



**Centro de Investigación en alimentación y
Desarrollo, A. C.**

**EFFECTO DE LA FIBRA DIETARIA EN LA CAPACIDAD
ANTIOXIDANTE DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE
FRUTOS TROPICALES DURANTE UN MODELO DE
DIGESTIÓN *In vitro***

Por:

Gustavo Rubén Velderrain Rodríguez

TESIS APROBADA POR LA
COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS

APROBACIÓN

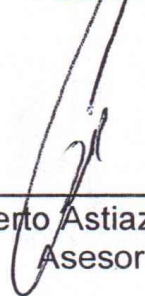
Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Gustavo Rubén Velderrain Rodríguez la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias



Dr. Gustavo Adolfo González Aguilar
Director de tesis



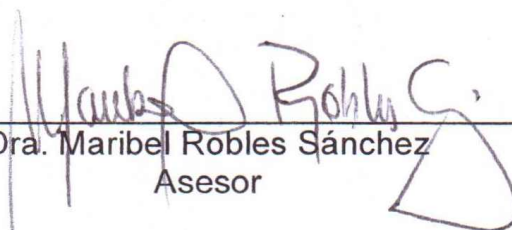
Dr. Jesús Fernando Ayala Zavala
Asesor



Dr. Humberto Astiazarán García
Asesor



Dr. Abraham Wall Medrano
Asesor



Dra. Maribel Robles Sánchez
Asesor

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en esta tesis es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del Director General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director de tesis.



Dr. Pablo Wong González
Director General

AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y tecnología (CONACYT)** por el apoyo económico otorgado durante la realización de mis estudios de posgrado.

Al **Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C.** por permitirme formar parte de este centro, y brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de maestría.

A la **Coordinación de Alimentos de Origen Vegetal**, por darme espacio en sus instalaciones durante esta etapa de estudios.

A mi asesor, **Dr. Gustavo Adolfo González Aguilar**, por haber confiado en mí durante estos 2 años. Agradezco toda la paciencia, respeto y oportunidades brindadas durante este periodo de desarrollo profesional

A los miembros del comité de tesis: **Dr. Fernando Ayala Zavala, Dr. Abraham Wall Medrano, Dra. Maribel Robles Sánchez y Dr. Humberto Astiazarán García** por todo el apoyo, dedicación e interés que siempre demostraron por mi formación profesional.

Al **Instituto Tecnológico de Tepic (ITTEPIC)**, a la **Dra. Sonia Sayago Ayerdi**, y a su grupo de trabajo por su gran ayuda en la realización del experimento.

Al equipo de trabajo y personal de **Laboratorio de Antioxidantes y Alimentos Funcionales, QB. Mónica Villegas Ochoa**, por su increíble paciencia, disposición y amistad que contribuyeron a parte de mi desarrollo técnico y profesional dentro de este grupo de trabajo.

A mis **compañeros de laboratorio**, **Ana Quirós**, **Hugo Palafox**, **José Villa**, **Joana Gil**, **Mayra Salmerón**, **Ramón Pacheco**, **Cinthia Ruiz**, además de todos los integrantes del **Laboratorio de Tecnologías Emergentes**, por su amistad y convivencia durante esta etapa.

A mis **compañeros y amigos** de esta generación en el programa de Maestría en Ciencias de CIAD, porque su amistad y convivencia hicieron de estos 2 años una estancia más amena. En especial a **Melvin Tapia**, por brindarme su amistad y apoyo durante esta etapa, sin su ayuda no habría sido igual.

DEDICATORIA

A mis padres, **Marco Antonio y María Eugenia**, por todo el apoyo, amor y confianza que siempre han tenido en mí. Por estar siempre ahí cuando los necesito, apoyándome en cualquiera de mis decisiones. Por haberme brindado la oportunidad de tener una educación, además de ser siempre buen ejemplo, lo que me ha ayudado en mi desarrollo tanto profesional como personal. Este trabajo representa un logro más, gracias a su apoyo y confianza incondicional.

A mis hermanos, **Toño y Maru**, que a pesar de que en ocasiones peleamos o discutimos, siempre han estado ahí para apoyarme cada que los necesito. Ustedes que siempre han sido un ejemplo a seguir, y sé muy bien que este logro los alegrará tanto como a mí.

A **Mariela Paz**, por toda la paciencia y comprensión que tuvo conmigo los últimos años y por ser una persona que marcó gran diferencia en mi vida. Gracias por ser como eres y por todo lo que compartimos juntos.

A mi abuela, **Josefina (Chepita)**, que aunque ya no está con nosotros, nos dejó muchos buenos recuerdos, me hubiera gustado compartir contigo este gran logro.

CONTENIDO

| | Página |
|--|--------|
| LISTA DE FIGURAS | ix |
| LISTA DE CUADROS | xi |
| LISTA DE ABREVIATURAS | xii |
| RESUMEN..... | xiii |
| ABSTRACT | xiv |
| INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| ANTECEDENTES | 3 |
| Frutos Tropicales: Fuente Natural de Compuestos Antioxidantes | 3 |
| Condiciones Químico-Enzimáticas del Tracto Gastrointestinal y su Efecto en la Bioaccesibilidad y Biodisponibilidad de Compuestos Bioactivos..... | 12 |
| Interacciones entre Compuestos Fenólicos y Fibra Dietaria | 17 |
| Efecto de las Enzimas del Tracto Digestivo sobre el Proceso de Absorción..... | 22 |
| Influencia de la Microbiota Intestinal | 26 |
| Efecto de los CF como moduladores del crecimiento | 27 |
| Métodos de simulación de las condiciones de digestión humana..... | 28 |
| HIPÓTESIS | 32 |
| OBJETIVOS | 32 |
| Objetivo General..... | 32 |
| Objetivos Específicos..... | 32 |
| MATERIALES Y MÉTODOS | 33 |
| Materia Prima..... | 33 |
| Caracterización de Compuestos y Capacidad Antioxidante..... | 33 |
| Extracción de Compuestos Fenólicos | 33 |
| Compuestos fenólicos no extraíbles..... | 35 |
| Taninos Condensados | 36 |
| Fenoles totales..... | 36 |
| DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidracil).- | 37 |
| TEAC | 37 |

| | |
|--|----|
| Contenido de Fibra dietaria..... | 38 |
| Efecto de las condiciones químicas simuladas del tracto gastrointestinal | 40 |
| Método de digestión <i>in vitro</i> | 40 |
| RESULTADOS Y DISCUSION..... | 43 |
| Caracterización de compuestos y capacidad antioxidante | 43 |
| Contenido de fibra dietaria y compuestos fenólicos asociados | 50 |
| Efecto de las condiciones químicas simuladas del tracto gastrointestinal | 56 |
| CONCLUSIONES..... | 64 |
| RECOMENDACIONES | 65 |
| REFERENCIAS | 66 |

LISTA DE FIGURAS

| Figura | Página |
|--|--------|
| 1.- Ilustración de algunos ejemplos de propiedades biológicas de los compuestos fenólicos..... | 8 |
| 2.- Condiciones químico-enzimáticas y tiempo de residencia en las diferentes etapas de digestión..... | 13 |
| 3.- Bioaccesibilidad y biodisponibilidad de compuestos fenólicos en las diferentes etapas del tracto gastrointestinal..... | 15 |
| 4.- Esquema general del proceso de absorción de compuestos fenólicos. LPH, Lactasa phloridizin hidrolasa; SGLT1, transportador de glucosa dependiente de sodio; MRP2, proteína de resistencia a multi-drogas 2; MRP1, proteína de resistencia a multi-drogas 1; CF, Compuesto fenólico; SULT, sulfotransferasa; COMT, Catecol-O-Metil-Transferasa; UGTA, glucuronosil UDP transferasa (Kanazawa, 2011). | 18 |
| 5.- Efecto de la fibra dietaria en la absorción de nutrientes y compuestos fenólicos. LPH, Lactasa phloridizin hidrolasa; SGLT1, transportador de glucosa dependiente de sodio; MRP2, proteína de resistencia a multi-drogas 2; MRP1, proteína de resistencia a multi-drogas 1; CF, Compuesto fenólico; FD, Fibra Dietaria; SULT, sulfotransferasa; COMT, Catecol-O-Metil-Transferasa; UGTA, glucuronosil UDP transferasa (Palafox-Carlos <i>et al.</i> , 2011; Kanazawa, 2011)..... | 20 |

| | |
|---|----|
| 6.- Modelo propuesto para el mecanismo de acción de la disminución de la capacidad antioxidante de compuestos fenólicos por efecto del atrapamiento por fibra dietaria..... | 21 |
| 7.- Conjugaciones hepáticas principales de compuestos fenólicos biodisponibles por las enzimas UDP glucuronosil transferasa (UGTA1), Fenol sulfotransferasa (SULTA1), catecol-O-metiltransferasa (COMT).... | 25 |
| 8.- Diagrama de flujo del experimento, la selección de los frutos de estudio y análisis realizados..... | 34 |
| 9.- Proceso de diálisis de los productos de hidrólisis enzimática con Amiloglucosidasa para la obtención de la fracción soluble de fibra dietaria | 39 |
| 10.- Condiciones químico-enzimáticas de las diferentes etapas de digestión simuladas en el modelo <i>in vitro</i> basado en la metodología de fracción indigestible..... | 41 |
| 11.- Graficas de regresión lineal y correlación (r) entre el contenido de fenoles extraíbles de los frutos y su capacidad antioxidante por los métodos de DPPH y TEAC (p<0.05). | 49 |
| 12.- Contenido de Fenoles totales en las diferentes etapas de digestión simulada. | 57 |

LISTA DE CUADROS

| Cuadro | Página |
|--|--------|
| 1.- Métodos de capacidad antioxidante y su mecanismo antioxidante. TAH= Transferencia de Átomos de hidrogeno, TE= Transferencia de electrones. | 10 |
| 2.- Efecto de los compuestos fenólicos en la modulación de la microbiota intestinal. | 29 |
| 3.- Caracterización de compuestos fenólicos extraíbles y su capacidad antioxidante..... | 44 |
| 4.- Contenido de compuestos fenólicos totales (mg EAG/100gpf). | 45 |
| 5.- Contenido de fibra dietaria soluble, insoluble y total (g/100g peso seco)..... | 51 |
| 6.- Contenido de compuestos fenólicos (mg EAG/100gpf) de frutos tropicales asociados (CFA) a las fracciones de fibra dietaria. | 54 |
| 7.- Capacidad antioxidante (mg ET/100gpf) de los compuestos fenólicos liberados durante las diferentes etapas de digestión..... | 61 |
| 8.- Coeficientes de correlación de Spearman (r) y nivel de probabilidad (p) entre el contenido de fenoles totales liberados y la capacidad antioxidante durante el modelo de digestión <i>in vitro</i> | 62 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|-------|---|
| CF | Compuestos Fenólicos |
| CAOX | Capacidad Antioxidante |
| ERO's | Especies Reactivas de Oxígeno |
| TAH | Transferencia de Átomos de Hidrogeno |
| TE | Transferencia de Electrones |
| CCR | Capacidad Captadora de Radicales |
| FD | Fibra Dietaria |
| FDA | Fibra Dietaria Antioxidante |
| FDT | Fibra Dietaria Total |
| FDI | Fibra Dietaria Insoluble |
| FDS | Fibra Dietaria Soluble |
| CFA | Compuestos Fenólicos Asociados |
| LPH | Lactasa Phlorizin Hidrolasa |
| SGLT | Transportador de Glucosa Dependiente de Sodio |
| UGTA | Glucuronosil UDP transferasa |
| MRP | Proteína de resistencia a multi-drogas |
| SULT | Sulfotransferasa |
| COMT | Catecol-O-Metil-Transferasa |
| DPPH | 2,2-Difenil-1-Picril-Hidracil |
| TEAC | Capacidad Antioxidante equivalente en Trolox |
| EAG | Equivalentes de ácido gálico |
| ET | Equivalentes Trolox |
| DNS | Ácido 3,5-dinitrosalicílico |

RESUMEN

Los frutos tropicales son considerados como una fuente rica en compuestos fenólicos (CF), los cuales han sido asociados con la prevención de enfermedades crónico-degenerativas. Sin embargo, la presencia de fibra dietaria (FD) en la matriz alimentaria de algunos de los frutos tropicales, juega un papel importante en la liberación y absorción de estos compuestos. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de la FD de frutos de mango cv. *Ataulfo*, papaya cv. *Maradol* y piña cv. *Esmeralda*, sobre la capacidad antioxidante (CAOX) de los extractos fenólicos de estos frutos durante un modelo de digestión *in vitro*. Para la simulación de las diferentes condiciones de digestión, se utilizó la metodología propuesta por Mañas y Saura-Calixto (1995). Los resultados indican que el fruto de mango presente el mayor contenido de CF y capacidad antioxidante (274.30 ± 9.32 mg EAG/100 gpf), seguido del fruto de papaya (212 ± 2.40 mg EAG/100 gpf) y piña (107.63 ± 1.01 mg EAG/100 gpf), respectivamente. Después de la etapa gástrica, en general, se liberaron de la matriz alimentaria de los 3 frutos cerca del 50% del contenido total de CF, manteniéndose estables en la etapa intestinal y alcanzando hasta un 60%, tras la hidrólisis enzimática por α -amilasa pancreática. Sin embargo, se observó que los CF en papaya fueron inestables al entrar a la etapa intestinal, observándose una disminución de CF y CAOX, debido a cambios conformacionales de los compuestos fenólicos ocasionados por efecto del pH. Adicionalmente, se analizaron las fracciones de FD, observando que la fibra de mango presenta mayor contenido de fenoles asociados (16.73 ± 0.24 mg EAG/100gpf) en comparación las fracciones de papaya (4.74 ± 0.18) y piña (4.17 ± 0.197). Por lo que se concluye, que la interacción de FD con los compuestos fenólicos de estos frutos, no tiene un efecto significativo en la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de estos compuestos, en las 3 etapas del modelo de digestión *in vitro* utilizado.

Palabras clave: Frutos tropicales, fenólicos, Capacidad antioxidante, Fibra dietaria, Bioaccesibilidad, Biodisponibilidad, Digestión *in vitro*.

ABSTRACT

Tropical fruits are considered as a good source of phenolic compounds (PC), which have been associated with the prevention of chronic degenerative diseases. However, the presence of dietary fiber (DF) in the food matrix of some tropical fruit plays an important role in the release and absorption of these compounds. The objective of this study was to evaluate the effect of DF in mango cv. *Ataulfo*, papaya cv. *Maradol* and pineapple cv. *Esmeralda* on the antioxidant capacity (AOXC) of phenolic extracts during *in vitro* digestion model. The different conditions of digestion, were simulated according to the methodology established by Mañas and Saura-Calixto (1995) The results indicate that the higher content of antioxidant capacity and CF was found in mango (274.30 ± 9.32 mg EAG/100gpf) followed by papaya fruit (212 ± 2.40 mg EAG/100 gpf) and pineapple (107.63 ± 1.01 mg EAG/100 gpf), respectively. After the gastric stage, close to 50% of total PC was released from the food matrix of the 3 fruits, remaining stable on intestinal stage and reaching close to 60% after the enzymatic hydrolysis by pancreatic α -amylase. However, it was observed that the PC in papaya were unstable when entering the intestinal stage, showing a decrease in PC and AOXC, possibly due to the conformational changes in the structure caused by the pH changes. Additionally DF fractions were analyzed; observing that mango fractions presented the highest content of associated PC (16.73 ± 0.24 mg EAG/100gpf) compared with papaya DF fractions (4.74 ± 0.18) and pineapple (4.17 ± 0.197). We concluded that possible interactions of DF with phenolic compounds did not affect the bioaccessibility and bioavailability of these compounds, in the 3 stages of the *in vitro* digestion model used.

Keywords: Tropical fruit, phenolic, antioxidant capacity, dietary fiber, bioaccessibility, bioavailability, *in vitro* digestion.

INTRODUCCIÓN

La sociedad actual ha desarrollado una preocupación por mantener un equilibrio entre su salud y los alimentos que consumen (Ragaert *et al.*, 2004). Actualmente se conoce que los productos de origen vegetal, son la principal fuente de compuestos fitoquímicos con diferente actividad biológica (Dembitsky *et al.*, 2011). La funcionalidad de un compuesto bioactivo de extractos de plantas depende de sus diferentes fitoquímicos, entre los cuales están los compuestos fenólicos (CF), carotenoides, xantofilas, clorofilas, entre otros (Hossain y Rahman, 2011). Esto ha generado que diversos estudios propongan una relación estrecha entre el consumo diario de frutas y verduras y la prevención de diversas enfermedades crónico-degenerativas (John *et al.*, 2002; González-Aguilar *et al.*, 2008; Visioli *et al.*, 2011).

Se ha demostrado que la actividad biológica de un compuesto bioactivo depende de una adecuada absorción durante el proceso de digestión (de la Torre, 2008). Sin embargo, existen diferentes condiciones que afectan la absorción de los compuestos bioactivos, debido a interacciones fisicoquímicas y de atrapamiento con otras moléculas como proteínas, polisacáridos y lípidos de la matriz del alimento (D'Archivio *et al.*, 2010). Se ha visto que uno de los principales componentes de los frutos es la fibra dietaria, que está presente en diferente concentración en los diferentes vegetales. La fibra dietaria (FD) presente en frutos tropicales, puede llegar a afectar la biodisponibilidad y bioaccesibilidad de los compuestos bioactivos (Montagne *et al.*, 2003; Palafox-Carlos *et al.*, 2011; Porrini y Riso, 2008). Se ha propuesto que la presencia de FD en la parte del tracto gastrointestinal superior, provoca una disminución en la tasa de absorción de diversos nutrientes a nivel intestinal (Brownlee, 2011).

Aun cuando falta elucidar los mecanismos, se ha demostrado que pueden existir interacciones químicas entre los grupos hidroxilo de los CF y los grupos polares de los polisacáridos constituyentes de la fibra dietaria (Eastwood y Morris, 1992). El tipo de interacción entre estos grupos se da por enlaces no covalentes como puentes de hidrogeno, fuerzas electroestáticas y fuerzas de Van der Waals (Palafox-Carlos *et al.*, 2011). La suma de estas interacciones afecta la biodisponibilidad de los compuestos bioactivos presentes en la matriz del alimento.

Los compuestos que se encuentran en forma libre son más bioaccesibles que los compuestos fenólicos unidos a fibra dietaria, que necesitan de una hidrólisis enzimática en el tracto gastrointestinal, de otra manera no son bioaccesibles para su absorción en el intestino delgado (Holst y Williamson, 2008). Estos compuestos no bioaccesibles son susceptibles a una degradación por la microbiota intestinal en el intestino grueso (Pérez-Jiménez *et al.*, 2009). De esta manera, considerando que la fibra dietaria actúa como una matriz que atrapa a los CF y evita su liberación a nivel intestinal, la mayoría de ellos llegan al intestino grueso donde son fermentados (Palafox-Carlos *et al.*, 2011). Sin embargo, debido a que la unión entre fibra dietaria y CF consiste en enlaces individualmente débiles, las diferentes condiciones y enzimas del tracto gastrointestinal podrían propiciar la liberación de algunos de estos compuestos (Parada y Aguilera, 2007). Es importante conocer las interacciones entre FD y compuestos fenólicos para desarrollar nuevas formulaciones de alimentos funcionales. Además de considerarse los mecanismos de liberación y absorción de estos compuestos, la acción de la microbiota intestinal juega un papel importante en los efectos a la salud del consumidor. Por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la fibra dietaria en la capacidad antioxidante de compuestos fenólicos de frutos tropicales, en un modelo de digestión *in vitro*.

ANTECEDENTES

Frutos Tropicales: Fuente Natural de Compuestos Antioxidantes

Actualmente, la demanda de la población por el consumo de alimentos saludables, ha conducido al aumento en la ingesta de alimentos de origen vegetal. Este aumento en la demanda y mejoras en los sistemas de producción, se ha visto reflejado en la producción mundial de frutas tropicales. La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) estimó en el año 2011, que el área de cultivo a nivel mundial, destinada a frutos tropicales abarcó aproximadamente 2,872,302 millones de hectáreas (FAOSTAT, 2013). Sin embargo, la riqueza en variedades de especies de frutas en una región, está asociada principalmente con sus características geográficas (Rufino *et al.*, 2010). Con esta gran variedad de especies, podemos identificar una amplia variedad de colores y sabores entre los mismos, gracias a los diferentes compuestos fitoquímicos presentes en estos (Bonafine *et al.*, 2006). Una de las características de algunos fitoquímicos es que además de proporcionar color, sabor, y demás propiedades organolépticas, confieren diferentes propiedades biológicas que han sido consideradas en los estudios de los últimos años. Entre los fitoquímicos que más se han estudiado tenemos a los polifenoles, carotenoides, así como lípidos con actividad biológica. Los alimentos de origen vegetal, especialmente los frutos tropicales, se han destacado a lo largo de los años por ser una fuente rica en una amplia variedad de compuestos bioactivos como compuestos fenólicos, fitoesteroles, carotenoides y algunas vitaminas (González-Aguilar *et al.*, 2008). Los

fitoesteroles, por ejemplo, son compuestos fitoquímicos los cuales están ampliamente distribuidos en el reino vegetal ya que son componentes estructurales de las membranas celulares. Entre los alimentos que los contienen, se encuentran los aceites vegetales, que a su vez, son reconocidos por su capacidad para reducir los niveles de colesterol (Moreau *et al.*, 2002). Los carotenoides, por otro lado, comparten con los ácidos grasos una naturaleza lipídica, y estos poseen propiedades antioxidantes que les confieren propiedades benéficas en la prevención de diversas enfermedades (Rao y Rao, 2007; Kadian y Garg, 2012). Entre los principales representantes del grupo de los carotenoides se encuentra el β -caroteno, el cual es una provitamina A y está presente en zanahorias, tomates, pimientos y muchos otros vegetales. El licopeno, obtenido a partir de tomates, se ha comprobado que reduce el desarrollo de algunos tipos de cáncer (Giovannucci, 1999).

Las vitaminas son consideradas como compuestos orgánicos esenciales presentes en cantidades traza en el organismo humano y son utilizadas para diferentes procesos químicos y fisiológicos (Kadian y Garg, 2012; Rao y Rao, 2007). Entre los alimentos considerados como fuente de vitaminas, se encuentran las semillas, el germen de trigo y algunos vegetales de hoja verde, estos han destacado como fuente de tocoferoles que conforman a la vitamina E (Usoro y Mousa, 2010; Bender, 2013). Se han reportado altos contenidos de vitamina C en frutos tropicales como Mango cv *Ataulfo* (93.5 ± 4.5 mg vit C/100 gpf) y papaya cv. *Maradol*, (58.6 mg vit C/100 gps) (Robles-Sánchez *et al.*, 2011; Gayosso-García Sancho *et al.*, 2011). Esto convierte a este tipo de alimentos en una fuente importante de ingredientes funcionales ya que las vitaminas antioxidantes, como la vitamina C y E, también tienen actividad biológica y se les reconoce su efectividad en la prevención de diferentes tipos de cáncer (van Poppel y van den Berg, 1997). En particular, en los últimos años, se ha visto que la vitamina C puede ser utilizada para el tratamiento de diferentes etapas de cáncer, en conjunto con otros químicos ya utilizados.

