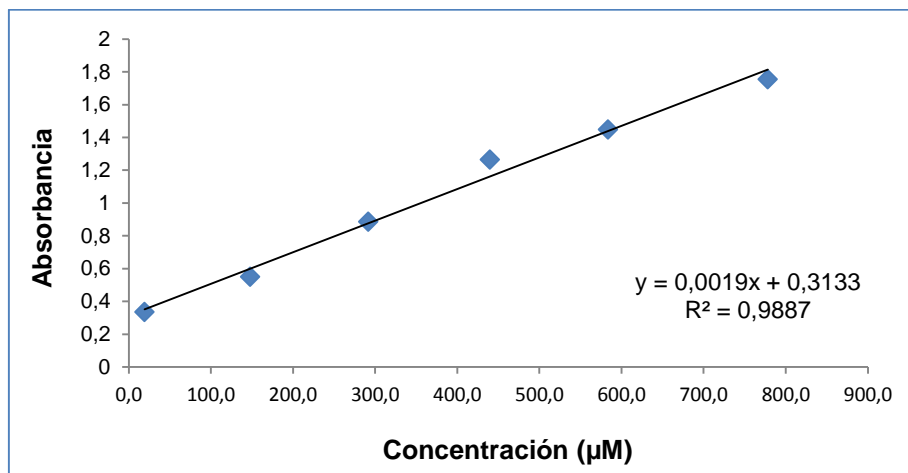
$$X \leftarrow 100 \%$$

$$X = 15 \mu\text{mol ET/g BS}$$

Se aplica el mismo procedimiento para los datos de la guayaba.

Anexo D. Cuantificación de la actividad antioxidante por FRAP.

1.- Curva de calibración y preparación de los estándares (Et) con Trolox.



w (g) Trolox	PM g/mol	Pureza	Aforo (mL)	Concentración (mg/mL)	Concentración (µM)
0,0251	250,29	0,97	100	0,2435	973

Estándar	Alícuota (mL)	Aforo (mL)	Concentración (µM)	Absorbancia
Et1	0,5	25	20	0,336
Et2	3,8	25	148	0,551
Et3	7,5	25	292	0,886
Et4	11,3	25	440	1,265
Et5	15	25	584	1,448
Et6	20	25	778	1,756
Pendiente		0,002		
Intersección		0,313		
R		0,994		
R²		0,989		

Para calcular la concentración de la solución madre de Trolox (C_{0SMT}), se aplicó la siguiente fórmula:

$$C_{0SMT} = \frac{m * p}{v}$$

Donde:

m = cantidad de Trolox pesada (mg)

p = pureza de Trolox

v = volumen de dilución del Trolox (mL)

Reemplazando se tuvo:

$$C_{O_{SMT}} = \frac{25,1 \text{ mg} * 0,97}{100 \text{ mL}} = 0,243 \text{ mg/mL}$$

Luego se transformó la concentración encontrada de mg/mL a μM , utilizando el peso molecular del Trolox, la cantidad de reactivo pesado y el volumen de dilución:

$$\begin{array}{lcl} 250,29 \text{ g} & \times & 1000 \text{ mL} \rightarrow 1 \text{ M} \\ 0,0251 \text{ g} & & 100 \text{ mL} \rightarrow X \end{array}$$

$$X = 1,0028 \times 10^{-3} \text{ M}$$

$$x = 1,0028 \times 10^{-3} \text{ M} * \frac{1 \mu\text{M}}{10^{-6} \text{ M}} = 1002,8 \mu\text{M}$$

Como la muestra no es 100% pura, se calculó con la pureza del reactivo:

$$1002,8 \mu\text{M} \rightarrow 100 \%$$

$$X \leftarrow 97 \%$$

$$X = 973 \mu\text{M}$$

Esta concentración nos permitió calcular la concentración de los estándares ($C_{O_{ET}}$) con la siguiente fórmula:

$$C_{O_{SMT}} * V_{aforo} = C_{O_{ET}} * V_{Et}$$

Despejando $C_{O_{Et}}$:

$$C_{O_{Et}} = \frac{C_{O_{SMT}} * V_{Et}}{V_{aforo}}$$

V_{aforo} = volumen de aforo del estándar (mL)

V_{Et} = volumen de la alícuota tomada de SMT (mL)

$C_{O_{Et}}$ = concentración del estándar (mg/mL)

Calculando la concentración del estándar 1 (Et1) como ejemplo, se tuvo:

$$C_{O_{Et1}} = \frac{973 \mu\text{M} * 0,5 \text{ mL}}{25 \text{ mL}} = 20 \mu\text{M}$$

2.- Datos de la cuantificación de la actividad antioxidante por FRAP.