Los compuestos fenólicos (CF), también conocidos como polifenoles, son producidos por las plantas como metabolitos secundarios para la protección contra diferentes tipos de estrés abiótico y biótico (Das *et al.*, 2012). Los frutos contienen mezclas complejas de CF, dependiendo de los diferentes factores de estrés que puedan estar afectando al fruto o planta. Entre estos factores están los diferentes tipos de estrés ambiental en que se encuentran; exposición al sol, variedad del fruto y región en que se cultivan (Visioli *et al.*, 2011). Se ha observado que el estado de madurez del fruto y condiciones de almacenamiento influyen en el tipo y concentración de fenoles presentes en el tejido vegetal (Gonzalez-Aguilar *et al.*, 2010). Actualmente se conocen alrededor de 8,000 clases diferentes de CF, entre los cuales se encuentran, los ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos y lignanos (Vermeris y Nicholson, 2006). Naturalmente los CF se encuentran conjugados, con uno o más residuos de azúcar, unidos a grupos hidroxilo o directamente a un carbono aromático (Bravo, 1998). Por otro lado, el mango es un fruto tropical de gran demanda a nivel mundial, debido a sus agradables propiedades organolépticas como su sabor y textura. De acuerdo a la base de datos de la FAO, en el 2011 se reportó una producción de mango, mangosteen y guayaba de 38, 899, 593 toneladas (FAOSTAT, 2013). El mango es considerado como fuente importante de compuestos bioactivos, entre los que destacan los compuestos fenólicos, vitamina C, carotenoides y fibra dietaria (Palafox-Carlos *et al.*, 2012a; Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2012). Sus propiedades antioxidantes son atribuidas principalmente a su alto contenido en compuestos fenólicos, específicamente ácidos fenólicos, sin menospreciar los altos contenidos de carotenoides y vitamina C que presentan algunas variedades de mango como la “*Ataulfo*” (Palafox-Carlos *et al.*, 2012a).

Trabajos recientes, han demostrado, que el consumo de una dieta rica en mango puede ayudar a aumentar la capacidad antioxidante en plasma, así como a reducir los niveles de triglicéridos en plasma, los cuales están relacionados con la incidencia de aterosclerosis coronaria (Robles-Sánchez *et al.*, 2011). El aumento de la capacidad antioxidante en plasma tras el consumo directo de frutos de

mango, podría ayudar a prevenir o disminuir la incidencia de enfermedades crónico-degenerativas (Kanazawa, 2011). Esto, se debe a que todos aquellos compuestos bioactivos con propiedad antioxidante en plasma, podrían ayudar a proteger a las células y algunas biomoléculas en el organismo del consumidor (Masibo y He, 2008). Por otro lado, la piña se encuentra entre los frutos de mayor producción entre frutos tropicales, reportando la FAO una producción global de 21, 582, 237 toneladas en el año 2011 (FAOSTAT, 2013). Este fruto se ha caracterizado por ser una rica fuente de compuestos bioactivos. Ejemplo de esto, es la variedad de piña (*Ananas comosus L., Merr.*), la cual cuenta con un alto contenido nutritivo y es una rica fuente de vitaminas A, B, y C, además de minerales como calcio, fósforo y hierro (Hossain y Rahman, 2011). Esta capacidad antioxidante se debe a la presencia de compuestos como los flavonoides, isoflavonas, flavonas, antocianinas, catequinas, entre otros (Alothman *et al.*, 2009; Mhatre *et al.*, 2009). Rosas-Domínguez (2011) reportó que en frutos de piña cv. *Esmeralda* en estado de madurez 4, sus propiedades antioxidantes se deben principalmente a los compuestos fenólicos. Estos compuestos representan el 44.91% de sus compuestos bioactivos, seguidos de vitamina C (28.72%) y β -Caroteno (10.73%). Esto nos indica que la piña es una fuente importante de compuestos bioactivos, los cuales pueden ejercer distintas actividades biológicas en el organismo humano.

Por otro lado, la papaya se encuentra también entre los principales frutos seguida de la producción de piña, con reportes en producción global por parte de la base de datos de la FAO de 11, 838, 651 toneladas en el año 2011 (FAOSTAT, 2013). Entre los principales compuestos bioactivos contenidos en este fruto se encuentran: ácido ferúlico, ácido *p*-coumárico, ácido cafeíco, licopeno, β -criptoxantina, β -caroteno, además de vitamina C (Gayosso-García Sancho *et al.*, 2011). Sin embargo, existen otros frutos tropicales de menor volumen comercial como el lichi, duran, rambután y granadilla. En general, los frutos tropicales son considerados como una fuente importante de compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes (Yahia, 2010; Ayala-Zavala *et al.*, 2011). La mayoría de

los fitoquímicos presentes en los frutos tropicales ejercen diferentes actividades biológicas, entre las cuales destaca principalmente su capacidad antioxidante. Los antioxidantes destacan entre los compuestos biológicamente activos de los frutos tropicales, ya que son atractivos al consumidor por su carácter inocuo y por su potencial efecto terapéutico (González-Aguilar *et al.*, 2008; Yahia, 2010; Wang *et al.*, 2011). Un antioxidante es una sustancia que puede prevenir o retrasar el daño a biomoléculas por radicales libres producto de reacciones oxidativas. (Lim *et al.*, 2007; Sailaja Rao *et al.*, 2011; González-Aguilar *et al.*, 2008). Sin embargo, como se muestra en la **Figura 1**, los compuestos fenólicos han demostrado participar en diversas actividades biológicas, destacando como potentes antioxidantes inhibidores de radicales libres, queladores de metales pesados y en ocasiones como inhibidores de enzimas (Wang *et al.*, 2009). El mecanismo de acción por el cual estos compuestos pueden funcionar como queladores de metales, se debe a que estos compuestos se unen a grupos galol o catecol de la molécula (Andjelković *et al.*, 2006). Por otro lado, su efecto inhibitorio de algunas enzimas resulta en beneficios a la salud, esto debido a lo reportado por Park y Jhon (2010) quienes observaron las propiedades antioxidantes e inhibitorias de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA) en extractos fenólicos de brotes de bambú. Esta enzima está relacionada con el padecimiento de hipertensión arterial, por lo que su inhibición puede ayudar a prevenir o controlar tal padecimiento (Bakris *et al.*, 1992). Se han realizado varios estudios sobre el efecto de otros compuestos con capacidad antioxidante como péptidos de la leche y derivados de productos lácteos, con propiedades para inhibir la ECA (Rodríguez-Figueroa *et al.*, 2010).

Asimismo, los antioxidantes actúan según el sustrato al que se enfrentan; eliminando radicales libres o quelando metales (Niki y Noguchi, 2000). Sin embargo, los procesos de oxidación son esenciales en los procesos biológicos para la producción de energía o como moléculas de señalización, las cuales pueden desencadenar diversas funciones biológicas en el organismo humano

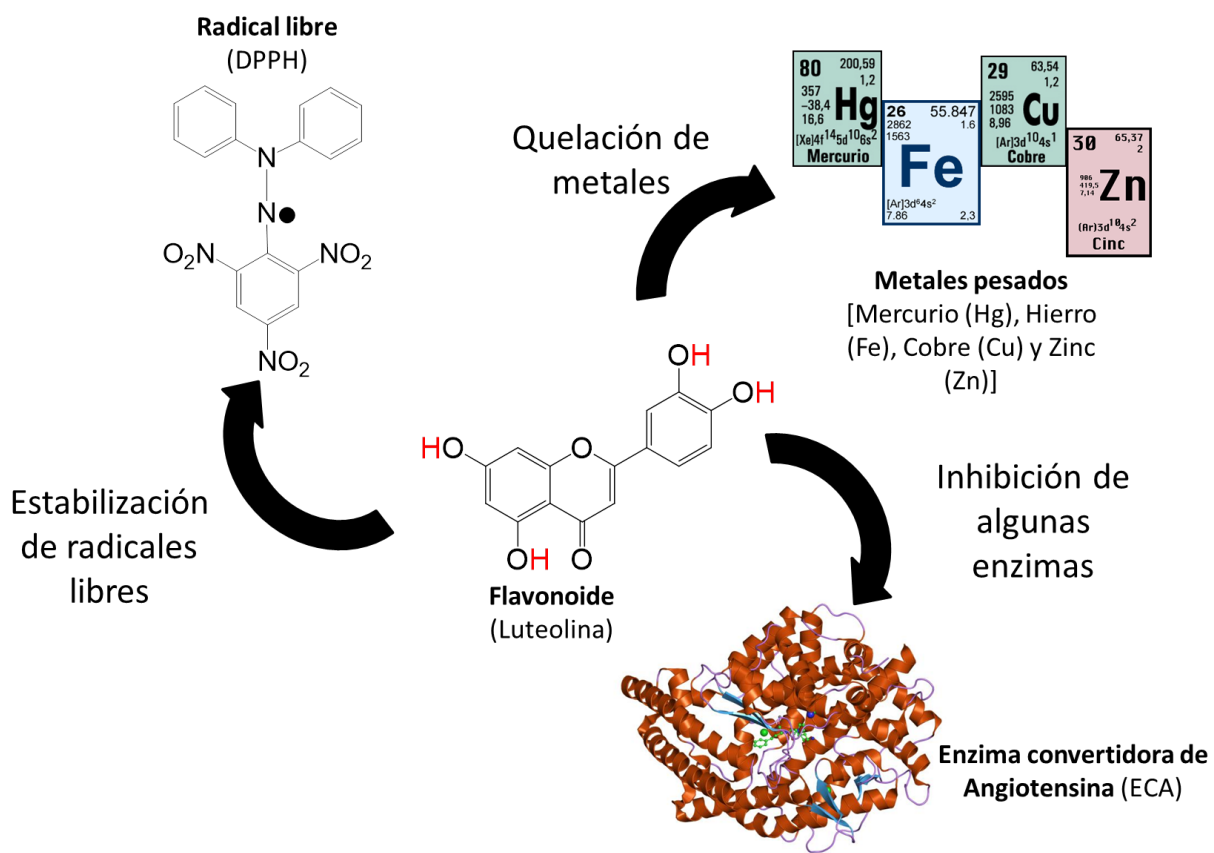
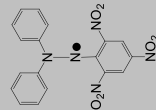
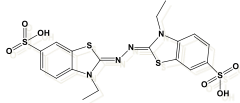
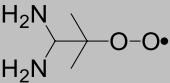
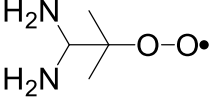
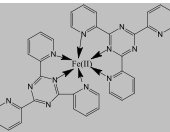


Figura 1.- Ilustración de algunos ejemplos de propiedades biológicas de los compuestos fenólicos.

(Hensley *et al.*, 2000; Fialkow *et al.*, 2007). Sin embargo, una excesiva producción de especies reactivas de oxígeno (ERO's), se ha asociado a la peroxidación lipídica y desarrollo de enfermedades crónico-degenerativas y cardiovasculares (Rufino *et al.*, 2011b). De la misma forma, las ERO's pueden ser producidas a lo largo de los procesos de maduración de los frutos, los cuales van acompañados de un aumento en los procesos metabólicos, por lo que su contenido de compuestos fenólicos que protegen al fruto, va de acuerdo al estado de madurez (Gonçalves *et al.*, 2004; Palafox-Carlos *et al.*, 2012b; Rosas-Domínguez, 2011). Este contenido de compuestos fenólicos en los diversos frutos tropicales, normalmente es acompañado de estudios para medir su capacidad antioxidante de forma individual utilizando diferentes métodos analíticos (Lim *et al.*, 2007; Karadag *et al.*, 2009) . Por tanto, es difícil clasificar las capacidades antioxidantes de estas frutas tropicales sobre la base de los informes de la literatura existente (García-Alonso *et al.*, 2004). Un estudio realizado por Villa-Rodríguez *et al.* (2011) demostró que el estado de madurez tuvo un efecto significativo sobre el contenido total de compuestos fenólicos en el fruto de aguacate, encontrándose los valores más altos (31.88 mg Equivalentes de Ácido Gálico /100 gramos peso fresco) en su estado de madurez 3.

Algunos métodos para determinar la CAOX en alimentos de origen vegetal, arrojan algunos resultados similares, sin embargo, otros son muy diferentes. Esto, debido a los diferentes mecanismos antioxidantes en los que se basa cada método analítico, ya sea transferencia de átomos de hidrogeno (TAH) o en la transferencia de electrones (TE) (Prior *et al.*, 2005). Sin embargo, las diferencias en el contenido de compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante pueden deberse a la variedad del cultivo utilizada, estado de madurez, región de producción, tratamientos pre y poscosecha (Balasundram *et al.*, 2006; Gonzalez-Aguilar *et al.*, 2010). Es por ello que hasta el momento no existe un método universal para la medición de la actividad antioxidante, por lo que muchos autores recomiendan el uso de al menos 3-4 métodos. El **Cuadro 1**, se muestran algunas de las técnicas antioxidantes más utilizadas y sus diferentes mecanismos

Cuadro 1.- Métodos de capacidad antioxidante y su mecanismo antioxidante. TAH= Transferencia de Átomos de hidrogeno, TE= Transferencia de electrones.

| Método | Radical | Estructura | Mecanismo antioxidante | Medio o Solución | Referencia |
|--------|---|---|------------------------|---|---------------------------------------|
| DPPH | DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidracil) |  | TAH/TE | Alcohólica (Metanol) | (Brand-Williams <i>et al.</i> , 1995) |
| TEAC | ABTS•+ [2,2'-azino-bis (ácido 3- etilbenzotiazolina-6- sulfónico)] |  | TAH/TE | Alcohólica (Etanol) | (Miller <i>et al.</i> , 1993) |
| ORAC | Radical Peroxilo |  | TAH | Acuoso- orgánica (Buffer de fosfatos salino) | (Huang <i>et al.</i> , 2002) |
| TRAP | Radical Peroxilo |  | TAH | Acuoso- orgánica (Buffer de fosfatos salino) | (Valkonen y Kuusi, 1997) |
| FRAP | Complejo férrico tripiridil triazina |  | TE | Acuoso- orgánica (Buffer de acetatos) | (Benzie <i>et al.</i> , 1999) |

antioxidantes en los que se basa la reacción La capacidad antioxidante se expresa en términos de la habilidad para capturar radicales libres específicos como [DPPH•] o [LOO•] (Rufino *et al.*, 2011b). El método de DPPH• es ampliamente utilizado para evaluar la capacidad captadora de radicales (CCR) en un tiempo relativamente corto en comparación con otros métodos (Brand-Williams *et al.*, 1995; Sánchez-Moreno *et al.*, 1998). Este es un método sencillo que se basa en la estabilización de un radical orgánico de nitrógeno, que en solventes orgánicos genera un color púrpura intenso (Karadag *et al.*, 2009). El radical utilizado en este método, a diferencia de otros ensayos, se encuentra disponible comercialmente y no tiene que ser generado como el radical ABTS^{•+} utilizado en el método de TEAC (Prior *et al.*, 2005). Actualmente, el método de DPPH, es una de las técnicas más utilizadas para medir la capacidad antioxidante de extractos de frutos tropicales.

En este contexto, los CF han sido estudiados bajo los diferentes mecanismos antioxidantes de los métodos conocidos en una gran variedad de frutos tropicales (Manach *et al.*, 2004; Soong y Barlow, 2004; Rufino *et al.*, 2010). Las diferentes estructuras químicas en cada clase de CF, es determinante en las reacciones de estabilización de ERO's y radicales libres (Sailaja Rao *et al.*, 2011). Estas propiedades antioxidantes contribuyen a la salud humana, previniendo algunos de los procesos que conllevan a diversas enfermedades cardiovasculares y/o crónico-degenerativas (Singh *et al.*, 2008). Hasta hoy en día, sólo se ha logrado la caracterización parcial de CF en pulpa de algunos frutos tropicales; mango, papaya, piña, zarzamora andina y marañón, entre otros. En el caso del mango cv. *Ataulfo*, se ha identificado que los principales compuestos fenólicos presentes en pulpa son los ácidos fenólicos, siendo los mayoritarios ácido gálico y clorogénico (Palafox-Carlos *et al.*, 2012a). Por otro lado, se han identificado los componentes principales de la cáscara de la misma variedad de mango, encontrándose que esta es una fuente importante de polímeros de ácidos fenólicos, principalmente gálico, conformando gallotaninos compuestos por unidades galoil que van de 5 (glucosa penta-O- galoil) a 13 unidades (glucosa trideca-O-galoil) (Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2013). De igual manera, se han logrado identificar en frutos tropicales de menor

consumo como plátano, carambola y acerola, algunos tipos de CF, en los que destacan compuestos como las antocianinas, taninos condensados e hidrolizables (Rinaldo, 2010).

Condiciones Químico-Enzimáticas del Tracto Gastrointestinal y su Efecto en la Bioaccesibilidad y Biodisponibilidad de Compuestos Bioactivos

Los ingredientes bioactivos una vez ingeridos son expuestos a diferentes condiciones en el tracto digestivo humano. Entre los cuales tenemos la exposición a diferentes tipos de enzimas, tiempos de residencia y pH, tal como se muestra en la **Figura 2** (Hur *et al.*, 2011). Estas condiciones representan un factor importante en la liberación de los compuestos bioactivos embebidos en las matrices alimentarias de los distintos tipos de frutos. La matriz alimentaria representa uno de los principales factores involucrados en la liberación de los compuestos bioactivos y nutrientes presentes en los alimentos (Porrini y Riso, 2008). De esta manera, los compuestos que conforman a la matriz alimentaria pueden estar afectando enormemente la liberación de los compuestos bioactivos, debido a los tipos de interacción que estos tengan entre sí (Proudfoot, 1991; Parada y Aguilera, 2007). Por lo tanto, estos componentes o su diversa microestructura pueden provocar distintos tipos de interacciones o atrapamiento que puedan estar sufriendo los compuestos bioactivos del fruto, retardándose de esta manera su liberación y absorción (Parada y Aguilera, 2007; Walton *et al.*, 2009).

La composición de los frutos, normalmente es alta en humedad, variando entre un 80-90% de humedad en la mayoría de los frutos, el resto varía entre su contenido de carbohidratos (azúcares simples), fibra dietaria y vitaminas, sin embargo, normalmente su composición es baja en proteínas (David Arthey, 1996). Dentro de estos componentes, la fibra dietaria juega un papel muy importante, debido a que este tipo de polisacáridos complejos, es resistente a las condiciones químicas del tracto gastrointestinal así como a la hidrólisis provocada por sus diversas enzimas

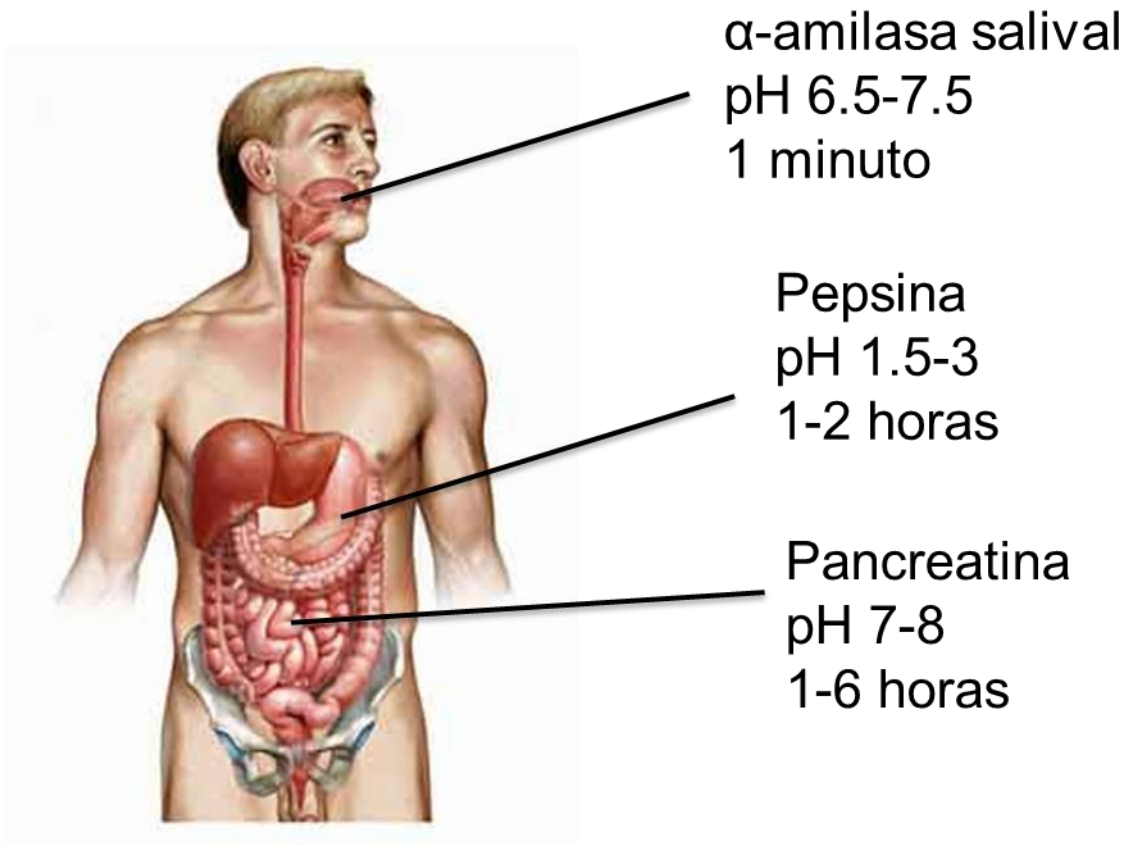


Figura 2.- Condiciones químico-enzimáticas y tiempo de residencia en las diferentes etapas de digestión.

digestivas (Palafox-Carlos *et al.*, 2011). Sin embargo, esta resistencia a su hidrólisis hace de este tipo de compuestos de gran importancia para mantener una adecuada salud intestinal. Al ser estos compuestos polímeros complejos con capacidad de retención de agua, provocan un atrapamiento de los distintos nutrientes y/o antinutrientes presentes en los alimentos (Joanne Slavin PHD y Jacobs Jr, 2010). Esta característica de la fibra dietaria, resulta benéfica en la prevención y control de enfermedades como la diabetes o la disminución de los niveles elevados de colesterol, gracias al atrapamiento que provoca la fibra dietaria sobre las moléculas de glucosa y colesterol (Chandalia *et al.*, 2000; Babio *et al.*, 2010).

Se han encontrado muchos beneficios en el consumo de diversos compuestos bioactivos presentes en distintos frutos tropicales. Sin embargo, una alta ingesta no nos asegura una alta absorción de estos compuestos bioactivos (Tarko *et al.*, 2009). Para que estos compuestos tengan una actividad biológica apreciable, es importante que los compuestos bioactivos estén biodisponibles. Esto con el fin de que puedan ser absorbidos y puedan tener la acción apropiada en el sitio adecuado. Se ha definido como biodisponibilidad a aquella fracción de nutriente o compuesto ingerido que logra llegar al torrente sanguíneo y/o los sitios específicos donde puede ejercer su actividad biológica (Porrini y Riso, 2008). El concepto de biodisponibilidad aborda cuatro aspectos: bioaccesibilidad, absorción, distribución en tejidos y bioactividad (Mateo Anson *et al.*, 2009). Se le conoce como bioaccesibilidad a la facilidad de los compuestos para ser liberados de la matriz alimenticia y estar disponibles para su absorción en el intestino (Hedren *et al.*, 2002). Ambos conceptos, son ilustrados en la **Figura 3**. Los alimentos ingeridos sufren una serie de transformaciones durante su paso a lo largo del TGI, desde la ingesta a la evacuación (Turgeon y Rioux, 2011). El TGI puede ser considerado como un eficiente extractor, donde parte de los fitoquímicos contenidos en la matriz del alimento son liberados para ser absorbidos.

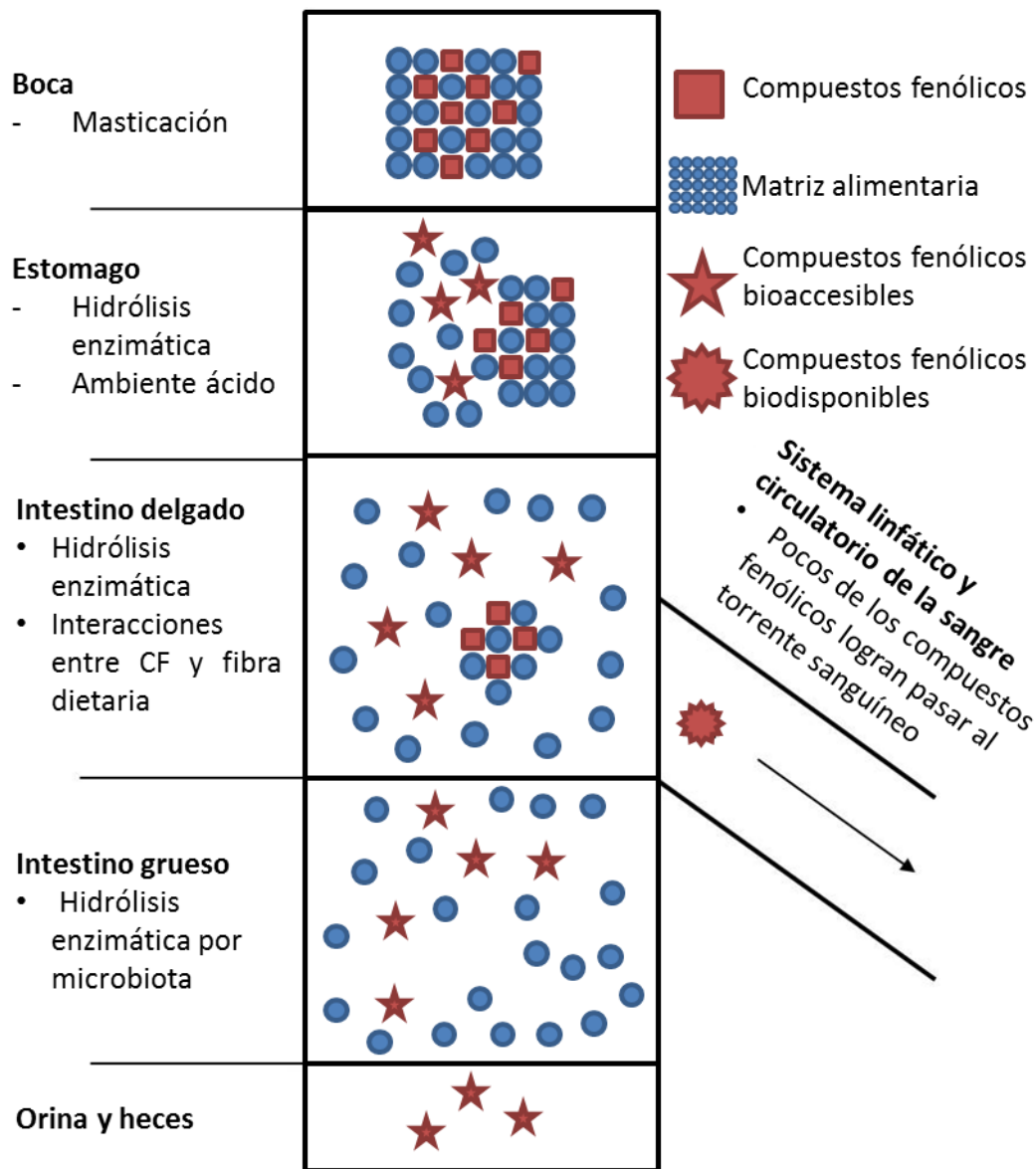


Figura 3.- Bioaccesibilidad y biodisponibilidad de compuestos fenólicos en las diferentes etapas del tracto gastrointestinal.

Las transformaciones que sufren los alimentos ingeridos comienzan en la boca, con la liberación de nutrientes por la disrupción mecánica de la matriz ocasionada por la masticación (Kulp *et al.*, 2003). Durante la masticación, los pequeños pedazos del alimento son impregnados de saliva la cual contiene la enzima α -amilasa responsable de hidrolizar almidón en sus constituyentes más simples (Hur *et al.*, 2011). Durante esta etapa la masticación y saliva, provocan una ruptura celular en el fruto que libera compuestos como carotenoides, CF presentes en la vacuola o ligados a la pared celular (Palafox-Carlos *et al.*, 2011). Sin embargo, el tiempo de residencia de los alimentos en esta etapa es corto (aproximadamente 1 minuto), por lo que los cambios que sufre la matriz alimentaria en esta etapa son pocos (Oomen *et al.*, 2003).

En el estómago, el proceso de digestión se debe principalmente a la acción de proteasas y sus condiciones ácidas (pH 1.5-3). El tiempo de residencia en esta etapa es mayor que el anterior (1-2 horas) donde la principal enzima es la proteasa aspártica llamada pepsina, responsable de la ruptura de proteínas a cadenas cortas de péptidos o aminoácidos (Hur *et al.*, 2011). La acción de la pepsina y las condiciones de acidez en el estómago, facilita la hidrólisis de enlaces peptídicos y carbohidratos en la matriz del alimento. Esta hidrólisis favorece la liberación de CF unidos a los diversos macronutrientes dentro de la matriz alimentaria (Saura-Calixto *et al.*, 2007). Recientemente, se ha observado que durante la digestión estomacal puede ocurrir la absorción de algunos flavonoides; quercetina, daidzeína o antocianinas. Sin embargo, la estabilidad de los CF depende de factores como pH y temperatura, así como la presencia de inhibidores o enzimas que facilitan la absorción (Bouayed *et al.*, 2011b). Se ha sugerido que el potencial antioxidante de los CF puede ser mayor en el intestino, el cual se encuentra en un rango de pH entre 7-8, ya que esta característica de los CF es pH-dependiente.

Seguida a la etapa gástrica, los alimentos llegan al intestino, donde continúa su hidrólisis enzimática con la ayuda del complejo enzimático denominado

pancreatina (Hur *et al.*, 2011). En esta etapa de digestión en el intestino delgado, el tiempo de residencia es mayor (1-6 horas) y es este el principal sitio de absorción de micro y macro-nutrientes. El intestino delgado humano, se divide en 3 partes: duodeno, yeyuno e íleon. Las vellosidades del duodeno y el yeyuno son mayores y más numerosas que las del íleon. Estas vellosidades son las unidades de absorción del intestino (Pérez, 2006). La mayoría de los CF están presentes en los alimentos en forma de ésteres, glucósidos, o polímeros que no pueden ser absorbidos en su forma nativa (Manach *et al.*, 2004). Sin embargo, algunos de estos CF, pueden ser absorbidos gracias a distintos transportadores presentes en las células epiteliales del intestino. El esquema general de absorción de CF es mostrado en la **Figura 4**, donde se ilustra el papel de las proteínas transportadoras presentes en las células epiteliales.

Interacciones entre Compuestos Fenólicos y Fibra Dietaria

Actualmente se conoce como fibra dietaria (FD) a la parte indigerible de la pared celular vegetal (Cummings *et al.*, 2009). En el 2008, la Comisión del Codex sobre Nutrición y Alimentos para Regímenes Especiales (CCNFSDU) define a la FD adecuando el concepto a conocimientos recientes. Por lo tanto, definen a la FD como polímeros de carbohidratos con diez o más unidades monoméricas no hidrolizables por las enzimas endógenas en el intestino delgado de los seres humanos. La FD puede clasificarse en tres tipos. El primer tipo comprende los polímeros de hidratos de carbono de origen natural en los alimentos que se consumen. En el segundo tipo se encuentran los carbohidratos obtenidos a partir de los alimentos por medios físicos, enzimáticos o químicos, y poseen un efecto fisiológico benéfico para la salud. Su última clasificación comprende carbohidratos sintéticos, los cuales han mostrado tener efectos fisiológicos benéficos para la salud. Los efectos benéficos de la FD deben ser evaluados mediante pruebas científicas y aceptados por autoridades competentes (Cummings *et al.*, 2009). Los

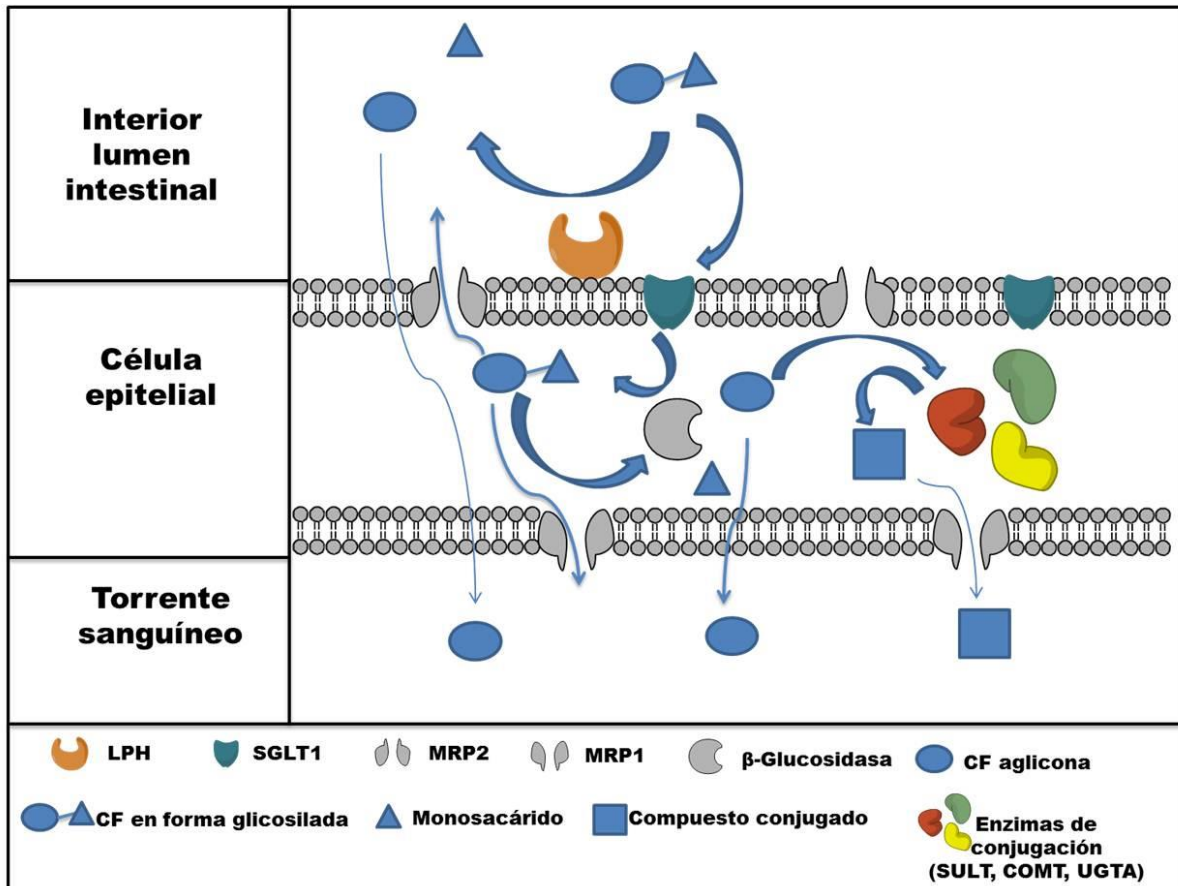


Figura 4.- Esquema general del proceso de absorción de compuestos fenólicos. LPH, Lactasa phloridizin hidrolasa; SGLT1, transportador de glucosa dependiente de sodio; MRP2, proteína de resistencia a multi-drogas 2; MRP1, proteína de resistencia a multi-drogas 1; CF, Compuesto fenólico; SULT, sulfotransferasa; COMT, Catecol-O-Metil-Transferasa; UGTA, glucuronosil UDP transferasa (Kanazawa, 2011).

alimentos ricos en FD que más se consumen actualmente, son aquellos derivados de cereales. Sin embargo, estos últimos años la FD proveniente de frutos ha adquirido gran importancia entre los consumidores (Palafox-Carlos *et al.*, 2011; Gong y Yang, 2012; Vitaglione *et al.*, 2008). Los concentrados de FD proveniente de frutos tienen una mejor calidad nutricional que aquellos provenientes de los cereales. Esto es debido a su mayor contenido de compuestos bioactivos y a su composición equilibrada. Esto nos indica un mayor contenido de fibra, soluble/insoluble en relación FD. Además, este tipo de FD tiene mayor contenido de agua y capacidad de retención de grasa, menor valor energético y ácido fólico, que la FD de cereales (Saura y Jarrauri, 1996). Se ha propuesto que la presencia de FD disminuye la absorción de una gran cantidad de compuestos, entre los cuales se encuentran los compuestos fenólicos (**Figura 5**).

Sin embargo, es necesario conocer las características físico-químicas de los componentes de la FD que influyen en el proceso de absorción (Brownlee, 2011). Se conoce poco sobre las interacciones de los compuestos bioactivos de frutos tropicales con otros compuestos de la matriz del alimento. Sin embargo, trabajos recientes, han demostrado que la adición de fibra dietaria puede interactuar con los compuestos fenólicos disminuyendo la capacidad antioxidante del sistema, de manera que estos no puedan entrar en contacto con los radicales libres y estabilizarlos (**Figura 6**). A pesar de ello, se ha observado que la presencia de FD puede reducir su bioaccesibilidad y biodisponibilidad (Rock y Swendseid, 1992). La FD actúa físicamente en el intestino delgado de 3 formas distintas: como polímeros solubles, como macromoléculas insolubles y como redes esponjosas (Eastwood y Morris, 1992). Sin embargo, la FD ha demostrado tener diversos efectos sobre el proceso de digestión de CF. Esto se debe a que existe un atrapamiento físico de CF dentro de conjuntos estructurados de componentes de la FD en la matriz del alimento (Quirós Saucedo, 2012). La viscosidad de los fluidos gástricos generada por componentes de la FD, impide que los movimientos peristálticos favorezcan el acercamiento de CF a las paredes del TGI (Montagne *et al.*, 2003).

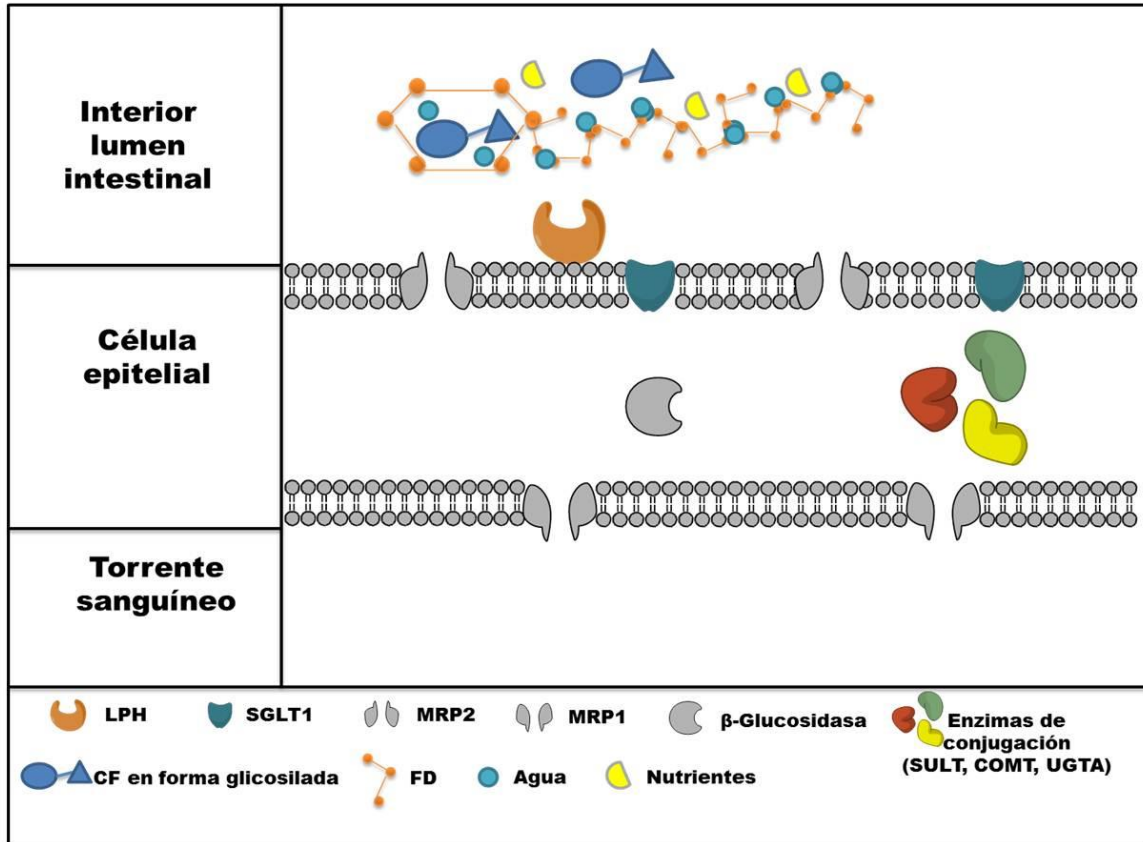


Figura 5.- Efecto de la fibra dietaria en la absorción de nutrientes y compuestos fenólicos. LPH, Lactasa phloridizin hidrolasa; SGLT1, transportador de glucosa dependiente de sodio; MRP2, proteína de resistencia a multi-drogas 2; MRP1, proteína de resistencia a multi-drogas 1; CF, Compuesto fenólico; FD, Fibra Dietaria; SULT, sulfotransferasa; COMT, Catecol-O-Metil-Transferasa; UGTA, glucuronosil UDP transferasa (Palafox-Carlos *et al.*, 2011; Kanazawa, 2011).

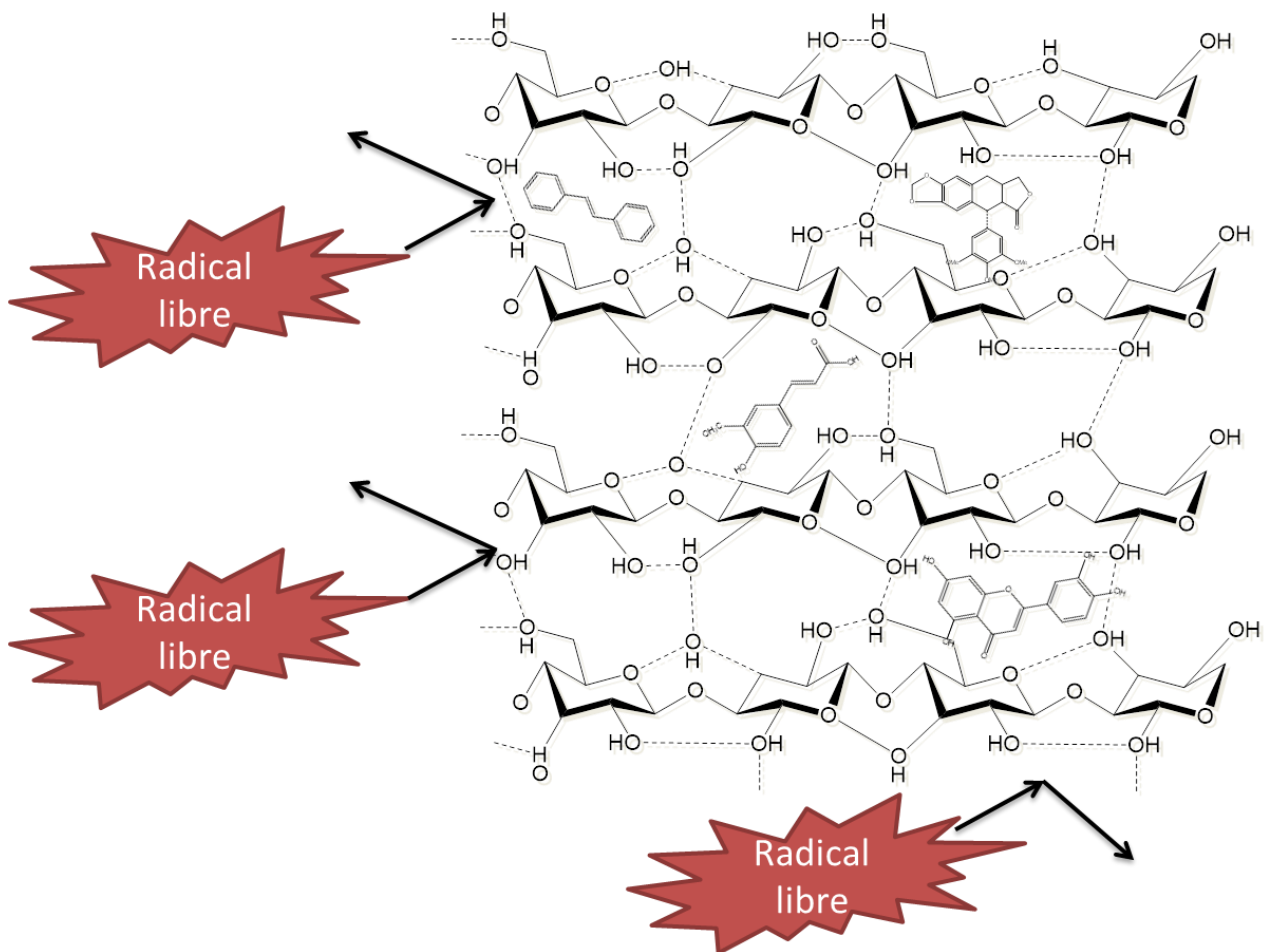


Figura 6.- Modelo propuesto para el mecanismo de acción de la disminución de la capacidad antioxidante de compuestos fenólicos por efecto del atrapamiento por fibra dietaria.

Los CF pueden aparecer como constituyentes importantes de los polisacáridos no digeribles, como la FD presente en frutas y jugos (Bravo *et al.*, 1994) y otras bebidas como la cerveza y el vino (Saura-Calixto y Díaz-Rubio, 2007; Díaz-Rubio y Saura-Calixto, 2009). Los CF asociados a FD soluble pueden presentar diferentes estructuras, incluyendo los flavonoides solubles y ácidos fenólicos. Los principales CF asociados a la FD en el vino son los flavan-3-oles y los ácidos benzoicos (Saura-Calixto y Díaz-Rubio, 2007). En el caso de la cerveza son los flavonoides, y ácidos hidroxicinámicos los que se encuentran vinculados a arabinosilanos (Díaz-Rubio y Saura-Calixto, 2009). Los CF son constituyentes importantes de la FD insoluble, debido a su interacción con proteínas y/o polisacáridos generados en el proceso de maduración de la fruta o el quimo del TGI (Pérez-Jiménez *et al.*, 2009).

Sin embargo, existen algunos frutos con grandes cantidades de compuestos fenólicos asociados a sus fracciones de fibra dietaria soluble e insoluble. Saura-Calixto (1998) propuso que todos aquellos frutos con grandes cantidades de compuestos fenólicos asociados a sus fracciones de fibra dietaria, pueden ser considerados como fuente de Fibra Dietaria Antioxidante (FDA). Para esto, se propusieron 3 características principales: a) El contenido de fibra dietaria en el fruto debe ser mayor al 50% expresado en peso seco; b) Un gramo de FDA debe tener la capacidad de inhibir la oxidación lipídica equivalente a por lo menos 200 mg de vitamina E y una capacidad antioxidante equivalente de al menos 50 mg de vitamina E, y; c) La capacidad antioxidante debe ser una propiedad intrínseca, derivada de los constituyentes naturales del fruto y no por constituyentes liberados por los anteriores tratamientos químicos o enzimáticos.