Extracciones	Muestra	w muestra (g)	w residuo (g)	Humedad (%)	Volumen del sobrenadante (mL)	Absorbancia	Co (mg/mL)	Co (µmol ET/g) BS			
Fracción 1: metanol/agua 50:50 y acetona/agua 70:30	Mango	0,5047*	0,4761*	9,83*	40*	0,792*	248*	22*			
		0,5079	0,4820	9,83	40	0,72	211	18	20	±	2*
		0,5080	0,4740	9,83	40	0,751	227	20			
	Guayaba	0,5020	0,4857	7,18	40	1,023	368	32			
		0,5010	0,4773	7,18	40	1,095	405	35	33	±	2
		0,5037	0,4869	7,18	40	1,064	389	33			
Fracción 2: agua/ácido sulfúrico	Mango	0,5047*	0,4761*	9,83*	50*	0,676*	188*	49*			
		0,5079	0,4820	9,83	50	0,642	170	45	47	±	2*
		0,5080	0,4740	9,83	50	0,664	182	47			
	Guayaba	0,5020	0,4857	7,18	50	1,441	584	152			
		0,5010	0,4773	7,18	50	1,392	559	143	140	±	14
		0,5037	0,4869	7,18	50	1,244	482	126			
Fracción 3: ácido clorhídrico/butanol 5:95	Mango	0,5047*	0,4761*	9,83*	5	0,220*	-48,4*	-1,265*			
		0,5079	0,4820	9,83	5	0,239	-38,5	-1013			n.d.
		0,5080	0,4740	9,83	5	0,235	-40,6	-1050			
	Guayaba	0,5020	0,4857	7,18	5	0,291	-11,6	-301			
		0,5010	0,4773	7,18	5	0,276	-19,3	-496			n.d.
		0,5037	0,4869	7,18	5	0,241	-37,5	-976			

Cada valor es la media con la desviación estándar de tres réplicas experimentales. Los resultados se expresan como micromoles equivalentes a Trolox por gramo de muestra (µmol ET/g), reportando el promedio tres repeticiones ± la desviación estándar.

w: peso; BS: base seca; g: gramos; mL: mililitro; mg: miligramos; µmol: micromoles; Co: concentración; n.d.: no detectado: * valores que se han utilizado como ejemplo en los cálculos.

3.- Cálculo de la actividad antioxidante de las fracciones 1, 2 y 3

- **Fracción 1:** metanol/agua 50:50 y acetona/agua 70:30. Ejemplo mango.

Para calcular la concentración de la muestra por cada 100 g se aplicó un retroceso en los cálculos, partiendo de la fórmula:

$$C_0 = \frac{\text{Absorbancia} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

Donde se tomó los datos de la intersección y pendiente de las curva de calibración del estándar, y la absorbancia obtenida de la muestra (fracción 1). En este caso se explica el proceso obtenido para la muestra de mango, teniendo así:

$$C_{0_{mango}} = \frac{0,792 - 0,313}{0,002} = 248 \mu\text{M}$$

Esta concentración es por cada mililitro, en los 40 mL que está la fracción 1, se obtuvo:

$$248 \mu\text{mol} \rightarrow 1000 \text{ mL}$$

$$X \leftarrow 40 \text{ mL}$$

$$X = 9,92 \mu\text{mol}$$

El valor encontrado equivale a la cantidad de muestra pesada, para reportar por gramo de muestra sería:

$$9,92 \mu\text{mol} \rightarrow 0,5047 \text{ g}$$

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

$$X = 19,65 \mu\text{mol}$$

El resultado está expresado en base húmeda, por lo tanto para reportarlo en base seca se utilizó el % de humedad de la muestra, como se indica a continuación:

$$19,65 \mu\text{mol} \rightarrow (100-9,83) \%$$

$$X \leftarrow 100 \%$$

$$X = 22 \mu\text{mol ET/g BS}$$

Se aplica el mismo procedimiento para los datos de la guayaba.

- **Fracción 2:** agua/ácido sulfúrico. Ejemplo mango.

La concentración de la muestra se calculó con la siguiente fórmula:

$$C_o = \frac{\text{Absorbancia} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

Aplicando los valores de la intersección y pendiente del estándar, con la absorbancia de la muestra, se tuvo:

$$C_{o_{mango}} = \frac{0,676 - 0,313}{0,002} = 188 \mu\text{M}$$

Esta concentración es por cada litro, pero como la fracción 2 se llevó a un volumen final de 50 mL, se obtuvo:

$$\begin{array}{l} 188 \mu\text{mol} \rightarrow 1000 \text{ mL} \\ X \leftarrow 50 \text{ mL} \\ X = 9,4 \mu\text{mol} \end{array}$$

Como se ocupó 0,2 g del peso total del residuo sólido obtenido en la fracción 1, por tanto:

$$\begin{array}{l} 9,4 \mu\text{mol} \rightarrow 0,2 \text{ mg} \\ X \leftarrow 0,4761 \text{ mg} \\ X = 22,376 \mu\text{mol} \end{array}$$

El valor encontrado equivale a la cantidad de muestra pesada, para reportar por cada 100 g se tuvo:

$$\begin{array}{l} 22,376 \mu\text{mol} \rightarrow 0,5047 \text{ g} \\ X \leftarrow 100 \text{ g} \\ X = 44,337 \mu\text{mol} \end{array}$$

El resultado está expresado en base húmeda, por lo tanto para reportarlo en base seca se utilizó el % de humedad de la muestra, como se indica a continuación:

$$\begin{array}{l} 44,337 \mu\text{mol} \rightarrow (100-9,83) \% \\ X \leftarrow 100 \% \\ X = 49 \mu\text{mol ET/g BS} \end{array}$$

Se aplica el mismo procedimiento para los datos de la guayaba.

- **Fracción 3:** ácido clorhídrico/butanol 5:95. Ejemplo mango.

La concentración de la muestra se determinó con la siguiente fórmula:

$$C_o = \frac{\text{Absorbancia} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

Por lo tanto, al reemplazar los valores de la intersección y pendiente del estándar, y la absorbancia de la muestra (mango), se tuvo:

$$C_{O_{mango}} = \frac{0,220 - 0,313}{0,002} = -48,4 \mu\text{M}$$

Concentración que se calcula por cada litro, pero como la fracción 3 se llevó a un volumen final de 5 mL, se obtuvo:

$$\begin{array}{l} -48,4 \mu\text{mol} \rightarrow 1000 \text{ mL} \\ X \leftarrow 5 \text{ mL} \\ X = -0,242 \mu\text{mol} \end{array}$$

Como se ocupó 0,2 g del peso total del residuo sólido obtenido en la fracción 1, por tanto:

$$\begin{array}{l} -0,242 \mu\text{mol} \rightarrow 0,2 \text{ mg} \\ X \leftarrow 0,4761 \text{ mg} \\ X = -0,576 \mu\text{mol} \end{array}$$

El valor encontrado equivale a la cantidad de muestra pesada, para reportar por cada 100 g se tuvo:

$$\begin{array}{l} -0,576 \mu\text{mol} \rightarrow 0,5047 \text{ g} \\ X \leftarrow 100 \text{ g} \\ X = -1,147 \mu\text{mol} \end{array}$$

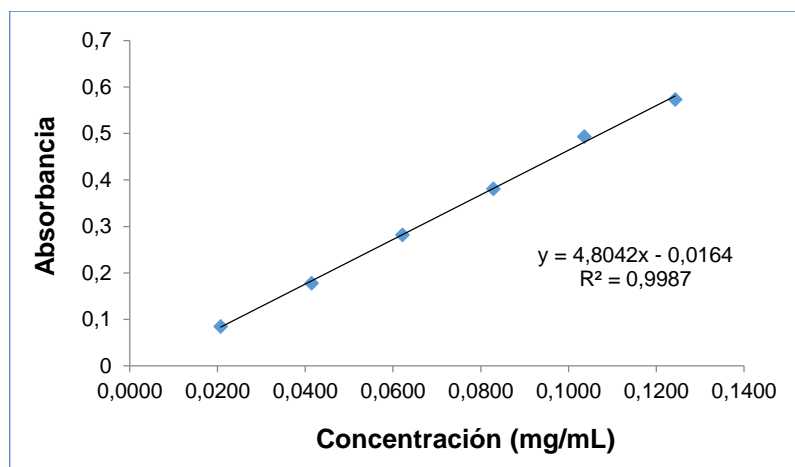
El resultado está expresado en base húmeda, por lo tanto para reportarlo en base seca se utilizó el % de humedad de la muestra, como se indica a continuación:

$$\begin{array}{l} -1,147 \mu\text{mol} \rightarrow (100-9,83) \% \\ X \leftarrow 100 \% \\ X = -1,2 \mu\text{mol TE}/100\text{g BS} \end{array}$$

Como los resultados son negativos, el resultado se reportó como no detectado (n.d); se aplica el mismo procedimiento para los datos de la guayaba.

Anexo E. Cuantificación de fenoles totales.