Efecto de las Enzimas del Tracto Digestivo sobre el Proceso de Absorción

Al igual que para otros no-nutrientes, los CF ingeridos tienen una farmacocinética y metabolismo programado por el nivel y lugar de expresión de ciertas enzimas de los tejidos gastrointestinales. Por ejemplo, la alfa-amilasa (1,4- α -D-

glucanohidrolasa; EC 3.2.1.1) se expresa principalmente en las glándulas salivales y el páncreas. Esta enzima es probablemente responsable de la hidrólisis de una amplia variedad de glicósidos xenobióticos dentro del intestino delgado (Hur *et al.*, 2011). Sin embargo, los elagitaninos libres inhiben la actividad de la α -amilasa (McDougall *et al.*, 2007). Esta inhibición evita la degradación de almidón después de la ingesta de bayas como frambuesas y fresas (McDougall y Stewart, 2005). Este fenómeno explica, en parte, los efectos anti-diabéticos de las bayas. La lactasa phloridizin hidrolasa (lactasa; LPH; EC 3.2.1.108) se encuentra en el borde de las vellosidades epiteliales del intestino delgado y actúa sobre compuestos glicosidados previo a su absorción (Day *et al.*, 2000b). La LPH tiene dos sitios catalíticos: uno para hidrolizar la lactosa (LH) y otro implicado en la deglicosilación de sustratos hidrófobos. La deglicosilación de CF puede ser reducida por la inhibición del sitio LH, ya que la mayor actividad enzimática proviene de este sitio (D'Archivio *et al.*, 2010). La lactasa tiene una gran afinidad por los sustratos hidrofílicos, aunque también acepta una amplia gama de agliconas. Está presente en cantidades importantes sólo en los mamíferos lactantes, siendo los humanos la excepción a esta regla ya que la LPH persiste en niveles elevados en la edad adulta (Day *et al.*, 2000a). Las agliconas liberadas entran en la célula epitelial por difusión pasiva, como resultado del incremento de su carácter lipofílico (D'Archivio *et al.*, 2010).

La enzima catecol-O-metiltransferasa (COMT; EC2.1.1.6), está presente en el hígado y enterocitos del duodeno. Esta enzima realiza la O-metilación de CF en presencia de grupos catecol; como catequinas y procianidinas, en particular en la posición 3' (Weinert *et al.*, 2012). Esta conjugación de los CF es uno de los mecanismos supuestos relacionados con el efecto anti-obesogénico de té verde que implica a esta reacción enzimática (Thavanesan, 2011). Generalmente, la función de esta enzima es eliminar todas aquellos grupos catecol potencialmente tóxicos (Sang *et al.*, 2011). Esto podría afectar a algunos de los compuestos fenólicos que poseen un grupo catecol en su estructura.

La glucuronosil UDP transferasa (UDPGT, UGT, EC 2.4.1.17), que se localiza en el retículo endoplásmico, cataliza la conjugación de los CF a ácidos glucurónicos. La sub familia UGTA1 se expresa en el intestino, el hígado y el riñón (Wu *et al.*). La glucuronidación representa un importante mecanismo de defensa contra los xenobióticos y antioxidantes (Korkina *et al.*, 2009). Esta es una forma de eliminación de CF importante, ya que aumenta su solubilidad en agua y la actividad biológica (Sumbul *et al.*, 2011). Sin embargo, se ha encontrado actividad de la enzima fenol sulfotransferasa (P-PST. SULT, EC 2.8.21), situada principalmente en el hígado. Esta enzima transfiere un residuo de sulfato 3'-fosfoadenosina-5'-fosfosulfato a un grupo hidroxilo de diversos sustratos, incluyendo CF (D Archivio *et al.*, 2007). Aunque la P-PST se encuentra principalmente en el hígado como SULT1A1, hay una gran actividad en los grupos de catecol de CF por la enzima SULT1A3 (Scalbert y Williamson, 2000). Recientemente, se ha demostrado que dosis altas de ácido ascórbico (50 mm) suprimen la sulfoconjugación en células Caco-2, principalmente por una disminución de la regulación de la expresión de los genes SULT1A (Tsuruta *et al.*, 2011). De igual forma, las epigallocatequinas de mosto de uva y té verde, reducen la actividad enzimática en células Caco-2 (Tamura y Matsui, 2000). Ambas evidencias representan el hecho de que la biodisponibilidad de CF reduce significativamente el riesgo de cáncer de colon.

A diferencia de los CF en forma aglicona, los compuestos glicosilados no son absorbidos por difusión pasiva, estos necesitan de transportadores. El transportador de glucosa dependiente de sodio (SGLT1) se encarga de transportar estos compuestos glicosilados al interior de las células epiteliales (Kanazawa, 2011). Dentro de estas células, se encuentra la enzima β -glucosidasa, la cual es capaz de romper el enlace glucosídico del CF liberándolo en su forma aglicona. Los CF en aglicona dentro de las células epiteliales pueden ser conjugadas por las distintas enzimas presentes en el interior de la célula. Sin embargo, como se muestra en la **Figura 7**, muchas de estas conjugaciones se realizan en el hígado,

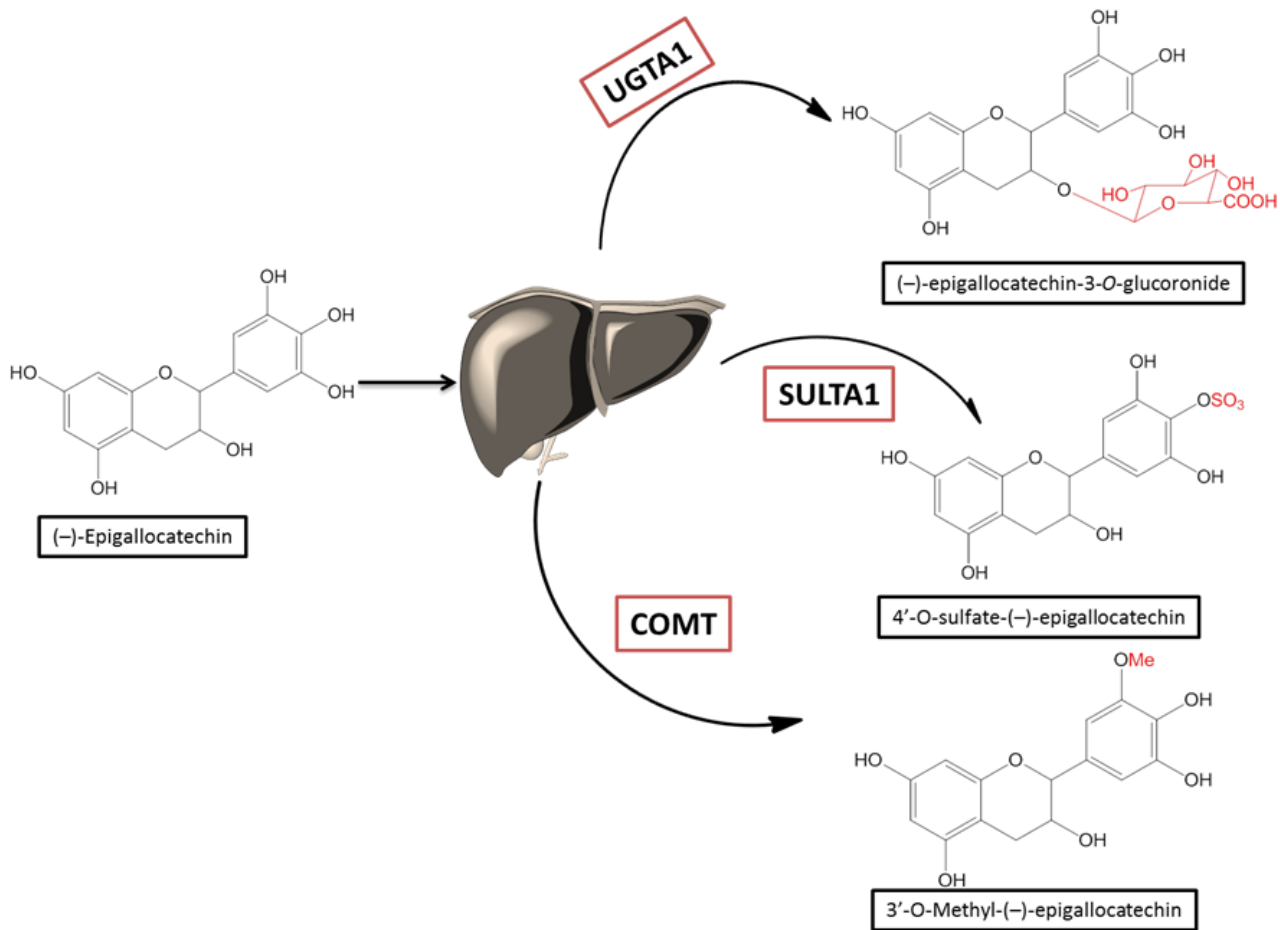


Figura 7.- Conjugaciones hepáticas principales de compuestos fenólicos biodisponibles por las enzimas UDP glucuronosil transferasa (UGTA1), Fenol sulfotransferasa (SULTA1), catecol-O-metiltransferasa (COMT).

el cual es el principal órgano de detoxificación del cuerpo humano (Gao y Hu, 2010). La mayoría de estos compuestos conjugados son transportados de vuelta al interior del lumen intestinal por la proteína de resistencia a multidroga (MRP2) (Manach et al., 2005; Hollman et al., 1997).

Influencia de la Microbiota Intestinal

Mientras muchos de los estudios actualmente se enfocan en la absorción de CF y su asociación con actividades biológicas benéficas para la salud humana, se ha dejado a un lado el hecho de que la mayor parte de los CF ingeridos llegan al colon (Possemiers et al., 2011). Se estima que alrededor del 90-95% de los CF no son absorbidos en el intestino delgado y son acumulados en el colon (Monagas et al., 2010). A pesar de que la población de microbiota intestinal (MI) está presente a lo largo del intestino. La mayor población de MI se encuentra en el colon, variando entre las 10^{10} y 10^{12} UFC/g de muestra intestinal (Isolauri et al., 2004). Se ha propuesto que la MI juega un papel importante en las funciones digestivas normales del hospedero. La MI se encarga de favorecer la maduración del sistema inmune, defender contra patógenos y evitar el riesgo de contraer diversas enfermedades. Entre las enfermedades que se han asociado a la actividad de la población de la MI se encuentran: alergias o asma, enfermedades inflamatorias del intestino, diabetes, cáncer de colon, daños al hígado, entre otras (Gong y Yang, 2012).

Como se mencionó anteriormente, los CF pueden llegar al colon directamente atrapados en el bolo alimenticio junto a otros nutrientes no absorbidos. También se ha observado que pueden ser excretados de vuelta al intestino a través de la bilis como glucurónidos y/o sulfatos. De esta manera, llegan al colon donde β -glucuronidasas y sulfatasas bacterianas, pueden fermentar a los CF, liberándolos en su forma aglicona. Las bacterias presentes en la MI poseen una gran actividad de enzimas de desconjugación. Entre ellas, las β ,D-glucuronidasas, β ,D-glucosidasas y α ,L-ramnosidasas, que liberan agliconas de flavonoides a partir de

sus glucósidos y glucurónidos (Aura *et al.*, 2005). Al ser degradados por actividad del metabolismo microbiano, los CF generan diversos metabolitos secundarios.

En el caso de los flavonoides, la degradación bacteriana sigue un patrón general donde se generan diferentes metabolitos secundarios, como el ácido fenilpropiónico hidroxilado (Possemiers *et al.*, 2011). Fue en 1956 cuando se demostró que la degradación microbiana de los flavonoides consiste en la fisión del anillo heterocíclico C (Booth *et al.*, 1956). Actualmente, diversos estudios han confirmado y completado el mecanismo que sigue su degradación metabólica (R. *et al.*, 2006; Braune *et al.*, 2001; Winter *et al.*, 1989). Debido a que siguen mecanismos de degradación generales, el resultado del metabolismo de los diversos grupos de CF, genera un número pequeño de metabolitos (Possemiers *et al.*, 2011). Sin embargo, se conoce que no todos los CF pueden ser utilizados por la MI para ser aprovechados en su metabolismo (Bravo, 1998). Aunque se está avanzando en la determinación de la bioactividad de metabolitos derivados, la mayoría de los estudios llevados a cabo hasta ahora han fracasado (Monagas *et al.*, 2010). En general, los CF conectados a los polisacáridos no digeribles y demás constituyentes de la matriz del alimento, que dificultan su bioaccesibilidad en el tracto gastrointestinal, con el tiempo llegan al colon. Las enzimas y la microbiota del colon favorecen la liberación de los CF, lo que finalmente incrementa la actividad antioxidante y ejercen beneficios potenciales para la salud del colon.

Efecto de los CF como moduladores del crecimiento

La población bacteriana de la MI puede verse afectada por muchos factores, incluyendo las dietas. La FD ha demostrado tener como beneficio, el ayudar a mantener un intestino saludable, siendo utilizado como sustrato para la fermentación por la MI que es una función importante que llevan a cabo en el intestino grueso. La FD tiene un efecto prebiótico que enriquece de forma selectiva

las bacterias benéficas del intestino (Gong y Yang, 2012). Anteriormente, se mencionó cómo las bacterias endógenas de la MI actúan sobre los CF, produciendo metabolitos secundarios con diferente significancia fisiológica (Rastmanesh, 2011). Sin embargo, se ha demostrado que los CF también pueden influenciar la población en la MI (Parkar *et al.*, 2008). Algunos estudios, como se muestra en el **Cuadro 2**, han demostrado que los metabolitos secundarios tienen un efecto modulador de la MI. Algunos inhiben de manera selectiva el crecimiento de patógenos además de estimular el crecimiento de bacterias comensales, entre ellas algunos probióticos muy conocidos (Lee *et al.*, 2006; Larrosa *et al.*, 2009). El metabolismo de los CF por la microbiota implica la ruptura de enlaces glicosídicos y la ruptura de CF heterociclos (Aura *et al.*, 2005). Los glicanos, producto de la ruptura glicosídica, son necesarios para el establecimiento y la supervivencia de los microorganismos de la MI. Estos compuestos proporcionan propiedades inmunomoduladoras al huésped y son necesarios para la supervivencia de la microbiota como una base de nutrientes (Mahowald *et al.*, 2009). Por lo tanto, existe evidencia que el consumo de CF tiene beneficios potenciales para la salud humana, a través de la modulación de la MI intestinal. Sin embargo, los efectos de la interacción entre los polifenoles y las funciones específicas de la MI permanecen en gran parte sin caracterizar.

Métodos de simulación de las condiciones de digestión humana

Actualmente, la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de compuestos fenólicos, son aspectos importantes que deben ser considerados en la formulación de nuevos productos alimentarios. Por lo tanto, deben realizarse diversos estudios sobre la liberación de los compuestos embebidos en diferentes matrices alimentarias. Para esto se han establecido distintos métodos que simulan las condiciones de digestión del tracto gastrointestinal humano (Hur *et al.*, 2011). Entre los principales métodos para la simulación de digestión y absorción, se encuentran los mecánicos, enzimáticos, celulares y modelos *in vivo* (KONISHI *et al.*, 2002; Van de Wiele *et al.*, 2007; Versantvoort *et al.*, 2005). Dentro de los principales modelos

Cuadro 2.- Efecto de los compuestos fenólicos en la modulación de la microbiota intestinal.

| Compuesto | Efecto en la microbiota | Referencia |
|-----------------------------|---|--|
| Compuestos fenólicos de té* | <ul style="list-style-type: none"> • Inhibe el crecimiento de <i>Clostridium perfringens</i>, <i>Clostridium difficile</i> y Bacteroides de distintos grados. | (Geier <i>et al.</i> , 2007; Lee <i>et al.</i> , 2006) |
| (+)-catequina | <ul style="list-style-type: none"> • Incrementa la población del grupo <i>Clostridium coccooides-eubacterium rectale</i> y <i>E.coli</i>. • Inhibe la población de <i>Clostridium rectale</i> | (Lee <i>et al.</i> , 2006) |
| Resveratrol | <ul style="list-style-type: none"> • Estimula el crecimiento de <i>Bifidobacterium</i> y <i>Lactobacillus</i> • Suprime la expresión de factores de virulencia de <i>Proteus mirabilis</i> | (Larrosa <i>et al.</i> , 2009; Wang <i>et al.</i> , 2006) |
| Antocianinas | <ul style="list-style-type: none"> • Inhibe el crecimiento de <i>Staphylococcus spp.</i>, <i>Salmonella spp.</i>, <i>Helicobacter pylori</i> y <i>Bacillus cereus</i>. | (Puupponen-Pimiä <i>et al.</i> , 2005; Nohynek <i>et al.</i> , 2006) |
| Naringenina y Floridzina | <ul style="list-style-type: none"> • Inhiben la adhesión de <i>Salmonella typhimurium</i> | (Parkar <i>et al.</i> , 2008) |

Compuestos fenólicos de té*: epicatequina, catequina, 3-O-metil ácido gálico, ácido gálico y ácido cafeico

mecánicos de simulación, el principal representante es el modelo TIM1. Este es un sistema dinámico y multicompartimental que simula las condiciones químicas (temperatura, curvas de pH y concentración de electrolitos), enzimáticas (pepsina y lipasa en el estómago, y jugo pancreático en el intestino delgado), la cinética del paso del quimo a través del estómago y el intestino delgado, así como la absorción de las moléculas de bajo peso molecular y del agua (Chen, 2006). Sin embargo, el equipo de simulación y su mantenimiento son costosos, por lo que muchos de los trabajos sobre la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de compuestos toman en consideración otro tipo de modelos de simulación (Coles *et al.*, 2005). Por otro lado, como alternativa a este tipo de modelos, se ha propuesto la utilización de ratas en modelos *in vivo*, comúnmente líneas sprague-dawley, para estudios de biodisponibilidad de compuestos fenólicos y acumulación en tejidos (Olivé y Casado, 2013; Chen *et al.*, 1997). Sin embargo, en diversos estudios de biodisponibilidad de compuestos fenólicos se han utilizado como modelo seres humanos, donde estos son sometidos a una dieta rica en compuestos fenólicos para ser identificados posteriormente en plasma (Robles-Sánchez *et al.*, 2011; Zhang y Zuo, 2004; Franke *et al.*, 1998). Sin embargo, los modelos *in vivo* tienen como desventaja la complejidad en el manejo de los sujetos de estudio y la dificultad para analizar tejidos específicos.

Las dificultades en los modelos de digestión descritos anteriormente, hacen que el uso de las enzimas digestivas sea una de las formas más prácticas de simular las diferentes condiciones del tracto gastrointestinal (Hur *et al.*, 2011). La mayoría de estos modelos de digestión, se basan en el uso de las enzimas mayoritarias, representativas de cada etapa de digestión, entre las que destacan α -amilasa (saliva), pepsina (estómago) y el complejo enzimático pancreatina (intestino)(Van de Wiele *et al.*, 2007). Adicionalmente algunas de estos modelos son complementados utilizando membranas de diálisis, con la finalidad de simular la biodisponibilidad ó absorción pasiva de los compuestos de interés (Bouayed *et al.*, 2011a; Cilla *et al.*, 2008). Por otro lado, este tipo de modelos de digestión se han utilizado con algunas modificaciones según el objetivo de estudio. Por ejemplo,

Saura-Calixto *et al.* (2000) propusieron un modelo de digestión *in vitro* que simula las condiciones gástricas e intestinales, incluyendo una última etapa en la que se prolonga el tiempo de exposición a la enzima α -amilasa pancreática. Esta última enzima, es utilizada con la finalidad de provocar la hidrólisis de todos aquellos carbohidratos amiláceos presentes en la matriz alimentaria, resultando en la obtención de fracciones indigestibles del alimento estudiado. Esta técnica ha sido propuesta como una alternativa a la determinación de fibra dietaria por el método de la AOAC (Saura-Calixto *et al.*, 2000; Prosky *et al.*, 1988). Esto es, debido a que la metodología descrita por la AOAC, se basa solo en la determinación de las fracciones comúnmente definidas como fibra dietaria, sin considerar a otros compuestos resistentes a las condiciones del TGI, como complejos proteicos y algunos oligosacáridos que no forman parte de las definiciones tradicionales de fibra dietaria (Bravo y Saura-Calixto, 1998; Cummings y Macfarlane, 1991).

En este contexto, la técnica de fracción indigestible presenta diversas ventajas sobre los otros modelos de digestión en los estudios de bioaccesibilidad y biodisponibilidad de compuestos fenólicos. Esto debido a que permite estudiar la liberación en condiciones fisiológicas, considerando constituyentes de la matriz alimentaria resistentes a las condiciones químico-enzimáticas del TGI (Goñi *et al.*, 2009). Así mismo, esta metodología trata de provocar la mayor liberación posible de la fracción digestible en la matriz alimentaria. De esta manera, se obtiene así una fracción indigestible donde se encuentra la fibra dietaria y demás constituyentes de la matriz alimentaria resistentes a las condiciones fisiológicas simuladas en el modelo (Saura-Calixto *et al.*, 2000). En base a esta información, aún existe mucho por investigar respecto a los efectos de la fibra dietaria presente en la matriz de los alimentos de origen vegetal, sobre la liberación de sus compuestos bioactivos. Hasta el momento, no se han encontrado en literatura, investigaciones en las cuales se evaluó el efecto de la fibra dietaria en la liberación y la capacidad antioxidante en los frutos tropicales mango, papaya y piña, durante las diferentes condiciones químico-enzimáticas en un modelo de digestión *in vitro*.

HIPÓTESIS

Las diferentes condiciones del tracto gastrointestinal (*in vitro*) provocan una liberación gradual de los compuestos fenólicos embebidos en la fibra dietaria de mango, papaya y piña, incrementando la capacidad antioxidante en el sistema.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el efecto de la fibra dietaria de los frutos de mango, papaya y piña, sobre la capacidad antioxidante de compuestos fenólicos en un modelo de digestión *in vitro*.

Objetivos Específicos

- Caracterizar el contenido de compuestos fenólicos de los frutos de mango, papaya y piña.
- Caracterizar el contenido de fibra y compuestos fenólicos asociados a la fibra dietaria.
- Evaluar el efecto de las condiciones químicas simuladas del tracto gastrointestinal, sobre la liberación de compuestos fenólicos embebidos en la fibra dietaria de cada fruto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia Prima

Se utilizaron frutos de mango cv. *Ataulfo*, papaya cv. *Maradol* y piña cv. *Esmeralda* en su estado de madurez comercial. Estos frutos se escogieron en base a sus diferentes contenidos fibra dietaria, por lo que se trabajó con niveles bajo (mango), intermedio (papaya) y altos (piña) de fibra dietaria. Estos fueron seleccionados en base a los contenidos de fibra determinados en trabajos previos realizados en el Laboratorio de Antioxidantes y Alimentos Funcionales, del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Los frutos fueron liofilizados y almacenados a -30 °C hasta su análisis. Los análisis sobre contenido de fibra dietaria y el proceso de digestión *in vitro*, fueron realizados en el Laboratorio de Fisiología y Bioquímica de Alimentos en el Instituto Tecnológico de Tepic (ITTEPIC). En la **Figura 8**, se muestra el diagrama de flujo del experimento.

Caracterización de Compuestos y Capacidad Antioxidante

Extracción de Compuestos Fenólicos

Compuestos fenólicos extraíbles.- Para la extracción de los compuestos fenólicos se siguió la metodología propuesta por Saura-Calixto y Goñi (2006). Esta técnica se basa en la afinidad por solventes acuoso-orgánicos para extraer compuestos fenólicos embebidos en la matriz de tejidos vegetales. En la extracción con este tipo de solventes, se prepara una solución metanólica acidificada y una solución

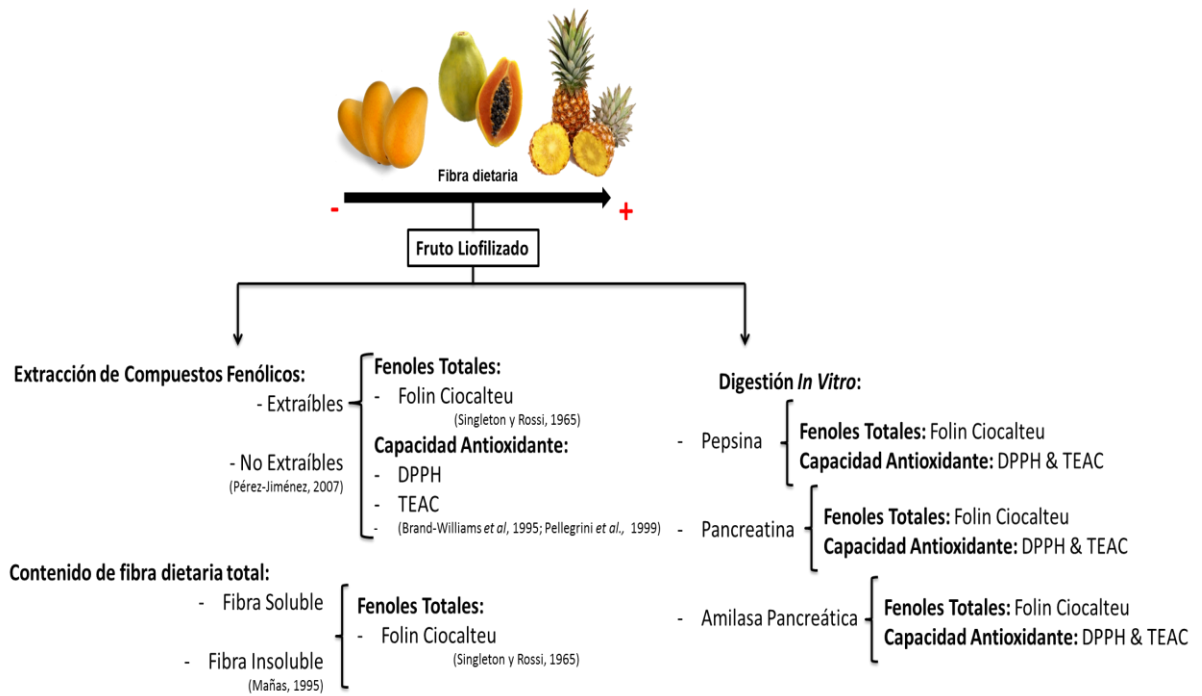


Figura 8.- Diagrama de flujo del experimento, la selección de los frutos de estudio y análisis realizados.

acetona-agua (70:30 v/v). La extracción parte de 0.5 g de muestra liofilizada pulverizada, a la cual se le añaden 20 mL de la solución metanólica-acidificada y se someten a una agitación enérgica constante a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de la agitación la muestra se centrifuga a 3000 rpm durante 10 min a 4°C, separando así el sobrenadante del precipitado y se colocan en matraces de 50 mL de capacidad. Utilizando el residuo precipitado, se añaden 20 mL de la solución acetona-agua bajo las mismas condiciones.

Posteriormente, es centrifugado nuevamente, recuperando el sobrenadante en matraces de 50 mL utilizados para cada muestra. La muestra se afora a 50 mL mezclando ambas soluciones, la metanólica-acidificada y acetona-agua (50:50 v/v). El residuo obtenido al separar el sobrenadante es conservado en refrigeración para su posterior determinación de compuestos *fenólicos no extraíbles*.

Compuestos fenólicos no extraíbles

Este grupo de compuestos fenólicos está conformado por polímeros de estos compuestos conocidos como taninos, entre los cuales destacan los taninos hidrolizables y condensados. Para la extracción de este tipo de compuestos fenólicos no extraíbles se realizaron dos tipos de extracción diferente, según los compuestos fenólicos de interés. De esta manera, se realizó la extracción de taninos hidrolizables y condensados para la completa caracterización de los frutos de estudio.

Taninos Hidrolizables.- Se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Hartzfeld *et al.* (2002). Esta técnica parte de la hidrólisis de los residuos obtenidos en la extracción de compuestos fenólicos extraíbles con solventes orgánicos realizada previamente. A estos residuos, se les añaden 20 mL de metanol y 2 mL de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄) en tubos de teflón de 50 mL. Estos residuos son incubados en agitación a temperatura de 85°C por 20 horas. Posteriormente, el producto de la incubación es centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos, recuperando el sobrenadante colocándolo en matraces de

50 mL. El residuo es lavado 2 veces con 10 mL de agua destilada y centrifugado en las mismas condiciones, recuperando el sobrenadante en los matraces de 50 mL aforando con agua destilada. Para su cuantificación se utiliza el método de fenoles totales con una curva de calibración de ácido gálico de acuerdo al método descrito por Singleton y Rossi (1965).

Taninos Condensados.- Esta metodología parte de los residuos obtenidos en la extracción por solventes acuoso-orgánicos descrita anteriormente. Esta se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Reed *et al.* (1982). Estos residuos, son dispersados con ayuda de una varilla de vidrio y se les añade 10 mL de una solución de Butanol/HCl/FeCl₃, manteniéndose en baño a 100°C durante 3 horas. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, se centrifugan a 3000 rpm durante 10 minutos, recuperando los sobrenadantes en matraces de 25 mL. El residuo obtenido es lavado 2 veces con la solución de butanol/HCl/FeCl₃ y se centrifugan bajo las mismas condiciones, aforándose a un volumen final de 25 mL con la solución de Butanol/HCl/FeCl₃. Para su cuantificación se lee la absorbancia de los extractos a 555 nm utilizando una curva de calibración de taninos de algarroba, de acuerdo al método descrito previamente por Reed *et al.* (1982).

Fenoles totales

Se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Singleton y Rossi (1965) con algunas modificaciones. Esta metodología se basa en la reducción del reactivo Folin-Ciocalteu (solución de ácido fosfomolibdico y ácido fosfowolfrámico) en presencia de un agente reductor, en este caso los compuestos fenólicos, en medio alcalino formando un complejo de molibdeno – tungsteno de color azul. Esta reacción se lleva a cabo mezclando 30 µL de muestra a la que se añaden 150 µL de Folin y 120 µL de carbonato de sodio al 7.5%. Las mediciones se realizaron en un lector de microplaca Synergy HT

(Biotek ®, USA) a una longitud de onda de 765 nm, reportando los resultados como mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/100g de peso fresco.

DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidracil)

La capacidad antioxidante de las muestras para inactivar al radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidracil) fue calculada de acuerdo al método descrito por Brand-Williams, Cuvelier y Berset (1995). La reducción del radical se determinó a 518 nm en un lector de microplaca Synergy HT (Biotek ®, USA). Para esta reacción se utilizaron placas Costar96 de 300 μ L, donde se incubaron 20 μ L de muestra, en reacción con 280 μ L de radical DPPH previamente ajustado a una absorbancia de 0.7 ± 0.02 , durante 30 min en oscuridad. Para conocer su porcentaje de inhibición, se tomó en cuenta la absorbancia inicial del radical DPPH y la absorbancia final transcurrido el tiempo de incubación, expresándose como % de inhibición de radical DPPH. Los valores generados serán reportados como μ moles de equivalentes trolox (ET)/100g de peso fresco.

TEAC

La técnica de TEAC se determinó de acuerdo a la técnica seguida por Pellegrini *et al.* (1999). Esta técnica se basa en los valores de absorbancia obtenidos por la decoloración del radical ABTS (2-2'-azinobis-3- etilbenzotiazolina-6-sulfónico) al reaccionar con compuestos antioxidantes. La reducción del radical se determinó a 762 nm en un lector de microplaca Synergy HT (Biotek ®, USA). Para esta reacción se utilizaron placas Costar96 de 300 μ L, donde se incubaron 5 μ L de muestra, en reacción con 245 μ L de radical DPPH previamente ajustado a una absorbancia de 0.7 ± 0.02 , durante 5 min en oscuridad. Para conocer su porcentaje de inhibición, se toma en cuenta la absorbancia inicial del radical ABTS y la absorbancia final transcurrido el tiempo de incubación, expresándose como % de inhibición de radical ABTS. Los valores generados son reportados como μ moles de equivalentes trolox (ET)/100g de peso fresco.

Contenido de Fibra dietaria

Para la caracterización de la fibra dietaria presente en los frutos, se siguió la metodología propuesta por Mañas y Saura-Calixto (1995). Esta es una técnica gravimétrica que se basa en la hidrólisis de todos aquellos carbohidratos amiláceos presentes en la matriz alimentaria. Para esto, se emplearon diferentes enzimas capaces de hidrolizar la matriz alimentaria de los frutos a diferentes condiciones de pH y temperatura. Se utilizaron 0.5 g de muestra liofilizada en tubos de centrifuga de 50 mL de capacidad previamente tarados. A cada tubo, se les añaden 25 mL de solución amortiguadora de fosfatos, homogenizándose en agitación por vortex. El pH de cada muestra se ajustó a 6. Una vez ajustado el pH, se atemperan las muestras a 100°C durante 5 minutos previo a la adición de 25 µL de la enzima α -amilasa termoestable, incubándose nuevamente a 100°C por 35 minutos. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, la muestra se enfría a temperatura ambiente y se ajusta a un pH de 7.5 para la adición de 50 µL de solución de proteasa tipo VIII de *Bacillus licheniformis* y se incuba en baño a 60°C por 35 minutos

Para seguir su hidrolisis enzimática, se necesitó la adición de 150 µL de la enzima Amiloglucosidasa, a la muestra con un ajuste previo de pH a 4.5, incubándose a 60°C por 35 minutos. El resultado de esta hidrólisis enzimática fue centrifugado a 3000 rpm durante 15 minutos a una temperatura de 4°C. El sobrenadante fue recuperado en matraces aforados de 100mL, mientras que el residuo fue lavado con agua destilada y centrifugado 2 veces más bajo las mismas condiciones. Los sobrenadantes obtenidos, como se muestra en la **Figura 9**, se colocan en membranas de diálisis de celulosa con punto de corte para peso molecular entre 12000 y 14000 Da (Dialysis Tubing Visking 9-32/36mm, Medicell International Ltd) en flujo de agua continuo a temperatura ambiente durante 48 horas. Transcurrido el tiempo de diálisis, el contenido de las membranas fue transferido a matraces aforados para analizar el contenido de fibra soluble.

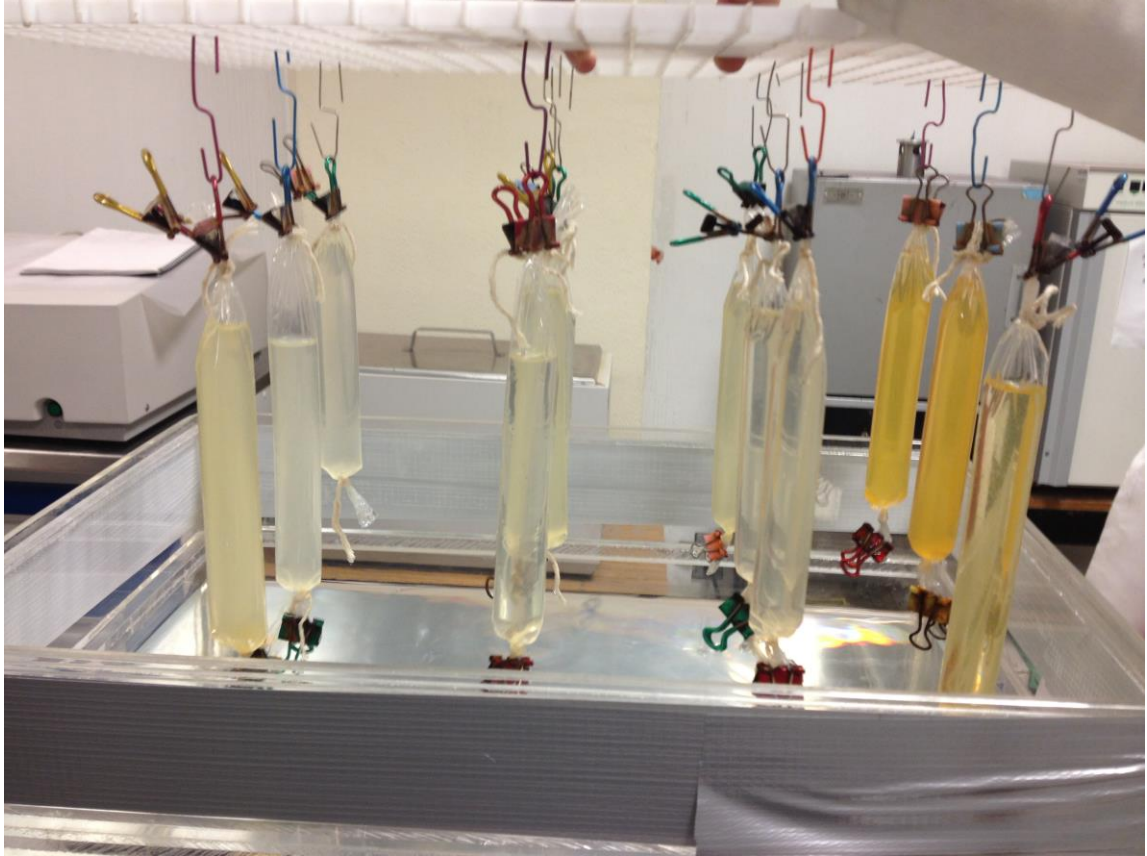


Figura 9.- Proceso de diálisis de los productos de hidrólisis enzimática con Amilogucosidasa para la determinación de la fracción soluble fibra dietaria.

Por otro lado, los residuos que se obtuvieron en la centrifugación posterior a la incubación con la enzima Amiloglucosidasa, son cuantificados como fibra insoluble. Estos fueron lavados con 10 mL de etanol al 96% y 10 mL de acetona, centrifugándose durante 15 min a 3000 rpm, eliminando los sobrenadantes obtenidos y secando a temperatura ambiente los residuos. Estos, fueron hidrolizados a 37°C durante 1 hora con ácido sulfúrico (H₂SO₄) 12M. Transcurrido este tiempo, se adicionaron 33 mL de agua destilada a las muestra y fueron incubadas a 100°C por 90 minutos. Finalmente el producto de esta hidrólisis es centrifugado a 3000 rpm durante 15 minutos, recuperando el sobrenadante en matraces aforados de 100 mL. El residuo es lavado 3 veces más con agua destilada y centrifugado bajo las mismas condiciones. El sobrenadante representa a la fibra insoluble, y su cuantificación se lleva a cabo por la técnica de carbohidratos totales con el reactivo DNS a 530 nm, utilizando una curva estándar de glucosa, mientras que los residuos de la centrifugación se utilizaron para la cuantificación de Lignina Klason. En ambas fracciones se analizó el contenido de compuestos fenólicos.

Efecto de las condiciones químicas simuladas del tracto gastrointestinal

Método de digestión *in vitro*

Para la simulación de las condiciones del tracto gastrointestinal, se siguió por triplicado la metodología de fracción indigestible propuesta por Saura-Calixto et al. (2000). Tal como se muestra en la Figura 10, esta metodología se basa en la simulación de las condiciones químico-enzimáticas del tracto gastrointestinal. Esta metodología divide el proceso de digestión en 3 diferentes etapas: Gástrica, Intestinal, Carbohidratos amiláceos. En estas etapas se somete a la muestra a diferentes condiciones con la finalidad de liberar todos aquellos compuestos unidos a la matriz alimentaria y carbohidratos amiláceos. En este contexto, el modelo de digestión no se llevó a cabo en un proceso continuo, sino que se realizó cada etapa por separado para su mejor análisis e interpretación de los resultados. Para esto, se tomaron 0.3 g de muestra seca de cada fruto en tubos de centrifuga de 50 mL de capacidad.

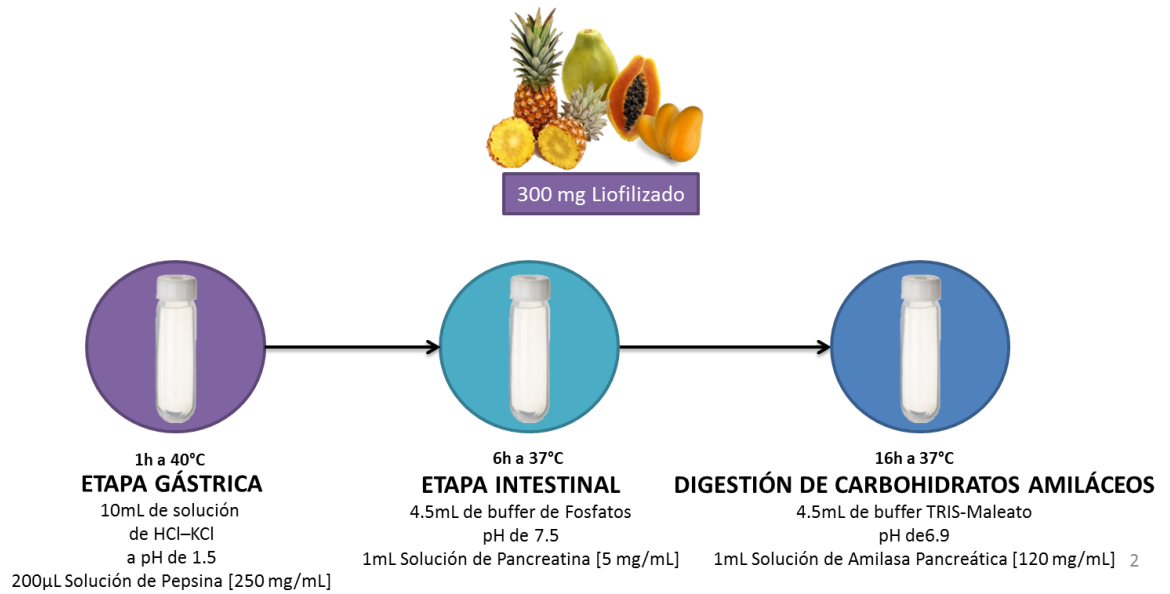


Figura 10.- Condiciones químico-enzimáticas de las diferentes etapas de digestión simuladas en el modelo *in vitro* basado en la metodología de fracción indigestible propuesta por Mañas y Saura-Calixto.

Para la simulación de la etapa gástrica, se añadieron 10 mL de una solución amortiguadora de HCl-KCl, homogenizándose mediante su agitación en vortex. Se ajustó el pH a 1.5 previo a la adición de 0.2 mL de la solución de pepsina [300 mg/mL], para su incubación por 1 hora a 40°C. Una vez incubada la muestra con pepsina, concluye una la etapa gástrica tomándose muestra para sus análisis posteriores. Sin embargo, para simular la etapa intestinal, se sometió a la muestra a las condiciones anteriores y se añadieron 4.5 mL de solución amortiguadora de fosfatos, ajustando el pH a 7.5. Una vez ajustado el pH, se añadió 1 mL de solución de pancreatina incubándose por 6 horas a 37°C. Después de su incubación se tomó muestra representativa de esta etapa para sus análisis posteriores. Asimismo, sometiendo a la muestra a las condiciones de las 2 etapas anteriores, para continuar con la etapa de digestión de carbohidratos amiláceos. Para la simulación de esta etapa se añadió la enzima alfa-amilasa pancreática para hidrolizar todos aquellos carbohidratos amiláceos que pudiesen haber resistido las condiciones anteriores añadiéndose 9 mL de una solución amortiguadora de tris-maleato, ajustándose el pH a 6.9. Seguido a esto, se añadió 1 mL de solución de alfa-amilasa pancreática para su incubación a 37°C durante 16 horas. Una vez transcurridas las 16 horas de incubación, se tomó muestra de esta etapa para su análisis posterior. Todas las muestras recolectadas fueron almacenadas a -20°C hasta el momento de su análisis.

Análisis de los Datos

Para el análisis de resultados se utilizó un diseño experimental completamente al azar (factores=condiciones químico-enzimáticas) expresando los resultados como la media \pm desviación estándar. Para comparar entre el contenido de CF y CAOX de los 3 frutos, se realizó un ANOVA y una prueba de Tukey al 95% de confianza en el paquete estadístico NCSS 2007. Se realizó un análisis de regresión lineal entre el contenido de CF y CAOX de los frutos.

RESULTADOS Y DISCUSION

Caracterización de compuestos y capacidad antioxidante

El **Cuadro 3** muestra el contenido de compuestos fenólicos, el cual fue diferente para cada uno de los frutos estudiados. El contenido total de compuestos fenólicos se cuantificó mediante la obtención de todos aquellos compuestos fenólicos extraíbles y no extraíbles, como es el caso de los taninos hidrolizables y condensados (**Cuadro 4**). Sin embargo, en este trabajo sólo se utilizó pulpa de los frutos, y de acuerdo a los resultados encontrados no se detectó la presencia de taninos condensados. Esto concuerda con lo reportado por King y Young (1999), quienes reportan que los taninos condensados se encuentran principalmente en las capas externas de los frutos y en muy bajas concentraciones en la pulpa del fruto. Por otro lado, la pulpa de Mango cv. *Ataulfo* mostró el mayor contenido de compuestos fenólicos totales, obteniéndose tan solo en la fracción extraíble valores de hasta 144.34 ± 0.79 mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/100 g de peso fresco (gpf). Estos valores concuerdan con lo reportado por Palafox-Carlos *et al.* (2012b) en mango cv *Ataulfo* para su estado 3 de madurez. Asimismo, Palafox-Carlos *et al.* (2012a), reportaron que los compuestos fenólicos mayoritarios en pulpa de mango cv. *Ataulfo* durante las 4 etapas de madurez del fruto son el ácido gálico y clorogénico, seguidos de vanílico y protocateico,

En cuanto a la capacidad antioxidante que ejercen los compuestos fenólicos extraíbles en mango, se obtuvieron valores de 195.63 ± 20.03 mg ET/100gpf para

Cuadro 3.- Caracterización de compuestos fenólicos extraíbles y su capacidad antioxidante.

| Fruto | Fenoles extraíbles (mg EAG/100gpf) | DPPH (mg ET/100gpf) | TEAC (mg ET/100gpf) |
|--------|---------------------------------------|------------------------|------------------------|
| Mango | 144.34 ± 1.37a | 195.63 ± 20.03a | 192.53 ± 3.13a |
| Papaya | 93.18 ± 8.66b | 140.98 ± 7.55b | 137.86 ± 0.53b |
| Piña | 56.83 ± 0.60c | 40.29 ± 5.80c | 62.87 ± 1.29c |

Los datos son medias de al menos tres determinaciones (n=3) ± la desviación estándar. Letras diferentes dentro de una misma columna indican que existen diferencias significativas ($p \leq 0.05$). El contenido de fenoles totales indica la suma de los totales extraíbles y taninos hidrolizables.

Cuadro 4.- Contenido de compuestos fenólicos totales (mg EAG/100gpf).

| Fruto | Fenoles extraíbles* | Taninos Hidrolizables* | Taninos Condensados | Fenoles Totales |
|--------|---------------------|------------------------|---------------------|-----------------|
| Mango | 144.34 ± 1.37a | 129.95 ± 8.41a | Nd | 274.30 ± 9.32a |
| Papaya | 93.18 ± 8.66b | 118.98 ± 3.92a | Nd | 212.17 ± 2.40b |
| Piña | 56.83 ± 0.60c | 50.79 ± 0.65b | Nd | 107.63 ± 1.01c |

Los datos son medias de al menos tres determinaciones (n=3) ±la desviación estándar. Letras diferentes dentro de una misma columna indican que existen diferencias significativas ($p \leq 0.05$). Nd= No detectados. El contenido de fenoles totales indica la suma de los totales extraíbles y taninos hidrolizables. Los valores se expresan como mg Equivalentes de Acido Gálico/100g peso fresco.

DPPH y 192.53 ± 3.13 mg ET/100gpf para TEAC. Estos valores son similares a los reportados por Palafox-Carlos et al. (2012b), quienes reportan un rango de 200 a 300 mg ET/100gpf para DPPH, obteniéndose el mayor contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante en el estado de madurez 3. Por lo tanto, de acuerdo a lo reportado por Palafox-Carlos et al. (2012a), la mayor contribución antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en las muestras de mango cv *Ataulfo* del presente estudio, es aportada por ácido gálico.