1.- Curva de calibración y preparación de los estándares (Et) con ácido gálico.



w (g) Ácido gálico	Aforo (mL)	Concentración (mg/mL)
0,0251	100	0,2435

Estándar	Absorbancia	Alícuota	Aforo (mL)	Co (mg/mL)
Et1	0,085	1	10	0,0207
Et2	0,178	2	10	0,0414
Et3	0,282	3	10	0,0622
Et4	0,381	4	10	0,0829
Et5	0,493	5	10	0,1036
Et6	0,573	6	10	0,1243
Pendiente	4,804			
Intersección	-0,016			
R	0,999			
R²	0,999			

Para conocer la concentración de la solución estándar de ácido gálico (C_{0SEAG}), se empleó la siguiente fórmula:

$$C_{0SEAG} = \frac{m (g)}{v (mL)} = mg/mL$$

Donde m es la cantidad de reactivo pesado y v el volumen de dilución del reactivo, aplicando la fórmula se tuvo:

$$C_{0SEAG} = \frac{0,00518 \text{ g} * 1000}{25 \text{ mL}} = 0,2072 \text{ mg/mL}$$

Con el valor calculado de $C_{O_{SEAG}}$ se obtuvo la concentración de los diferentes estándares con la fórmula:

$$C_{O_{SEAG}} * V_{aforo} = C_{O_{Et}} * V_{Et}$$

Despejando $C_{O_{Et}}$:

$$C_{O_{Et}} = \frac{C_{O_{SEAG}} * V_{Et}}{V_{aforo}}$$

Donde:

V_{aforo} = volumen de aforo del estándar (mL)

V_{Et} = volumen de la alícuota tomada de SEAG (mL)

$C_{O_{Et}}$ = concentración del estándar (mg/mL)

Calculando la concentración del estándar 1 (Et1) como ejemplo, se tuvo:

$$C_{O_{Et1}} = \frac{0,2072 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} * 1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} = 0,0207 \text{ mg/mL}$$

2.- Datos de la cuantificación de fenoles totales.

Extracciones	Muestra	w muestra (g)	w residuo (g)	% Humedad	Volumen del sobrenadante (mL)	Absorbancia	Alícuota (mL)	Aforo (mL)	Co (mg/mL)	Co (mg EAG/100g) BS
Fracción 1: metanol/agua 50:50 y acetona/agua 70:30	Mango	0,5047*	0,4761*	9,83*	40*	0,301*	0,1*	1*	0,0661*	5807*
		0,5079	0,4820	9,83	40	0,259	0,1	1	0,0573	5007
		0,5080	0,4740	9,83	40	0,225	0,1	1	0,0502	4388
	Guayaba	0,5020	0,4857	7,18	40	0,285	0,05	0,15	0,0627	1616
		0,5010	0,4773	7,18	40	0,300	0,05	0,15	0,0659	1699
		0,5037	0,4869	7,18	40	0,279	0,05	0,15	0,0615	1578
Fracción 2: agua/ácido sulfúrico	Mango	0,5047*	0,4761*	9,83*	50*	0,116*	n/a*	n/a*	0,0276*	721*
		0,5079	0,4820	9,83	50	0,108	n/a	n/a	0,0259	681
		0,5080	0,4740	9,83	50	0,108	n/a	n/a	0,0259	670
	Guayaba	0,5020	0,4857	7,18	50	0,126	n/a	n/a	0,0296	772
		0,5010	0,4773	7,18	50	0,116	n/a	n/a	0,0276	707
		0,5037	0,4869	7,18	50	0,119	n/a	n/a	0,0282	734
Fracción 3: ácido clorhídrico/butanol 5:95	Mango	0,5047*	0,4761*	9,83*	5*	0,326*	0,075*	0,15*	0,0713*	373*
		0,5079	0,4820	9,83	5	0,320	0,075	0,15	0,0700	368
		0,5080	0,4740	9,83	5	0,370	0,075	0,15	0,0804	416
	Guayaba	0,5020	0,4857	7,18	5	0,377	0,1	1	0,0819	2134
		0,5010	0,4773	7,18	5	0,371	0,1	1	0,0806	2069
		0,5037	0,4869	7,18	5	0,351	0,1	1	0,0765	1991

Cada valor es la media con la desviación estándar de tres réplicas experimentales. Los resultados están expresados como mg equivalentes de ácido gálico por cada 100 g de muestra (mg EAG/ 100 g) en base seca.

w: peso; BS: base seca; g: gramos; Co: concentración; mg: miligramos; n/a: no aplica; * valores que se han utilizado como ejemplo en los cálculos.

3.- Cálculo de fenoles totales en las fracciones 1, 2 y 3

- **Fracción 1:** metanol/agua 50:50 y acetona/agua 70:30. Ejemplo mango.

Para hallar la concentración de la muestra por cada 100 g se realizó un retroceso en los cálculos, partiendo de la fórmula:

$$C_o = \frac{\text{Absorbancia} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

Donde se tomó los datos de la intersección y pendiente de las curva de calibración del estándar, y la absorbancia obtenida de la muestra (fracción 1). En este caso se explica el proceso obtenido para la muestra de mango, teniendo así:

$$C_{o_{mango}} = \frac{0,301 - (-0,016)}{4,804} = 0,0661 \text{ mg/mL}$$

Esta concentración es por cada mililitro, pero como la muestra se aforó a un volumen final de 1mL, se obtuvo:

$$0,0661 \text{ mg} \rightarrow 1 \text{ mL}$$

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

$$X = 0,0661 \text{ mg}$$

Con una alícuota de 0,1 mL, tomada del volumen total de los sobrenadantes combinados en la fracción 1:

$$0,0661 \text{ mg} \rightarrow 0,1 \text{ mL}$$

$$X \leftarrow 40 \text{ mL}$$

$$X = 26,44 \text{ mg}$$

El valor encontrado equivale a la cantidad de muestra pesada, para reportar por cada 100 g se tuvo:

$$26,44 \text{ mg} \rightarrow 0,5047 \text{ g}$$

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

$$X = 5238 \text{ mg}$$

El resultado está expresado en base húmeda, por lo tanto para reportarlo en base seca se utilizó el % de humedad de la muestra, como se indica a continuación:

$$5238 \text{ mg} \rightarrow (100-9,83) \%$$

$$X \leftarrow 100 \%$$

$$X = 5807 \text{ mg EAG/100g BS}$$

Se aplica el mismo procedimiento para los datos de la guayaba.

- **Fracción 2:** agua/ácido sulfúrico. Ejemplo mango.

La concentración de la muestra se calculó con la siguiente fórmula:

$$C_o = \frac{\text{Absorbancia} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

Aplicando los valores de la intersección y pendiente del estándar, con la absorbancia de la muestra, en este caso la del mango:

$$C_{o_{mango}} = \frac{0,116 - (-0,016)}{4,804} = 0,0276 \text{ mg/mL}$$

Esta concentración es por cada mililitro, pero como la fracción 2 se llevó a un volumen final de 50 mL, se obtuvo:

$$\begin{array}{l} 0,0276 \text{ mg} \rightarrow 1 \text{ mL} \\ X \leftarrow 50 \text{ mL} \\ X = 1,38 \text{ mg} \end{array}$$

Como se ocupó 0,2 g del peso total del residuo sólido obtenido en la fracción 1, por tanto:

$$\begin{array}{l} 1,38 \text{ mg} \rightarrow 0,2 \text{ mg} \\ X \leftarrow 0,4761 \text{ mg} \\ X = 3,2851 \text{ mg} \end{array}$$

El valor encontrado equivale a la cantidad de muestra pesada, para reportar por cada 100 g se tuvo:

$$\begin{array}{l} 3,2851 \text{ mg} \rightarrow 0,5047 \text{ g} \\ X \leftarrow 100 \text{ g} \\ X = 114,86 \text{ mg} \end{array}$$

El resultado está expresado en base húmeda, por lo tanto para reportarlo en base seca se utilizó el % de humedad de la muestra, como se indica a continuación:

$$\begin{array}{l} 114,86 \text{ mg} \rightarrow (100-9,83) \% \\ X \leftarrow 100 \% \\ X = 721 \text{ mg EAG/100g BS} \end{array}$$

Se aplica el mismo procedimiento para los datos de la guayaba.

- **Fracción 3:** ácido clorhídrico/butanol 5:95. Ejemplo mango.

La concentración de la muestra se calculó con la siguiente fórmula:

$$C_o = \frac{\text{Absorbancia} - \text{Intersección}}{\text{Pendiente}}$$

Por lo tanto, al reemplazar los valores de la intersección y pendiente del estándar, y la absorbancia de la muestra (mango), se tuvo:

$$C_{o_{mango}} = \frac{0,326 - (-0,016)}{4,804} = 0,0713 \text{ mg/mL}$$

Concentración que se calculó por cada mililitro, pero como la fracción 3 se llevó a un volumen final de 5 mL, se obtiene:

$$\begin{array}{l} 0,0713 \text{ mg} \rightarrow 1 \text{ mL} \\ X \leftarrow 5 \text{ mL} \\ X = 0,0107 \text{ mg} \end{array}$$

Como se ocupó 0,2 g del peso total del residuo sólido obtenido en la fracción 1, por tanto:

$$\begin{array}{l} 0,0107 \text{ mg} \rightarrow 0,2 \text{ mg} \\ X \leftarrow 0,4761 \text{ mg} \\ X = 1,6973 \text{ mg} \end{array}$$

El valor encontrado equivale a la cantidad de muestra pesada, para reportar por cada 100 g se tuvo:

$$\begin{array}{l} 1,6973 \text{ mg} \rightarrow 0,5047 \text{ g} \\ X \leftarrow 100 \text{ g} \\ X = 336,30 \text{ mg} \end{array}$$

El resultado está expresado en base húmeda, por lo tanto para reportarlo en base seca se utilizó el % de humedad de la muestra, como se indica a continuación:

$$\begin{array}{l} 336,30 \text{ mg} \rightarrow (100-9,83) \% \\ X \leftarrow 100 \% \\ X = 373 \text{ mg EAG/100g BS} \end{array}$$

Se aplica el mismo procedimiento para los datos de la guayaba.