Por otro lado, este fruto también presentó los niveles más altos de taninos hidrolizables en comparación con los frutos de papaya y piña. Los taninos hidrolizables, están conformados por polímeros de ácidos fenólicos, los cuales forman complejos más grandes con la matriz del alimento dificultando así su extracción por los métodos convencionales. Los extractos de taninos hidrolizables en pulpa de mango, presentaron altos contenidos de estos compuestos, obteniéndose valores de hasta 129.95 ± 8.41 mg EAG/100gpf. Esta información concuerda con lo reportado por Sáyago-Ayerdi et al. (2013), quienes indican que el mango cv. *Ataulfo* es una fuente rica de taninos hidrolizables, especialmente gallotaninos. Al ser este tipo de compuestos hidrolizados en su extracción, son cuantificados como equivalentes de ácido gálico, según se describe en la metodología propuesta por Hartzfeld et al. (2002). Por lo tanto, el contenido total de equivalentes de ácido gálico en mango cv. *Ataulfo* es de 274.30 ± 5.38 EAG/100 gpf. No obstante, se ha reportado en pulpa de otros frutos, la presencia de taninos hidrolizables, como en el caso del fruto de açai, en el que se reportan valores de 227.37 ± 25.74 mg/100gpf , por lo que este fruto es considerado como una fuente importante de taninos hidrolizables (Rufino et al., 2011a). Estos valores reportados en pulpa de açai, son superiores a los encontrados en pulpa de mango cv *Ataulfo*, sin embargo, el fruto de mango puede ser considerado como fuente importante de taninos hidrolizables, destacando entre los valores con los frutos tropicales de este estudio y algunas otras frutas como durazno (52.8 ± 2.9 mg/100gpf) y manzana (80.3 ± 9.4 mg/100gpf) (Arranz et al., 2009)

En el presente estudio, seguido al mango se encuentra el fruto de papaya cv. *Maradol* con 212.17 ± 1.39 EAG/100gpf, de los cuales 93.18 ± 5 EAG/100gpf en contenido de fenoles extraíbles. Estos resultados, son mayores a los obtenidos por Corral-Aguayo *et al.* (2008), quienes reportan valores de 53.8 mg EAG/100gpf en extractos acetónicos. Asimismo, los fenoles extraíbles en papaya mostraron valores de capacidad antioxidante de 140.98 ± 7.55 y 137.86 ± 0.53 mg ET/100gpf para DPPH y TEAC, respectivamente. Estos valores, superan a los obtenidos por Fu *et al.* (2011), quienes reportan valores de TEAC correspondientes a 73.08 mg ET/100gpf, para el fruto de papaya. Estas diferencias en los valores encontrados en el presente estudio y lo reportado en la bibliografía, puede deberse a las diferencias como la variedad y/o región de cultivo, así como los métodos de extracción utilizados (Gonzalez-Aguilar *et al.*, 2010). Por otro lado, en la cuantificación de taninos hidrolizables, se obtuvieron valores ligeramente mayores a los extraíbles, observándose cantidades de 118.98 ± 3.92 EAG/100gpf en sus compuestos fenólicos no extraíbles. Estos valores hacen de estos frutos tropicales como una buena fuente de taninos hidrolizables. Sin embargo, pocos trabajos se han enfocado en la cuantificación de este tipo de compuestos en pulpa de frutos tropicales. No obstante, diversos trabajos se han enfocado en la identificación y cuantificación de estos compuestos en la cáscara de frutos como la granada (Saad *et al.*, 2012; Fischer *et al.*, 2011; Seeram *et al.*, 2005). De igual forma, Seeram *et al.* (2005) estudiaron el contenido en cáscara de diferentes variedades de granada, encontrando valores de taninos hidrolizables que varían entre 470.7-504.8mg EAG/g peso seco(gps).

Por otro lado, trabajos recientes han confirmado que el fruto de papaya es una fuente rica en este tipo de compuestos fenólicos señalando que su consumo puede resultar favorable debido a sus propiedades antioxidantes (Annegowda *et al.*, 2013; Gayosso-García Sancho *et al.*, 2011). Por último, los frutos de piña cv *Esmeralda*, presentaron los valores más bajos de compuestos fenólicos en

comparación a los otros frutos, observándose valores de 56.83 ± 0.60 mg EAG/100gpf para la fracción de fenoles extraíbles. Estos valores, son similares a los obtenidos en el trabajo realizado por Rosas-Domínguez (2011), donde observaron que el fruto de piña cv. *Esmeralda* presentaba un contenido de 64 mg EAG/100gpf en su estado de madurez 3. De igual manera, la capacidad antioxidante que presentaron estos extractos, mostraron un porcentaje de inhibición del radical DPPH de 21.10% (140.98 ± 7.55 mg ET/100gpf), los cuales coinciden con el rango de porcentaje de inhibición (20.27-38.98%) reportado por Rosas-Domínguez (2011) para el mismo fruto. Asimismo, se observó que el fruto de piña, tiene valores similares de equivalentes de ácido gálico en su contenido de taninos hidrolizables obteniéndose 50.79 ± 0.65 mg EAG/100gpf. Por lo tanto, el contenido total de mg equivalentes de ácido gálico en el fruto de piña fue de 107.63 ± 1.01 mg EAG/100gpf. Estos valores son similares a los obtenidos por Arranz *et al.* (2009) en frutos de durazno, los cuales presentaron valores de taninos hidrolizables de 52.8 ± 2.9 mg/100gpf. Sin embargo, aun cuando estos 2 frutos poseen cantidades comparables de taninos, la bioaccesibilidad y biodisponibilidad en este fruto, así como su propiedades biológicas, pueden variar al encontrarse embebidos en matrices alimentarias diferentes.

Adicionalmente, en la **Figura 11** se muestran las gráficas de correlación entre el contenido de compuestos fenólicos extraíbles de los frutos de estudio y su capacidad antioxidante por los métodos de DPPH y TEAC. Estas gráficas nos indican que existe una relación directa entre el contenido de compuestos fenólicos y el aumento en la capacidad antioxidante, observándose que el fruto con menor contenido de compuestos fenólicos extraíbles, fue el mismo que presentó una menor capacidad antioxidante, mientras que el fruto con mayor contenido de fenoles extraíbles que presentó mayor capacidad antioxidante por ambos métodos. Los coeficientes de correlación encontrados para capacidad antioxidante medida por el método DPPH y TEAC, y fenoles totales fue de 0.9714 y 0.9805, respectivamente. Lo cual coincide con la literatura en general.

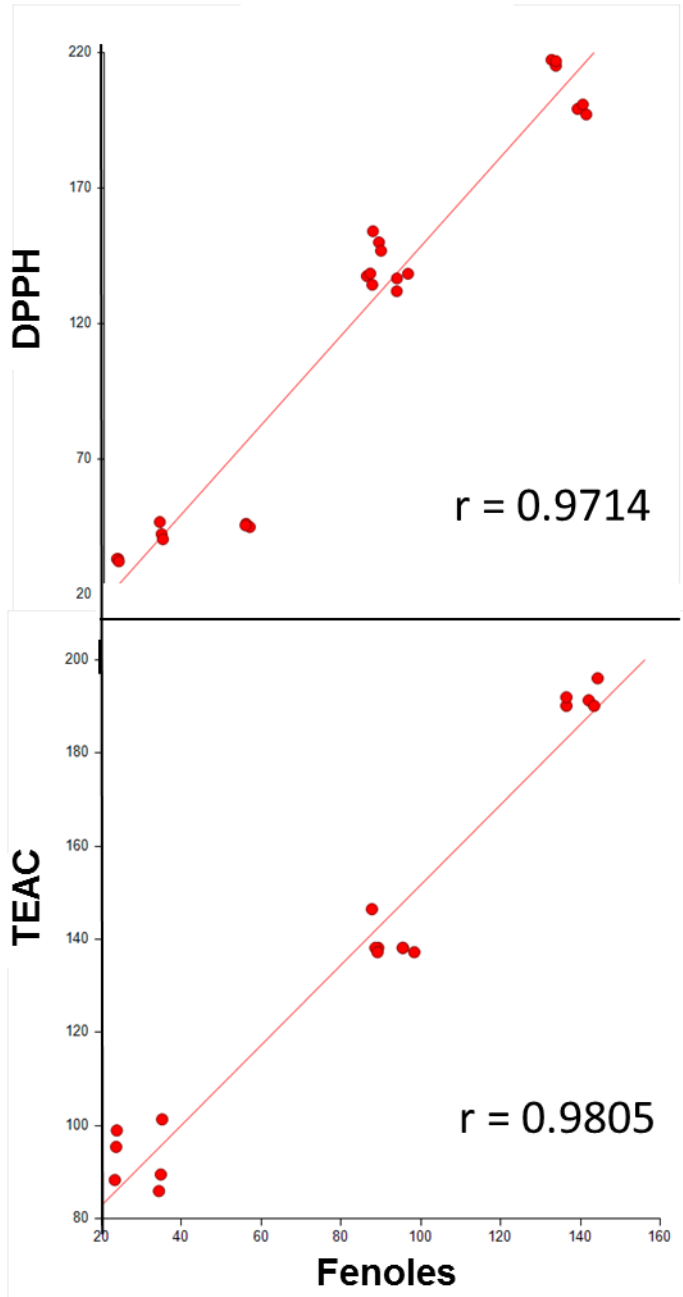


Figura 11.- Graficas de regresión lineal y correlación (r) entre el contenido de fenoles extraíbles de los frutos y su capacidad antioxidante por los métodos de DPPH y TEAC ($p < 0.05$).

Contenido de fibra dietaria y compuestos fenólicos asociados

El **Cuadro 5** muestra los valores obtenidos en cuanto al contenido de Fibra dietaria total (FDT), fibra dietaria soluble (FDS) y fibra dietaria insoluble (FDI) expresados como porcentaje en gramos (g/100g peso seco). El contenido de FDT no presenta diferencias ($p>0.05$) entre mango y papaya, sin embargo, esta diferencia si es significativa al compararse con la FDT en piña. Se observó, que el fruto de piña tiene un mayor contenido de FDT, obteniéndose un porcentaje de 6.79, donde alrededor de 5% representa a la FDI y solo 1.8% a FDS. En el caso de mango y papaya, ambos presentaron porcentajes similares de FDI entre sí, con 1.96% para mango y 2.20% en papaya. Estos valores son similares a los obtenidos por Quirós Saucedo (2012), donde se encontró que frutos como piña y guayaba son fuente rica en fibra dietaria insoluble. Por otro lado, se encontró que existen diferencias significativas ($p<0.05$) entre el contenido de FDS de los frutos, observándose que el mayor contenido se encuentra en el fruto de papaya (2.91%), seguido de mango (2.4%) y piña (1.82%). Estos resultados concuerdan con lo reportado por Ramulu y Udayasekhara Rao (2003), quienes reportan un contenido mayor de FDS en los frutos de papaya, seguido de mango y por último piña.

Trabajos recientes, como el de Quirós Saucedo (2012) observaron que el efecto de la fibra dietaria de frutos tropicales sobre la capacidad antioxidante de sus extractos metanólicos, no solo depende del tipo de fibra, sino de sus componentes. En este trabajo, estos autores encontraron que la composición de azúcares totales en las fibras de estos frutos es alta, obteniéndose altos contenidos de ácidos urónicos. Estos compuestos, generalmente son abundantes en las fibras de frutos y representan a las pectinas y conforman a la fibra soluble (Chang *et al.*, 1998). Sin embargo, a pesar de que la fibra dietaria representa un grupo de compuestos muy amplio, dentro de los principales constituyentes de la fibra dietaria se encuentran azúcares como glucosa, fructosa, sacarosa, maltosa, dextrina y almidón, sin incluir la parte celulósica.

Cuadro 5.- Contenido de fibra dietaria soluble, insoluble y total (g/100g peso seco).

| Fruto | Fibra Soluble | Fibra Insoluble | Lignina Klason | Fibra total |
|--------|---------------|--------------------------|----------------|--------------------------|
| Mango | 2.42 ± 0.36a | 1.96 ± 0.04b | Nd | 4.62 ± 0.01b |
| Papaya | 2.91 ± 0.11b | 2.20 ± 0.24b | Nd | 5.11 ± 0.08b |
| Piña | 1.82 ± 0.09c | 5.01 ± 0.82 ^a | Nd | 6.79 ± 0.90 ^a |

Los datos corresponden a las medias ± desviación estándar de tres determinaciones (n=3). Se asignaron letras diferentes a los valores de los promedios que presentaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$). Nd= No detectados.

(Li *et al.*, 2002). Por lo tanto, las diferentes interacciones con los compuestos fenólicos presentes en los frutos involucran a este tipo de compuestos. Por otro lado, no se detectó la presencia de lignina Klason en la pulpa de los frutos estudiados, debido a que este tipo de fibra dietaria se encuentra principalmente en la piel de los frutos (Femenia *et al.*, 1998). Se le llama lignina Klason al valor de lignina obtenido gravimétricamente en base a su solubilidad en ácido (Quintana *et al.*, 2008). La lignina es una molécula compleja de unidades de fenilpropano y se encuentra presente solo en cantidades pequeñas en la dieta humana (Valenzuela B y Maiz G, 2006). Este compuesto es sintetizado a partir de la oxidación de alcoholes fenilpropílicos y se encuentra en los tejidos de frutos y plantas leñosas (Howarth *et al.*, 2001). Su presencia en los frutos tropicales es muy baja, ya que este tipo de fibra dietaria es más común en granos y cereales (Howarth *et al.*, 2001). En plantas y tejido vegetal firme, estos compuestos juegan un papel importante al unirse de manera covalente a hemicelulosas brindando fuerza y rigidez a los tejidos que componen a la pared celular (Vanholme *et al.*, 2008). Por lo tanto, la naturaleza y características de la lignina, su ausencia en la pulpa de los frutos estudiados está justificada.

Por lo tanto, es importante mantener un consumo de fibra dietaria balanceado, donde se consuman fibras tanto soluble como insoluble. Los frutos tropicales han demostrado ser un alimento ideal para la ingesta balanceada de ambos tipos de fibra dietaria. De igual manera, existen diversos estudios que nos indican que subproductos de frutos tropicales, como cáscaras y semilla, representan fuentes ricas de fibra dietaria (Larrauri *et al.*, 1996; Figuerola *et al.*, 2005). Se ha observado que la cáscara de diversos frutos, posee altos contenidos de fibra dietaria insoluble (Ayala-Zavala *et al.*, 2011). Por lo tanto, estos frutos pueden ser considerados como fuente esencial de ambos tipos de fibra dietaria, la cual puede ser extraída y aplicada en diferentes tipos de alimentos funcionales. Sin embargo, a pesar de que la fibra dietaria aporta diferentes beneficios a la salud, se ha reportado que estos compuestos poseen propiedades anti-nutricionales debido a las posibles interacciones que pueden ocurrir entre la fibra dietaria y compuestos bioactivos (Palafox-Carlos *et al.*,

2011). Asimismo, trabajos recientes han demostrado que la adición de fibra dietaria a extractos de compuestos fenólicos de frutos tropicales, resulta en una disminución a su capacidad antioxidante (Quirós Saucedo, 2012). Esta disminución va desde un 5-21% de la capacidad antioxidante por DPPH con la adición de fibra dietaria presente en los frutos, a una disminución de un 23-45% con la disminución de fibra dietaria de salvado de trigo. Esto nos indica que las posibles interacciones entre la fibra dietaria y los compuestos fenólicos, hace que estos se encuentren inaccesibles para lograr estabilizar a los radicales libres presentes en el sistema. Adicionalmente, la presencia de grandes cantidades de fibra dietaria en un alimento y sus posibles interacciones, evitan su adecuada absorción en el intestino delgado (Pérez-Jiménez *et al.*, 2009). La disminución de su absorción en el intestino delgado, limita las funciones biológicas de los compuestos bioactivos en el organismo, limitando sus beneficios a propiciar un ambiente antioxidante en colon.

A pesar de que diversos trabajos han expuesto a la fibra dietaria como un agente anti-nutricional por el atrapamiento que puede tener con distintos nutrientes, estas características pueden ser aprovechadas para el desarrollo de alimentos con funciones específicas, promoviendo una mejor salud intestinal (Palafox-Carlos *et al.*, 2011; Anderson *et al.*, 2009). Sin embargo, en algunos frutos, existen fracciones de fibra dietaria en las que se encuentran asociados cantidades importantes de compuestos fenólicos. Se ha definido a este tipo de fibra dietaria como “Fibra dietaria Antioxidante (FDA)”, y se han señalado los distintos beneficios que esta puede aportar a la salud humana. Asimismo, trabajos como el de Jiménez-Escrig *et al.* (2001) han señalado que algunos frutos tropicales como la guayaba, pueden ser considerados como fuente de este tipo de fibra dietaria. En este contexto, en el **Cuadro 6** se muestran los resultados de los valores de compuestos fenólicos asociados (CFA) a las fracciones de fibra dietaria.

Cuadro 6.- Contenido de compuestos fenólicos (mg EAG/100gpf) de frutos tropicales asociados (CFA) a las fracciones de fibra dietaria.

| | Fracción Soluble (CFA) | Fracción Insoluble (CFA) | Fibra Total (CFA) |
|--------|---------------------------|--------------------------------|----------------------|
| Mango | 7.3461 ± 0.0231a | 9.3815 ± 0.2479a | 16.7277 ± 0.2401a |
| Papaya | 3.8622 ± 0.2077b | 0.8743 ± 0.0997b | 4.7366 ± 0.1761b |
| Piña | 4.1652 ± 0.1965b | Nd | 4.1652 ± 0.1965c |

Los datos son medias de al menos tres determinaciones (n=3) ±la desviación estándar. Se asignaron letras diferentes a los valores de los promedios que presentaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$). Nd= No detectados.

En estas fracciones, podemos observar que la fibra dietaria en los frutos estudiados no cumple con las características establecidas por (Saura-Calixto, 1998) para ser considerada como FDA. Para que un fruto sea considerado como fuente de FDA, este debe tener un contenido de compuestos fenólicos asociados a su fibra dietaria dentro de un rango de 50-70%. Ejemplo de esto, son los resultados obtenidos por Saura-Calixto (1998) en piel de una variedad de uva roja, donde reporta un contenido de 60% de compuestos fenólicos asociados a las fracciones de fibra dietaria. Debido a que el contenido de compuestos fenólicos asociados a las fracciones de fibra dietaria fue bajo con valores en un rango que va de 4.1652 ± 0.1965 a 16.7277 ± 0.2401 mg EAG/100 gpf y estos representan valores por debajo del 10% en relación al contenido total del fruto. Las fracciones de fibra dietaria de los frutos estudiados no cumplen con estas características. De tal manera, que el fruto con mayor contenido de compuestos fenólicos asociados a fracciones de fibra dietaria fue mango cv. *Ataulfo*, con un contenido que representa al 6% de su compuestos fenólicos totales. Por otro lado, podemos resaltar que el fruto que presentó mayor contenido de compuestos fenólicos en ambas fracciones de fibra dietaria fue mango, seguido de papaya, y por último piña.

Un bajo contenido de compuestos fenólicos asociados a la fibra dietaria, nos indica que los compuestos fenólicos presentes en las matrices alimentarias de los frutos de estudio, no presentan una interacción directa entre estos y la fibra dietaria. La literatura sugiere, que los compuestos fenólicos asociados a la fibra dietaria, principalmente se da entre compuestos fenólicos de alto peso molecular, considerados como aquellos no extraíbles (taninos hidrolizables y condensados) (Bravo, 1998; Pozuelo *et al.*, 2012). En el caso de cereales, o algunos frutos considerados fuente de FDA, el contenido de compuestos fenólicos no extraíbles supera considerablemente (5 veces más) los valores de compuestos fenólicos extraíbles (Fogliano *et al.*, 2011). Esto, nos confirma que los frutos de estudio, no poseen las características típicas de la FDA, encontrándose que los compuestos fenólicos asociados a sus fracciones de

fibra dietaria son menores al 10% del total de polifenoles, y que sus contenidos de fenoles no extraíbles son comparables a los extraíbles.

Efecto de las condiciones químicas simuladas del tracto gastrointestinal

La **Figura 12** muestra los resultados obtenidos en cuanto al contenido de compuestos fenólicos en las diferentes etapas de digestión. Estos resultados, nos indican que la liberación de CF en el mango cv *Ataulfo*, es del 50% de su contenido total en la digestión gástrica, y estos son estables a las condiciones de digestión intestinal. Sin embargo, la digestión con la enzima α -amilasa intestinal, nos indica que cerca del 40% de compuestos fenólicos totales en mango, siguen embebidos en la matriz del fruto, en los carbohidratos amiláceos, mas no en las fracciones de fibra dietaria. Resultados similares se observaron en fruto de piña cv. *Esmeralda*, el cual presenta una liberación superior al 50% en la etapa gástrica, los cuales se mantienen estables, presentando una ligera variación en la etapa intestinal. Sin embargo, al igual que en mango, cerca del 40% del contenido total de fenoles se encuentra embebido en carbohidratos amiláceos presentes en la matriz del alimento. Estudios previos en manzana donde se estudió la liberación o bioaccesibilidad de compuestos fenólicos, presentaron el mismo comportamiento Bouayed *et al.* (2011a) encontraron que los compuestos fenólicos presentes en distintas variedades de manzana, fueron liberados en la etapa gástrica y presentaron ligeros aumentos menores al 10% al entrar a la etapa intestinal.