Anexo F. Determinación de fibra dietaria total (FDT).

1.- Datos fibra dietaria total

Muestra	w muestra (g)	% Humedad	Papel filtro (g)	Peso cápsula vacía (g)	Peso papel filtro, cápsula, residuo	Peso residuo (g)	Cenizas		Proteína			FDT BS	
							Peso del residuo incinerado (g)	Cantidad de Cenizas (g)	Viraje HCl (mL)	Cantidad Nitrógeno (g)	Cantidad Proteína (g)		
Mango (M1)*	1,0001*	9,8*	0,872*	15,7267*	16,9678*	0,3691*	15,7413*	0,0146*	n/a	n/a	n/a	37,6*	
Mango (M2)*	1,0001*	9,8*	0,8797*	14,4045*	15,7179*	0,4337*	n/a	n/a	4,6*	0,0063*	0,0392*		
Mango (M1)	1,0001	9,8	0,8616	21,7545	22,9727	0,3566	21,7710	0,0165	n/a	n/a	n/a	36,2	36,3 ± 1,3*
Mango (M2)	1,0001	9,8	0,8785	15,6553	16,9563	0,4225	n/a	n/a	4,5	0,0061	0,0383		
Mango (M1)	1,0001	9,8	0,8776	15,0651	16,3693	0,4266	15,1010	0,0359	n/a	n/a	n/a	35,0	
Mango (M2)	1,0001	9,8	0,8753	14,9877	16,2368	0,3738	n/a	n/a	4,7	0,0064	0,0401		
Guayaba (G1)	1,0009	7,2	0,8583	20,3739	21,916	0,6838	20,3824	0,0085	n/a	n/a	n/a	69,4*	
Guayaba (G2)	1,0009	7,2	0,8822	23,7716	25,346	0,6922	n/a	n/a	3,1	0,0042	0,0261		
Guayaba (G1)	1,0007	7,2	0,8826	14,3143	15,9032	0,7063	14,3274	0,0131	n/a	n/a	n/a	70,7	71,2 ± 2,0*
Guayaba (G2)	1,0004	7,2	0,8749	23,5273	25,1103	0,7081	n/a	n/a	3,4	0,0046	0,0287		
Guayaba (G1)	1,0008	7,2	0,8883	14,7924	16,4016	0,7209	14,7991	0,0067	n/a	n/a	n/a	73,4	
Guayaba (G2)	1,0003	7,2	0,8864	23,9173	25,5308	0,7271	n/a	n/a	3,2	0,0043	0,0270		
Blanco (B1) *	1,0001*	n/a*	0,8638*	14,6849*	15,5621*	0,0134	14,6867*	0,0018*	n/a*	n/a*	n/a*		
Blanco (B2) *	1,0001*	n/a*	0,8876*	22,6708*	23,5785*	0,0201	n/a*	n/a*	0,85*	0,0010*	0,0065*		

Cada valor es la media con la desviación estándar de tres réplicas experimentales. Los resultados se expresan en g de fibra dietaria total/100g de subproducto BS. BS= base seca; w= peso; residuo= R; proteína= p; cenizas= c; n/a= no aplica; mL= mililitro; * valores que se han utilizado como ejemplo en los cálculos.

2.- Cálculo correspondiente a blanco

- Cálculo del residuo en el blanco (R1 y R2)

Para calcular la cantidad de residuo en el blanco se aplicó la siguiente fórmula:

Blanco (R1)

$$\text{Peso residuo (BR1)} = ((w \text{ cápsula} + w \text{ papel filtro} + w \text{ residuo}) - w \text{ cápsula} - w \text{ papel filtro})$$

$$\text{Peso residuo (BR1)} = (15,5621 \text{ g} - 14,6849 \text{ g} - 0,8638 \text{ g})$$

$$\text{Peso residuo (BR1)} = 0,0134 \text{ g}$$

Blanco (R2)

$$\text{Peso residuo (BR2)} = ((w \text{ cápsula} + w \text{ papel filtro} + w \text{ residuo}) - w \text{ cápsula} - w \text{ papel filtro})$$

$$\text{Peso residuo (BR1)} = (23,5785 \text{ g} - 22,6708 \text{ g} - 0,8876 \text{ g})$$

$$\text{Peso residuo (BR1)} = 0,0201 \text{ g}$$

- Cálculo de cenizas y proteína en el blanco

La cantidad de ceniza se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{Ceniza (Bc)} = (w \text{ muestra incinerada} - w \text{ crisol})$$

$$\text{Ceniza (Bc)} = (14,6867 \text{ g} - 14,6849 \text{ g}) = 0,0018 \text{ g}$$

Para calcular la cantidad de proteína, primero se calculó la cantidad de nitrógeno del blanco con la siguiente fórmula:

$$\text{Nitrógeno} = \frac{(\text{viraje blanco FDT} - \text{viraje blanco}) * \text{N real HCl} * 14,007}{1000}$$

$$\text{Nitrógeno} = \frac{(0,85 - 0,1) * 0,0995 \text{ g} * 1,4007}{1000} = 0,0010 \text{ g}$$

Con la cantidad de nitrógeno por el factor 6,25 se obtuvo la cantidad de proteína del blanco:

$$\text{Proteína (Bp)} = 0,0010 \text{ g} * 6,25 = 0,0065 \text{ g}$$

Con estos datos se calculó la cantidad de fibra aplicando la siguiente fórmula:

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

Reemplazando la fórmula se obtuvo:

$$B = \frac{0,0134 \text{ g} + 0,0201 \text{ g}}{2} - 0,0018 \text{ g} - 0,0065 \text{ g}$$

$$B = 0,0084 \text{ g}$$

3.- Cálculo de fibra dietaria total (FDT) en la muestra

- Cálculo del residuo en la muestra

Mango (R1)

$$\text{Peso residuo (R1)} = ((w \text{ cápsula} + w \text{ papel filtro} + w \text{ residuo}) - w \text{ cápsula} - w \text{ papel filtro})$$

$$\text{Peso residuo (R1)} = (16,9678 \text{ g} - 15,7267 - 0,8720 \text{ g})$$

$$\text{Peso residuo (R1)} = 0,3691 \text{ g}$$

Mango (R2)

$$\text{Peso residuo (R2)} = ((w \text{ cápsula} + w \text{ papel filtro} + w \text{ residuo}) - w \text{ cápsula} - w \text{ papel filtro})$$

$$\text{Peso residuo (R2)} = (15,7179 \text{ g} - 14,4045 \text{ g} - 0,8797 \text{ g})$$

$$\text{Peso residuo (R2)} = 0,4337 \text{ g}$$

- Cálculo de cenizas y proteína en el blanco

La cantidad de ceniza se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{Ceniza (Rc)} = (w \text{ muestra incinerada} - w \text{ crisol})$$

$$\text{Ceniza (Rc)} = (15,7413 \text{ g} - 15,7267 \text{ g}) = 0,0146 \text{ g}$$

Para obtener la cantidad de proteína en la muestra, primero se calculó la cantidad de nitrógeno con la siguiente fórmula:

$$\text{Nitrógeno} = \frac{(\text{viraje muestra} - \text{viraje blanco}) * N \text{ real HCl} * 14,007}{1000}$$

$$\text{Nitrógeno} = \frac{(4,6 - 0,1) * 0,0995 \text{ g} * 1,4007}{1000} = 0,0063 \text{ g}$$

Con la cantidad de nitrógeno por el factor 6,25 se obtuvo la cantidad de proteína del blanco:

$$\text{Proteína (Rp)} = 0,0063 \text{ g} * 6,25 = 0,0392 \text{ g}$$

Con estos datos se calculó la cantidad de fibra dietaria aplicando la siguiente fórmula:

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

Donde:

R= peso de residuo (g)

R_p= cantidad de proteína (g)

R_c= cantidad de ceniza (g)

B= peso del blanco (g)

M= peso inicial de la muestra (g)

Reemplazando los valores se tuvo:

$$\mathbf{FDT} = \left(\frac{\frac{0,3691 \text{ g} + 0,4337 \text{ g}}{2} - 0,0392 \text{ g} - 0,0146 \text{ g} - 0,0084 \text{ g}}{\frac{1,0001 \text{ g} + 1,0001 \text{ g}}{2}} \right) * 100 = 33,9151 \text{ g}$$

Fibra dietaria total en base seca (**FDT BS**):

$$\mathbf{FDT \text{ BS}} = \frac{\mathbf{FDT} * 100}{100 - \text{humedad}}$$

$$\mathbf{FDT \text{ BS}} = \frac{33,9151 * 100}{100 - 9,8} = 37,6 \text{ g}/100 \text{ g BS}$$

Anexo G. Fibra dietaria antioxidante.