En la etapa de simulación gástrica, la liberación de nutrientes y compuestos bioactivos del alimento, se debe a las condiciones acidas de pH y la acción de la enzima pepsina. Esta liberación podría deberse a la hidrólisis de cadenas de péptidos en la matriz alimentaria de los frutos, además de las condiciones de acidez que ayudan a debilitar algunos de los enlaces entre los carbohidratos simples presentes en los frutos (Hur et al., 2011). Sin embargo, la etapa intestinal se basa en la acción de las enzimas presentes en el complejo de pancreatina para la hidrólisis de los demás constituyentes de la matriz del

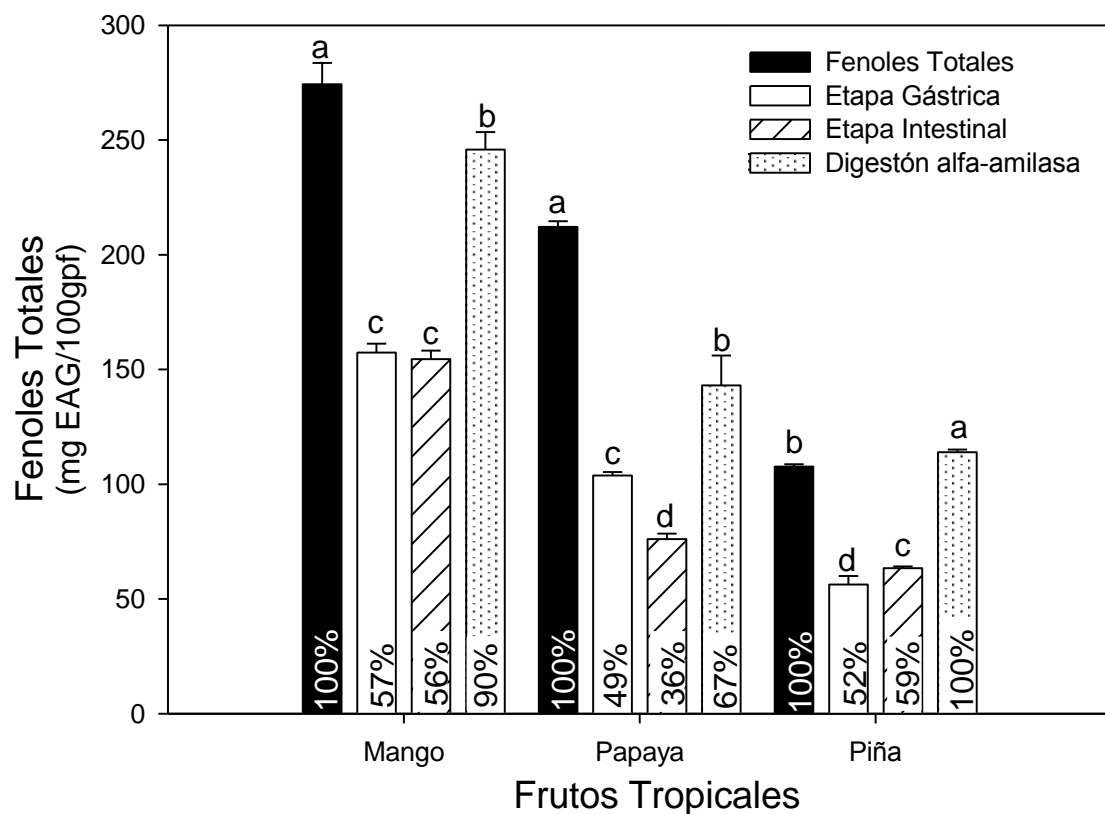


Figura 12.- Contenido de Fenoles Totales en las diferentes etapas de digestión simulada. Los datos son medias de al menos tres determinaciones ($n=3$) \pm la desviación estándar. Se asignaron letras diferentes a los valores de la media de cada etapa por fruto que presentaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$). Los valores se expresaron como mg Equivalentes de ácido gálico/100g peso fresco.

alimento. En esta etapa, no se observaron grandes incrementos en el contenido total de polifenoles, lo que nos indica que la matriz alimentaria de los frutos no sufrió grandes cambios con respecto a la etapa gástrica. Esto se debe a las bajas concentraciones de los diferentes tipos de enzimas que contiene el complejo y al poco tiempo de exposición a cada una de ellas. Sin embargo, el aumento en la concentración y tiempo de exposición con la enzima alfa-amilasa pancreática, mostró un aumento considerable en el contenido de compuestos fenólicos totales en los 3 frutos de estudio. Esto significa, que en los tiempos de exposición de estos 3 frutos a las condiciones y enzimas simuladas de la etapa intestinal en este modelo de digestión *in vitro*, no son suficientes para hidrolizar la totalidad de los carbohidratos amiláceos, y por lo tanto liberar los compuestos fenólicos embebidos en ellos,

Por otro lado, la estabilidad de los compuestos fenólicos a los cambios de pH en las diferentes etapas de digestión es de gran importancia. Esto se vio reflejado en los resultados encontrados en el fruto de papaya, los cuales mostraron diferencias mayores entre sus etapas de digestión. Aun cuando cerca del 50% de su contenido de fenoles totales fue liberado en la etapa gástrica, estos compuestos fueron inestables y sufrieron una degradación al pasar a la etapa intestinal perdiéndose cerca del 15% de compuestos fenólicos totales. Este comportamiento es similar al reportado por Krook y Hagerman (2012) que demostraron que algunos compuestos fenólicos como epigallocatequina y taninos hidrolizables como penta-galoil glucosa son inestables a pH mayor a 7 y sufren de una degradación. Por lo tanto, dado que la etapa intestinal se lleva a cabo a un pH de 7.5, todos aquellos compuestos de esta naturaleza fueron menos estables al entrar a esta etapa. Sin embargo, en la hidrólisis por la acción de α -amilasa a pH 6.9, se observó un aumento significativo que muestra la liberación del equivalente al 67% de los compuestos fenólicos totales en el fruto de papaya. Esto puede ser explicado con la información obtenida de trabajos como el de Friedman y Jürgens (2000), quienes reportan que compuestos fenólicos no conjugados como el ácido

cafeico pueden sufrir una degradación irreversible a pH alcalinos. Esto significa, que aun cuando el pH del medio vuelva a proporcionar un ambiente protonado, los cambios en la estructura de algunos de los compuestos degradados no pueden ser reparados.

La liberación de los compuestos fenólicos a lo largo del tracto gastrointestinal, es de suma importancia para que ejerzan sus distintas funciones biológicas en el organismo (Porrini y Riso, 2008). A esta liberación se le ha definido como "*Bioaccesibilidad*" y ha sido el foco de estudio de recientes investigaciones en diferentes matrices alimentarias (Saura-Calixto *et al.*, 2007; Mateo Anson *et al.*, 2009; Bouayed *et al.*, 2011a). Sin embargo, para su adecuado aprovechamiento, estos compuestos además de ser liberados deben poder ser absorbidos a nivel intestinal y estar presentes en el torrente sanguíneo, donde serán transportados a los distintos tejidos del cuerpo (D'Archivio *et al.*, 2010). A este último proceso se le ha definido como "*Biodisponibilidad*" y ha resultado de suma importancia para comprender de mejor manera el mecanismo de acción de los compuestos fenólicos presentes en nuestra alimentación.

Por otro lado, aun sin ser totalmente absorbidos, la bioaccesibilidad de compuestos fenólicos resulta de suma importancia para contrarrestar el daño oxidativo generado a lo largo del tracto gastrointestinal, promoviéndose una buena salud intestinal por efecto de la capacidad antioxidante de los compuestos (Masibo y He, 2008). Desde este punto de vista, todos aquellos compuestos fenólicos que permanecieron embebidos en fracciones de matriz alimentaria resistentes a las condiciones del tracto gastrointestinal, son arrastrados a colon, donde la microbiota intestinal puede aprovecharlos para su metabolismo (Aura, 2008). Asimismo, algunos componentes de la fibra dietaria pueden ser considerados como prebióticos, principalmente aquellos constituyentes de la fibra dietaria soluble, como pectinas, gomas y algunas hemicelulosas (Chawla y Patil, 2010). Al igual que en muchos otros frutos tropicales, la fracción de fibra dietaria soluble es la más abundante, por lo que las interacciones entre estas fracciones y su efecto en la bioaccesibilidad de los

compuestos fenólicos resulta un punto importante a considerar en este tipo de alimentos (Weickert y Pfeiffer, 2008). De acuerdo a lo mencionado anteriormente, dentro de los resultados obtenidos en el presente estudio sobre los compuestos fenólicos asociados a las fracciones de fibra dietaria, se observó que es la fracción soluble la que presenta mayores valores de fenoles asociados.

Sin embargo, no solo la liberación de los compuestos fenólicos embebidos en la matriz alimentaria es importante, sino el estado antioxidante de los compuestos. En este contexto, en el **Cuadro 7** se muestran los resultados obtenidos para capacidad antioxidante por DPPH y TEAC en las diferentes etapas de digestión, En estos resultados, podemos observar que aun cuando la liberación de los compuestos no es del 100%, en algunos de los casos, estos mostraron valores mayores a los de sus extractos metanólicos, lo que se explica por la presencia de algunos otros compuestos como vitaminas y/o carotenoides (Gayosso-García Sancho *et al.*, 2011; Robles-Sánchez *et al.*, 2009; Abeysinghe *et al.*, 2007). Sin embargo, estos valores muestran coeficientes de correlación entre el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante por ambos métodos, tal como se muestra en el **Cuadro 8**. Sin embargo, en el caso del fruto de papaya, se encontró una baja correlación entre su contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante por el método de TEAC, mientras que por DPPH la correlación fue mayor. Esta diferencia, podría estar relacionada con el mecanismo antioxidante que siguen los CF presentes en papaya en presencia de un radical u otro. Sin embargo, los coeficientes de correlación encontrados, nos indican que los cambios en los valores de capacidad antioxidante en cada una de las etapas de digestión pueden ser explicados por los valores de fenoles totales.

Los valores obtenidos de mg Equivalentes de Trolox en las diferentes etapas van de un rango de 102.71 ± 2.11 a 465.81 ± 18.42 mg ET/100gpf para DPPH y 847.72 ± 87.44 a 2324.1 ± 125.2 mg ET/100gpf para TEAC. Los resultados nos indican que la mayor capacidad en DPPH y TEAC, corresponde al fruto

Cuadro 7.- Capacidad antioxidante (mg ET/100gpf) de los compuestos fenólicos liberados durante las diferentes etapas de digestión.

| Fruto | Etapas | DPPH | TEAC |
|--------|----------------------------------|-----------------|----------------------------|
| Mango | Gástrica(Pepsina) | 217.22 ± 8.49b | 1074.1 ± 110.09c |
| | Intestinal (Pancreatina) | 175.39 ± 5.32c | 891.76 ± 37.73b |
| | Intestinal (Amilasa Pancreática) | 465.81 ± 18.42a | 2324.1 ± 125.2a |
| Papaya | Gástrica(Pepsina) | 141.80 ± 14.58b | 847.72 ± 87.44c |
| | Intestinal (Pancreatina) | 137.99 ± 12.40b | 1186.5 ± 112.38b |
| | Intestinal (Amilasa Pancreática) | 240.82 ± 32.97a | 2191.4 ± 6.21 ^a |
| Piña | Gástrica(Pepsina) | 150.18 ± 19.20b | 911.48 ± 19.21b |
| | Intestinal (Pancreatina) | 102.71 ± 2.11c | 981.95 ± 94.47 b |
| | Intestinal (Amilasa Pancreática) | 219.83 ± 15.25a | 2125 ± 46.118a |

Los datos son medias de al menos tres determinaciones (n=3) ± la desviación estándar. Se asignaron letras diferentes a los valores de los promedios que presentaron diferencias significativas (p<0.05).

Cuadro 8.- Coeficientes de correlación de Spearman (r) y nivel de probabilidad (p) entre el contenido de fenoles totales liberados y la capacidad antioxidante durante el modelo de digestión *in vitro*.

| | Variables correlacionadas | R | p |
|--------|----------------------------------|----------|----------|
| Mango | Fenoles vs DPPH | 0.98 | 0.0091 |
| | Fenoles vs ABTS | 0.97 | 0.0018 |
| Papaya | Fenoles vs DPPH | 0.90 | 0.0052 |
| | Fenoles vs ABTS | 0.75 | 0.2053 |
| Piña | Fenoles vs DPPH | 0.83 | 0.1874 |
| | Fenoles vs ABTS | 0.99 | 0.0072 |

Los datos corresponden a los valores obtenidos por cada fruto en las diferentes etapas de digestión ($p < 0.05$).

de mango, el cual es el fruto con mayor contenido de compuestos fenólicos, vitamina C y carotenoides (Robles-Sánchez *et al.*, 2009). Por otro lado, la menor capacidad en ambos métodos se encontró en el fruto de piña, que de igual manera corresponde al fruto con menor contenido de compuestos fenólicos. Bouayed *et al.* (2011a), evaluaron la liberación y capacidad antioxidante en diferentes variedades de manzana, encontrando valores de mg equivalentes de Vitamina C (EVC) en un rango de 200 a 450 mg EVC/100gpf. Por otro lado, la bioaccesibilidad también ha sido estudiada en matrices alimentarias de cereales, como es el caso del trabajo realizado por Chandrasekara y Shahidi (2012), quienes estudiaron la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos en granos de mijo. En este trabajo, ellos encontraron que en el caso de los cereales, la liberación de compuestos fenólicos después de la simulación de digestión gástrica fue de 2-5 veces mayor que el contenido obtenido en los extractos acuosos. Esta diferencia, se ha propuesto es debida a la unión de los compuestos fenólicos a los constituyentes de la matriz alimentaria que dificulta su extracción (Pérez-Jiménez y Saura-Calixto, 2005). Sin embargo, durante la simulación de las condiciones de digestión gástrica, se lleva a cabo la hidrólisis de proteínas liberándose todos aquellos compuestos fenólicos unidos a ellas (Gawlik-Dziki *et al.*, 2009).

Dentro del presente estudio, en la mayoría de los casos, la capacidad antioxidante presentó una disminución en la etapa intestinal, donde el pH es más alcalino a 7.5, lo cual coincide con lo reportado por McDougall *et al.* (2005). Ellos reportan que debido a la inestabilidad de las moléculas al cambio de pH, estas pueden presentar una disminución en sus propiedades antioxidantes. Asimismo, se ha sugerido que las técnicas de capacidad antioxidante como FRAP y DPPH son más adecuadas para la medición de capacidad antioxidante en etapa gástrica, mientras que TEAC, resulta una técnica más adecuada para la medición de la capacidad antioxidante a nivel intestinal (Tagliazucchi *et al.*, 2010).

CONCLUSIONES

En base a los resultados encontrados en este trabajo, se concluye que los frutos de mango, papaya y piña, son una fuente importante de compuestos fenólicos de bajo (extraíbles) y alto peso molecular (no extraíbles). Sin embargo, la liberación de los compuestos fenólicos presentes en estos, se da gradualmente durante las diferentes etapas de digestión en el modelo de digestión *in vitro* utilizado. La hidrólisis a nivel gástrico provoca que el 50% de los CF sean liberados, mientras que a nivel intestinal la matriz alimentaria no sufre cambios importantes, por lo que estos valores se mantienen cercanos al 50%. Sin embargo, a pesar de los diversos contenidos y tipos de fibra dietaria presente en los frutos tropicales, esta no representa una limitante importante para la adecuada liberación de los compuestos fenólicos presentes en la matriz alimentaria. Se encontró adicionalmente, que la liberación de los compuestos fenólicos, tiene una correlación positiva con los compuestos fenólicos liberados (bioaccesibles) y la capacidad antioxidante del sistema. Por otro lado, se observó que el atrapamiento por efecto de la fibra dietaria fue bajo, donde menos del 6% de los compuestos fenólicos totales están asociados a las fracciones de fibra dietaria. Sin embargo, se encontró que, además de la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de los compuestos fenólicos presentes en el fruto de papaya, la inestabilidad a causa de los cambios de pH es un factor a considerar. Por lo tanto, la exposición de los compuestos fenólicos a las diferentes condiciones de pH del tracto gastrointestinal, si representa un factor limitante en el aprovechamiento de sus propiedades antioxidantes.

RECOMENDACIONES

Se sugiere que la identificación de los compuestos fenólicos presentes en los frutos y sus posibles transformaciones a lo largo del tracto gastrointestinal, es el siguiente paso a seguir para comprender mejor su proceso de liberación y absorción. Técnicas como la cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) acoplada a masas, ayudaría a reconocer las distintas especies de compuestos fenólicos que pueden estar liberando en las diferentes etapas de digestión. Asimismo, el uso de técnicas como la de resonancia magnética nuclear (RMN) puede ayudarnos a seguir a estos compuestos y sus posibles variaciones en su estructura química durante las diferentes etapas de digestión. Este tipo de estudios aportarían información sobre los cambios en las propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos biodisponibles en las matrices alimentarias de mango, papaya y piña.

REFERENCIAS

- Abeyasinghe D., X. Li, C. Sun, W. Zhang, C. Zhou y K. Chen. 2007. Bioactive compounds and antioxidant capacities in different edible tissues of citrus fruit of four species. *Food Chemistry* 104(4):1338-1344.
- Allothman M., R. Bhat y A. Karim. 2009. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry* 115(3):785-788.
- Anderson J.W., P. Baird, R.H. Davis Jr, S. Ferreri, M. Knudtson, A. Koraym, V. Waters y C.L. Williams. 2009. Health benefits of dietary fiber. *Nutrition Reviews* 67(4):188-205.
- Andjelković M., J. Van Camp, B. De Meulenaer, G. Depaemelaere, C. Socaciu, M. Verloo y R. Verhe. 2006. Iron-chelation properties of phenolic acids bearing catechol and galloyl groups. *Food Chemistry* 98(1):23-31.
- Annegowda H., R. Bhat, Y.K. Joon, L. Min-Tze, A. Karim y S. Mansor. 2013. Influence Of Drying Treatments On Polyphenolic Contents And Antioxidant Properties Of Raw And Ripe Papaya (*Carica Papaya* L.). *International Journal of Food Properties* (En prensa).
- Arranz S., F. Saura-Calixto, S. Shaha y P.A. Kroon. 2009. High contents of nonextractable polyphenols in fruits suggest that polyphenol contents of plant foods have been underestimated. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry* 57(16):7298-7303.
- Aura A.M. 2008. Microbial metabolism of dietary phenolic compounds in the colon. *Phytochem Rev* 7(3):407-429.
- Aura A.M., P. Martin-Lopez, K.A. O'Leary, G. Williamson, K.M. Oksman-Caldentey, K. Poutanen y C. Santos-Buelga. 2005. *In vitro* metabolism of anthocyanins by human gut microflora. *European Journal of Nutrition* 44(3):133-142.
- Ayala-Zavala J., V. Vega-Vega, C. Rosas-Domínguez, H. Palafox-Carlos, J. Villa-Rodríguez, M.W. Siddiqui, J. Dávila-Aviña y G. González-Aguilar. 2011. Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Research International* 44(7):1866-1874.
- Babio N., R. Balanza, J. Basulto, M. Bulló y J. Salas-Salvadó. 2010. Dietary fibre: influence on body weight, glycemic control and plasma cholesterol profile. *Nutr Hosp* 25(3):327-340.
- Bakris G., B. Barnhill y R. Sadler. 1992. Treatment of arterial hypertension in diabetic humans: importance of therapeutic selection. *Kidney International* 41(4):912.
- Balasundram N., K. Sundram y S. Samman. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry* 99(1):191-203.
- Benzie I.F., W. Chung y J. Strain. 1999. "antioxidant"(reducing) efficiency of ascorbate in plasma is not affected by concentration. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 10(3):146-150.

- Bonafine O., A. Cañizares y D. Laverde. 2006. Importancia de los fitoquímicos en la alimentación. INIA. Divulga 7:9-12.
- Booth A.N., C.W. Murray, F.T. Jones y F. DeEds. 1956. The metabolic fate of rutin and quercetin in the animal body. *Journal of Biological Chemistry* 223(1):251.
- Bouayed J., L. Hoffmann y T. Bohn. 2011a. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chemistry* 128(1):14-21.
- Bouayed J., L. Hoffmann y T. Bohn. 2011b. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastrointestinal digestion and dialysis of apple varieties: bioaccessibility and potential uptake. *Food Chemistry*.
- Brand-Williams W., M. Cuvelier y C. Berset. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology* 28(1):25-30.
- Braune A., M. Gütschow, W. Engst y M. Blaut. 2001. Degradation of Quercetin and Luteolin by *Eubacterium ramulus*. *Applied and environmental microbiology* 67(12):5558-5567.
- Bravo L. 1998. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews* 56(11):317-333.
- Bravo L., R. Abia y F. Saura-Calixto. 1994. Polyphenols as dietary fiber associated compounds. Comparative study on *in vivo* and *in vitro* properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42(7):1481-1487.
- Bravo L. y F. Saura-Calixto. 1998. Characterization of dietary fiber and the *in vitro* indigestible fraction of grape pomace. *American Journal of Enology and Viticulture* 49(2):135-141.
- Brownlee I.A. 2011. The physiological roles of dietary fibre. *Food Hydrocolloids* 25(2):238-250.
- Cilla A., S. Perales, M.J. Lagarda, R. Barbera y R. Farre. 2008. Iron bioavailability in fortified fruit beverages using ferritin synthesis by Caco-2 cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(18):8699-8703.
- Coles L., P. Moughan y A. Darragh. 2005. *In vitro* digestion and fermentation methods, including gas production techniques, as applied to nutritive evaluation of foods in the hindgut of humans and other simple-stomached animals. *Animal Feed Science and Technology* 123:421-444.
- Corral-Aguayo R.D., E.M. Yahia, A. Carrillo-Lopez y G. González-Aguilar. 2008. Correlation between some nutritional components and the total antioxidant capacity measured with six different assays in eight horticultural crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(22):10498-10504.
- Cummings J. y G. Macfarlane. 1991. The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *Journal of Applied Microbiology* 70(6):443-459.
- Cummings J., J. Mann, C. Nishida y H. Vorster. 2009. Dietary fibre: an agreed definition. *The Lancet* 373(9661):365-366.

- Chandalia M., A. Garg, D. Lutjohann, K. von Bergmann, S.M. Grundy y L.J. Brinkley. 2000. Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine* 342(19):1392-1398.
- Chandrasekara A. y F. Shahidi. 2012. Bioaccessibility and antioxidant potential of millet grain phenolics as affected by simulated *in vitro* digestion and microbial fermentation. *Journal of Functional Foods* 4(1):226-237.
- Chang S.-C., M.-S. Lee, C.-J. Lin y M.-L. Chen. 1998. Dietary fiber content and composition of fruits in Taiwan. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 7:206-210.
- Chawla R. y G.R. Patil. 2010. Soluble Dietary Fiber. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 9(2):178-196.
- Chen L., M.-J. Lee, H. Li y C.S. Yang. 1997. Absorption, distribution, and elimination of tea polyphenols in rats. *Drug Metabolism and Disposition* 25(9):1045-1050.
- Chen X.D. 2006. GIT physicochemical modeling-a critical review. *International Journal of Food Engineering* 2(4).
- D'Archivio M., C. Filesi, R. Di Benedetto, R. Gargiulo, C. Giovannini y R. Masella. 2007. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *ANNALI-ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA* 43(4):348.
- D'Archivio M., C. Filesi, R. Vari, B. Scazzocchio y R. Masella. 2010. Bioavailability of the polyphenols: status and controversies. *International Journal of Molecular Sciences* 11(4):1321-1342.
- Das L., E. Bhaumik, U. Raychaudhuri y R. Chakraborty. 2012. Role of nutraceuticals in human health. *Journal of Food Science and Technology* 49(2):173-183.
- David Arthey P.R.A. 1996. *Fruit Processing*. Chapman & Hall. 2-6 Boundary Row, London, UK.
- Day A.J., F.J. Cañada, J.C. Díaz, P.A. Kroon, R. McLauchlan, C.B. Faulds, G.W. Plumb, M.R.A. Morgan y G. Williamson. 2000a. Dietary flavonoid and isoflavone glycosides are hydrolysed by the lactase site of lactase phlorizin hydrolase. *FEBS Letters* 468(2-3):166-170.
- Day A.J., J.C. Díaz, P.A. Kroon, R. McLauchlan, C.B. Faulds, G.W. Plumb, M.R.A. Morgan y G. Williamson. 2000b. Dietary flavonoid and isoflavone glycosides are hydrolysed by the lactase site of lactase phlorizin hydrolase. *FEBS Letters* 468(2):166-170.
- de la Torre R. 2008. Bioavailability of olive oil phenolic compounds in humans. *Inflammopharmacology* 16(5):245-247.
- Dembitsky V.M., S. Poovarodom, H. Leontowicz, M. Leontowicz, S. Vearasilp, S. Trakhtenberg y S. Gorinstein. 2011. The multiple nutrition properties of some exotic fruits: Biological activity and active metabolites. *Food Research International*.
- Diaz-Rubio M.E. y F. Saura-Calixto. 2009. Dietary fiber complex in beer. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* 67(1):38-43.
- Eastwood M.A. y E.R. Morris. 1992. Physical properties of dietary fiber that influence physiological function: a model for polymers along the