Tabla 2. Resumen de resultados obtenidos en la presente investigación en subproductos de mango y guayaba.

Método	Subproducto	
	Mango	Guayaba
DPPH (mg E α -Tocoferol/g BS)	367 \pm 26	295 \pm 28
FTC (mg E α -Tocoferol/g BS)	511 \pm 27	378 \pm 8
ABTS (μ mol ETrolox/g BS)	339 \pm 11	211 \pm 8
FRAP (μ mol ETrolox/g BS)	67 \pm 4	173 \pm 15
Fenoles totales (mg EAG/100g BS)	6144 \pm 765	4434 \pm 166
Fibra dietaria total (g/100g BS)	36,3 \pm 1	71,2 \pm 2

Anexo H. Análisis estadístico.

• DPPH:

ANOVA unidireccional: DPPH vs. Subproducto

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Subproducto	1	7686	7686	21,19	0,010
Error	4	1451	363		
Total	5	9137			

S = 19,05 R-cuad. = 84,12% R-cuad. (ajustado) = 80,15%

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

Nivel	N	Media	Desv.Est.	
Guayaba	3	294,40	8,72	(-----*-----)
Mango	3	365,99	25,49	(-----*-----)

280 315 350 385

Desv.Est. agrupada = 19,05

• FTC:

ANOVA unidireccional: FTC vs. Subproducto

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Subproducto	1	26480	26480	157,32	0,000
Error	4	673	168		
Total	5	27153			

S = 12,97 R-cuad. = 97,52% R-cuad. (ajustado) = 96,90%

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

Nivel	N	Media	Desv.Est.	
Guayaba	3	379,00	3,86	(---*---)
Mango	3	511,86	17,94	(---*---)

400 450 500 550

Desv.Est. agrupada = 12,97

• ABTS:

ANOVA unidireccional: ABTS vs. Subproducto

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Subproducto	1	24489,2	24489,2	683,28	0,000
Error	4	143,4	35,8		
Total	5	24632,6			

S = 5,987 R-cuad. = 99,42% R-cuad. (ajustado) = 99,27%

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

Nivel	N	Media	Desv.Est.	
Guayaba	3	210,57	4,07	(---*---)
Mango	3	338,34	7,42	(---*---)

200 240 280 320

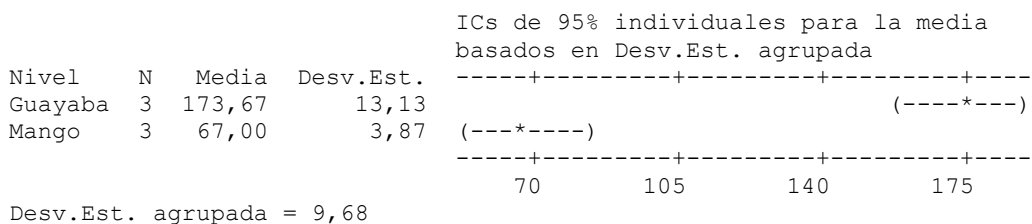
Desv.Est. agrupada = 5,99

- **FRAP:**

ANOVA unidireccional: FRAP vs. Subproducto

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Subproducto	1	17067,6	17067,6	182,22	0,000
Error	4	374,7	93,7		
Total	5	17442,3			

S = 9,678 R-cuad. = 97,85% R-cuad. (ajustado) = 97,31%

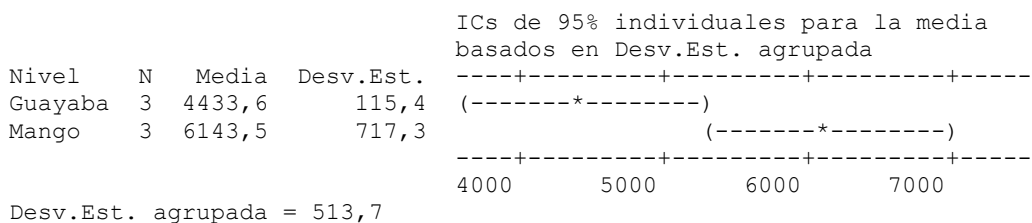


- **Fenoles totales:**

ANOVA unidireccional: Fenoles vs. Subproducto

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Subproducto	1	4385519	4385519	16,62	0,015
Error	4	1055730	263932		
Total	5	5441249			

S = 513,7 R-cuad. = 80,60% R-cuad. (ajustado) = 75,75%



- **Fibra dietaria total:**

ANOVA unidireccional: Fibra Dietaria vs. Subproducto

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Subproducto	1	1709,27	1709,27	390,11	0,000
Error	4	17,53	4,38		
Total	5	1726,79			

S = 2,093 R-cuad. = 98,99% R-cuad. (ajustado) = 98,73%