- gastrointestinal tract. *The American Journal of Clinical Nutrition* 55(2):436-442.
- Femenia A., E. Sánchez, S. Simal y C. Rosselló. 1998. Effects of drying pretreatments on the cell wall composition of grape tissues. *Journal of agricultural and food chemistry* 46(1):271-276.
- Fialkow L., Y. Wang y G.P. Downey. 2007. Reactive oxygen and nitrogen species as signaling molecules regulating neutrophil function. *Free Radical Biology and Medicine* 42(2):153-164.
- Figuerola F., M.a.L. Hurtado, A.M.a. Estévez, I. Chiffelle y F. Asenjo. 2005. Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. *Food Chemistry* 91(3):395-401.
- Fischer U.A., R. Carle y D.R. Kammerer. 2011. Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD-ESI/MSn. *Food Chemistry* 127(2):807-821.
- Fogliano V., M.L. Corollaro, P. Vitaglione, A. Napolitano, R. Ferracane, F. Travaglia, M. Arlorio, A. Costabile, A. Klinder y G. Gibson. 2011. *in vitro* bioaccessibility and gut biotransformation of polyphenols present in the water-insoluble cocoa fraction. *Molecular Nutrition & Food Research* 55(S1):S44-S55.
- Friedman M. y H.S. Jürgens. 2000. Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry* 48(6):2101-2110.
- Fu L., B.-T. Xu, X.-R. Xu, R.-Y. Gan, Y. Zhang, E.-Q. Xia y H.-B. Li. 2011. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chemistry* 129(2):345-350.
- Gao S. y M. Hu. 2010. Bioavailability challenges associated with development of anti-cancer phenolics. *Mini reviews in medicinal chemistry* 10(6):550.
- García-Alonso M., S. de Pascual-Teresa, C. Santos-Buelga y J.C. Rivas-Gonzalo. 2004. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food Chemistry* 84(1):13-18.
- Gawlik-Dziki U., D. Dziki, B. Baraniak y R. Lin. 2009. The effect of simulated digestion *in vitro* on bioactivity of wheat bread with Tartary buckwheat flavones addition. *LWT-Food Science and Technology* 42(1):137-143.
- Gayosso-García Sancho L.E., E.M. Yahia y G.A. González-Aguilar. 2011. Identification and quantification of phenols, carotenoids, and vitamin C from papaya (*Carica papaya* L., cv. Maradol) fruit determined by HPLC-DAD-MS/MS-ESI. *Food Research International* 44(5):1284-1291.
- Geier M.S., R.N. Butler y G.S. Howarth. 2007. Inflammatory bowel disease: current insights into pathogenesis and new therapeutic options; probiotics, prebiotics and synbiotics. *International Journal of Food Microbiology* 115(1):1-11.
- Giovannucci E. 1999. Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: review of the epidemiologic literature. *Journal of the National Cancer Institute* 91(4):317-331.
- Gonçalves B., A.-K. Landbo, D. Knudsen, A.P. Silva, J. Moutinho-Pereira, E. Rosa y A.S. Meyer. 2004. Effect of ripeness and postharvest storage on

- the phenolic profiles of cherries (*Prunus avium* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(3):523-530.
- Gong J. y C. Yang. 2012. Advances in the methods for studying gut microbiota and their relevance to the research of dietary fiber functions. *Food Research International*.
- González-Aguilar G., R. Robles-Sánchez, M. Martínez-Téllez, G. Olivas, E. Alvarez-Parrilla y L. De La Rosa. 2008. Bioactive compounds in fruits: health benefits and effect of storage conditions. *Stewart Postharvest Review* 4(3):1-10.
- Gonzalez-Aguilar G.A., J.A. Villa-Rodriguez, J.F. Ayala-Zavala y E.M. Yahia. 2010. Improvement of the antioxidant status of tropical fruits as a secondary response to some postharvest treatments. *Trends In Food Science & Technology* 21(10):475-482.
- Goñi I., M.E. Díaz-Rubio, J. Pérez-Jiménez y F. Saura-Calixto. 2009. Towards an updated methodology for measurement of dietary fiber, including associated polyphenols, in food and beverages. *Food Research International* 42(7):840-846.
- Hartzfeld P.W., R. Forkner, M.D. Hunter y A.E. Hagerman. 2002. Determination of hydrolyzable tannins (gallotannins and ellagitannins) after reaction with potassium iodate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(7):1785-1790.
- Hedren E., V. Diaz y U. Svanberg. 2002. Estimation of carotenoid accessibility from carrots determined by an *in vitro* digestion method. *European Journal of Clinical Nutrition* 56(5):425.
- Hensley K., K.A. Robinson, S.P. Gabbita, S. Salsman y R.A. Floyd. 2000. Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury. *Free Radical Biology and Medicine* 28(10):1456-1462.
- Holst B. y G. Williamson. 2008. Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. *Current Opinion in Biotechnology* 19(2):73-82.
- Hollman P.C.H., J.M.P. van Trijp, M.N.C.P. Buysman, M.J.B. Mengelers, J.H.M. de Vries y M.B. Katan. 1997. Relative bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. *FEBS Letters* 418(1-2):152-156.
- Hossain M.A. y S. Rahman. 2011. Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of tropical fruit pineapple. *Food Research International* 44(3):672-676.
- Howarth N.C., E. Saltzman y S.B. Roberts. 2001. Dietary fiber and weight regulation. *Nutrition reviews* 59(5):129-139.
- Huang D., B. Ou, M. Hampsch-Woodill, J.A. Flanagan y R.L. Prior. 2002. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(16):4437-4444.
- Hur S.J., B.O. Lim, E.A. Decker y D.J. McClements. 2011. *in vitro* human digestion models for food applications. *Food Chemistry* 125(1):1-12.

- Isolauri E., S. Salminen y A.C. Ouwehand. 2004. Probiotics. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology 18(2):299-313.
- Jiménez-Escrig A., M. Rincón, R. Pulido y F. Saura-Calixto. 2001. Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49(11):5489-5493.
- John J., S. Ziebland, P. Yudkin, L. Roe y H. Neil. 2002. Effects of fruit and vegetable consumption on plasma antioxidant concentrations and blood pressure: a randomised controlled trial. The Lancet 359(9322):1969-1974.
- Kadian S.S. y M. Garg. 2012. Pharmacological effects of carotenoids: A review. Int. J. Pharmaceut. Sci. Res 3:42-48.
- Kanazawa K. 2011. Bioavailability of non-nutrients for preventing lifestyle-related diseases. Trends in Food Science & Technology.
- Karadag A., B. Ozcelik y S. Saner. 2009. Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. Food Anal. Methods 2(1):41-60.
- King A.M.Y. y G. Young. 1999. Characteristics and Occurrence of Phenolic Phytochemicals. Journal of the American Dietetic Association 99(2):213-218.
- Konishi Y., K. Hagiwara Y M. Shimizu. 2002. Transepithelial transport of fluorescein in Caco-2 cell monolayers and use of such transport in *in vitro* evaluation of phenolic acid availability. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 66(11):2449-2457.
- Korkina L., M.G. Scordo, I. Deeva, E. Cesareo y C. De Luca. 2009. The chemical defensive system in the pathobiology of idiopathic environment-associated diseases. Current Drug Metabolism 10(8):914.
- Krook M.A. y A.E. Hagerman. 2012. Stability of polyphenols epigallocatechin gallate and pentagalloyl glucose in a simulated digestive system. Food Research International.
- Kulp K.S., S.L. Fortson, M.G. Knize y J.S. Felton. 2003. An *in vitro* model system to predict the bioaccessibility of heterocyclic amines from a cooked meat matrix. Food and Chemical Toxicology 41(12):1701-1710.
- Larrauri J., P. Rupérez, B. Borroto y F. Saura-Calixto. 1996. Mango peels as a new tropical fibre: preparation and characterization. LWT-Food Science and Technology 29(8):729-733.
- Larrosa M., M.J. Yañez-Gascón, M.V. Selma, A. González-Sarrías, S. Toti, J.J. Cerón, F. Tomás-Barberán, P. Dolara y J.C. Espín. 2009. Effect of a low dose of dietary resveratrol on colon microbiota, inflammation and tissue damage in a DSS-induced colitis rat model. Journal of Agricultural and Food Chemistry 57(6):2211-2220.
- Lee H.C., A.M. Jenner, C.S. Low y Y.K. Lee. 2006. Effect of tea phenolics and their aromatic fecal bacterial metabolites on intestinal microbiota. Research In Microbiology 157(9):876-884.
- Li B.W., K.W. Andrews y P.R. Pehrsson. 2002. Individual sugars, soluble, and insoluble dietary fiber contents of 70 high consumption foods. Journal of Food Composition and Analysis 15(6):715-723.

- Lim Y., T. Lim y J. Tee. 2007. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food Chemistry* 103(3):1003-1008.
- Mahowald M.A., F.E. Rey, H. Seedorf, P.J. Turnbaugh, R.S. Fulton, A. Wollam, N. Shah, C. Wang, V. Magrini y R.K. Wilson. 2009. Characterizing a model human gut microbiota composed of members of its two dominant bacterial phyla. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106(14):5859.
- Manach C., A. Scalbert, C. Morand, C. Rémésy y L. Jiménez. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of Clinical Nutrition* 79(5):727.
- Manach C., G. Williamson, C. Morand, A. Scalbert y C. Rémésy. 2005. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *The American Journal of Clinical Nutrition* 81(1):230S-242S.
- Mañas E. y F. Saura-Calixto. 1995. Dietary fibre analysis: methodological error sources. *European Journal of Clinical Nutrition* 49:S158.
- Masibo M. y Q. He. 2008. Major Mango Polyphenols and Their Potential Significance to Human Health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 7(4):309-319.
- Mateo Anson N., R. Van Den Berg, R. Havenaar, A. Bast y G.R.M.M. Haenen. 2009. Bioavailability of ferulic acid is determined by its bioaccessibility. *Journal of Cereal Science* 49(2):296-300.
- McDougall G.J., P. Dobson, P. Smith, A. Blake y D. Stewart. 2005. Assessing potential bioavailability of raspberry anthocyanins using an *in vitro* digestion system. *Journal of agricultural and food chemistry* 53(15):5896-5904.
- McDougall G.J., S. Fyffe, P. Dobson y D. Stewart. 2007. Anthocyanins from red cabbage – stability to simulated gastrointestinal digestion. *Phytochemistry* 68(9):1285-1294.
- McDougall G.J. y D. Stewart. 2005. The inhibitory effects of berry polyphenols on digestive enzymes. *Biofactors* 23(4):189-195.
- Mhatre M., J. Tilak-Jain, S. De y T. Devasagayam. 2009. Evaluation of the antioxidant activity of non-transformed and transformed pineapple: A comparative study. *Food and Chemical Toxicology* 47(11):2696-2702.
- Miller N.J., C. Rice-Evans, M.J. Davies, V. Gopinathan y A. Milner. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science* 84:407-407.
- Monagas M., M. Urpi-Sarda, F. Sánchez-Patán, R. Llorach, I. Garrido, C. Gómez-Cordovés, C. Andres-Lacueva y B. Bartolomé. 2010. Insights into the metabolism and microbial biotransformation of dietary flavan-3-ols and the bioactivity of their metabolites. *Food Funct.* 1(3):233-253.
- Montagne L., J. Pluske y D. Hampson. 2003. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. *Animal Feed Science and Technology* 108(1-4):95-117.

- Moreau R.A., B.D. Whitaker y K.B. Hicks. 2002. Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses. *Progress in Lipid Research* 41(6):457-500.
- Niki E. y N. Noguchi. 2000. Evaluation of antioxidant capacity. What capacity is being measured by which method? *IUBMB life* 50(4-5):323-329.
- Nohynek L.J., H.L. Alakomi, M.P. Kähkönen, M. Heinonen, I.M. Helander, K.M. Oksman-Caldentey y R.H. Puupponen-Pimiä. 2006. Berry phenolics: antimicrobial properties and mechanisms of action against severe human pathogens. *Nutrition and Cancer* 54(1):18-32.
- Oomen A., C. Rompelberg, M. Bruil, C. Dobbe, D. Pereboom y A. Sips. 2003. Development of an *in vitro* digestion model for estimating the bioaccessibility of soil contaminants. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 44(3):0281-0287.
- Palafox-Carlos H., E. Yahia y G. González-Aguilar. 2012a. Identification and Quantification of Major Phenolic Compounds from Mango (*Mangifera indica*, cv. Ataulfo) Fruit by HPLC-DAD-MS/MS-ESI and Their Individual Contribution to the Antioxidant Activity during Ripening. *Food Chemistry*.
- Palafox-Carlos H., E. Yahia, M. Islas-Osuna, P. Gutierrez-Martinez, M. Robles-Sánchez y G. González-Aguilar. 2012b. Effect of ripeness stage of mango fruit (*Mangifera indica* L., cv. Ataulfo) on physiological parameters and antioxidant activity. *Scientia Horticulturae* 135:7-13.
- Palafox-Carlos H., J.F. Ayala-Zavala y G.A. González-Aguilar. 2011. The Role of Dietary Fiber in the Bioaccessibility and Bioavailability of Fruit and Vegetable Antioxidants. *Journal of Food Science* 76(1):R6-R15.
- Parada J. y J.M. Aguilera. 2007. Food Microstructure Affects the Bioavailability of Several Nutrients. *Journal of Food Science* 72(2):R21-R32.
- Park E.-J. y D.-Y. Jhon. 2010. The antioxidant, angiotensin converting enzyme inhibition activity, and phenolic compounds of bamboo shoot extracts. *LWT - Food Science and Technology* 43(4):655-659.
- Parkar S.G., D.E. Stevenson y M.A. Skinner. 2008. The potential influence of fruit polyphenols on colonic microflora and human gut health. *International Journal of Food Microbiology* 124(3):295-298.
- Pérez-Jiménez J. y F. Saura-Calixto. 2005. Literature data may underestimate the actual antioxidant capacity of cereals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(12):5036-5040.
- Pérez-Jiménez J., J. Serrano, M. Taberero, S. Arranz, M.E. Díaz-Rubio, L. García-Diz, I. Goñi y F. Saura-Calixto. 2009. Bioavailability of phenolic antioxidants associated with dietary fiber: plasma antioxidant capacity after acute and long-term intake in humans. *Plant Foods for Human Nutrition (Formerly Qualitas Plantarum)* 64(2):102-107.
- Pérez B.R. 2006. Capítulo 99: Anatomía, fisiología y patología digestiva y de la nutrición.
- Porrini M. y P. Riso. 2008. Factors influencing the bioavailability of antioxidants in foods: A critical appraisal. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 18(10):647-650.

- Possemiers S., S. Bolca, W. Verstraete y A. Heyerick. 2011. The intestinal microbiome: a separate organ inside the body with the metabolic potential to influence the bioactivity of botanicals. *Fitoterapia* 82(1):53-66.
- Pozuelo M.J., A. Agis-Torres, D. Hervert-Hernández, M. Elvira López-Oliva, E. Muñoz-Martínez, R. Rotger y I. Goñi. 2012. Grape Antioxidant Dietary Fiber Stimulates Lactobacillus Growth in Rat Cecum. *Journal of Food Science* 77(2):H59-H62.
- Prior R.L., X. Wu y K. Schaich. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(10):4290-4302.
- Prosky L., N.G. Asp, T.F. Schweizer, J.W. DeVries y I. Furda. 1988. Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products: interlaboratory study. *Journal - Association of Official Analytical Chemists* 71(5):1017-1023.
- Proudfoot S. 1991. Factors affecting bioavailability: factors influencing drug absorption from the gastrointestinal tract. *Pharmaceutics: the science of dosage from design*. Edinburgh: Churchill Livingstone:135-173.
- Puupponen-Pimiä R., L. Nohynek, S. Hartmann-Schmidlin, M. Kähkönen, M. Heinonen, K. Määttä-Riihinen y K.M. Oksman-Caldentey. 2005. Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal pathogens. *Journal of Applied Microbiology* 98(4):991-1000.
- Quintana G., G. Rocha, J. Velásquez, A. Barbosa, E. Henao, C. Castro y A. Gonçalves. 2008. Influencia de factores de la reacción de oxidación de lignina sobre la adsorción de metales. *Revista Investigaciones Aplicadas* No 4:16-22.
- R. C., B. G., L. M. y W. S. 2006. *In vitro* degradation of the flavonol quercetin and of quercetin glycosides in the porcine hindgut. *Arch Anim Nutr* 60:180 –189.
- Ragaert P., W. Verbeke, F. Devlieghere y J. Debevere. 2004. Consumer perception and choice of minimally processed vegetables and packaged fruits. *Food Quality and Preference* 15(3):259-270.
- Ramulu P. y P. Udayasekhara Rao. 2003. Total, insoluble and soluble dietary fiber contents of Indian fruits. *Journal of Food Composition and Analysis* 16(6):677-685.
- Rao A.V. y L.G. Rao. 2007. Carotenoids and human health. *Pharmacological Research* 55(3):207-216.
- Rastmanesh R. 2011. High polyphenol, low probiotic diet for weight loss because of intestinal microbiota interaction. *Chemico-Biological Interactions* 189(1-2):1-8.
- Reed J.D., R.T. McDowell, P.J. Van Soest y P.R. Horvath. 1982. Condensed tannins: a factor limiting the use of cassava forage. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 33(3):213-220.
- Rinaldo D. 2010. Advances on polyphenols and their metabolism in sub-tropical and tropical fruits. *Trends in Food Science & Technology* 21(12):599-606.

- Robles-Sánchez M., H. Astiazarán-García, O. Martín-Belloso, S. Gorinstein, E. Alvarez-Parrilla, L.A. De la Rosa, G. Yepiz-Plascencia y G.A. González-Aguilar. 2011. Influence of whole and fresh-cut mango intake on plasma lipids and antioxidant capacity of healthy adults. *Food Research International* 44(5):1386-1391.
- Robles-Sánchez R., M. Islas-Osuna, H. Astiazarán-García, F. Vázquez-Ortiz, O. Martín-Belloso, S. Gorinstein y G. González-Aguilar. 2009. Quality Index, Consumer Acceptability, Bioactive Compounds, and Antioxidant Activity of Fresh-Cut "Ataulfo" Mangoes (*Mangifera Indica L.*) as Affected by Low-Temperature Storage. *Journal of Food Science* 74(3):S126-S134.
- Rock C.L. y M.E. Swendseid. 1992. Plasma beta-carotene response in humans after meals supplemented with dietary pectin. *The American journal of Clinical Nutrition* 55(1):96-99.
- Rodríguez-Figueroa J., R. Reyes-Díaz, A. González-Córdova, R. Troncoso-Rojas, I. Vargas-Arispuro y B. Vallejo-Cordoba. 2010. Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of milk fermented by wild and industrial *Lactococcus lactis* strains. *Journal of Dairy Science* 93(11):5032-5038.
- Rufino M.d.S.M., J. Pérez-Jiménez, S. Arranz, R.E. Alves, E.S. de Brito, M.S. Oliveira y F. Saura-Calixto. 2011a. 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 M.S.M., R.E. Alves, E.S. de Brito, J. Pérez-Jiménez, F. Saura-Calixto y J. Mancini-Filho. 2010. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry* 121(4):996-1002.
- Rufino M.S.M., R.E. Alves, F.A.N. Fernandes y E.S. Brito. 2011b. Free radical scavenging behavior of ten exotic tropical fruits extracts. *Food Research International* 44(7):2072-2075.
- Saad H., F. Charrier-El Bouhtoury, A. Pizzi, K. Rode, B. Charrier y N. Ayed. 2012. Characterization of pomegranate peels tannin extractives. *Industrial Crops and Products* 40(0):239-246.
- Sailaja Rao P., S. Kalva, A. Yerramilli y S. Mamidi. 2011. Free Radicals and Tissue Damage: Role of Antioxidants. *Free Radicals and Antioxidants* 1(4):2-7.
- Sánchez-Moreno C., J.A. Larrauri y F. Saura-Calixto. 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 76(2):270-276.
- Sang S., J.D. Lambert, C.-T. Ho y C.S. Yang. 2011. The chemistry and biotransformation of tea constituents. *Pharmacological Research* 64(2):87-99.
- Saura-Calixto F. 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 F. y M.E. Díaz-Rubio. 2007. Polyphenols associated with dietary fibre in wine: A wine Polyphenols gap? *Food Research International* 40(5):613-619.
- Saura-Calixto F., A. García-Alonso, I. Goñi y L. Bravo. 2000. *In vitro* determination of the indigestible fraction in foods: an alternative to dietary fiber analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(8):3342-3347.
- Saura-Calixto F. y I. Goñi. 2006. Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. *Food Chemistry* 94(3):442-447.
- Saura-Calixto F., J. Serrano y I. Goñi. 2007. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chemistry* 101(2):492-501.
- Saura C. y J. Jarrauri. 1996. Nuevos tipos de fibra dietética de alta calidad. *Alimentación, Equipos y Tecnología*:1-14.
- Sáyago-Ayerdi S.G., C.L. Moreno-Hernández, E. Montalvo-González, M.L. García-Magaña, M.M.-M. de Oca, J.L. Torres y J. Pérez-Jiménez. 2012. Mexican 'Ataulfo' Mango (*Mangifera indica* L) as a source of hydrolyzable tannins. Analysis by MALDI-TOF/TOF MS. *Food Research International*.
- Sáyago-Ayerdi S.G., C.L. Moreno-Hernández, E. Montalvo-González, M.L. García-Magaña, M. Mata-Montes de Oca, J.L. Torres y J. Pérez-Jiménez. 2013. Mexican 'Ataulfo' mango (*Mangifera indica* L) as a source of hydrolyzable tannins. Analysis by MALDI-TOF/TOF MS. *Food Research International* 51(1):188-194.
- Scalbert A. y G. Williamson. 2000. Dietary Intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of nutrition*.
- Seeram N., R. Lee, M. Hardy y D. Heber. 2005. Rapid large scale purification of ellagitannins from pomegranate husk, a by-product of the commercial juice industry. *Separation and Purification Technology* 41(1):49-55.
- Singh M., M. Arseneault, T. Sanderson, V. Murthy y C. Ramassamy. 2008. Challenges for research on polyphenols from foods in Alzheimer's disease: bioavailability, metabolism, and cellular and molecular mechanisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(13):4855-4873.
- Singleton V. y J.A. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture* 16(3):144-158.
- Soong Y.-Y. y P.J. Barlow. 2004. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food chemistry* 88(3):411-417.
- Sumbul S., M.A. Ahmad y A. Mohd. 2011. Role of phenolic compounds in peptic ulcer: An overview. *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences* 3(3):361.
- Tagliazucchi D., E. Verzelloni, D. Bertolini y A. Conte. 2010. *In vitro* bioaccessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chemistry* 120(2):599-606.
- Tamura H. y M. Matsui. 2000. Inhibitory effects of green tea and grape juice on the phenol sulfotransferase activity of mouse intestines and human colon

- carcinoma cell line, caco-2. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 23(6):695-699.
- Tarko T., A. Duda-Chodak, P. Sroka, P. Satora y J. Michalik. 2009. Transformations of phenolic compounds in an *in vitro* model simulating the human alimentary Tract. *Food Technology and Biotechnology* 47(4):456.
- Thavanesan N. 2011. Horizons in Nutritional Science. *British Journal of Nutrition* 106:1297-1309.
- Tsuruta H., T. Yagishita, M. Shimizu y H. Tamura. 2011. Megadose vitamin C suppresses sulfoconjugation in human colon carcinoma cell line Caco-2. *Toxicology in vitro* 25(2):500-504.
- Turgeon S.L. y L.E. Rioux. 2011. Food matrix impact on macronutrients nutritional properties. *Food Hydrocolloids*.
- Usono O.B. y S.A. Mousa. 2010. Vitamin E Forms in Alzheimer's Disease: A Review of Controversial and Clinical Experiences. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 50(5):414-419.
- Valenzuela B A. y A. Maiz G. 2006. El rol de la fibra dietética en la nutrición enteral. *Revista chilena de nutrición* 33:342-311.
- Valkonen M. y T. Kuusi. 1997. Spectrophotometric assay for total peroxy radical-trapping antioxidant potential in human serum. *Journal of Lipid Research* 38(4):823-833.
- Van de Wiele T.R., A.G. Oomen, J. Wragg, M. Cave, M. Minekus, A. Hack, C. Cornelis, C.J. Rompelberg, L.L. De Zwart y B. Klinck. 2007. Comparison of five *in vitro* digestion models to *in vivo* experimental results: lead bioaccessibility in the human gastrointestinal tract. *Journal of Environmental Science and Health Part A* 42(9):1203-1211.
- van Poppel G. y H. van den Berg. 1997. Vitamins and cancer. *Cancer letters* 114(1-2):195-202.
- Vanholme R., K. Morreel, J. Ralph y W. Boerjan. 2008. Lignin engineering. *Current opinion in plant biology* 11(3):278-285.
- Versantvoort C.H., A.G. Oomen, E. Van de Kamp, C.J. Rompelberg y A.J. Sips. 2005. Applicability of an *in vitro* digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food. *Food and Chemical Toxicology* 43(1):31-40.
- Villa-Rodríguez J.A., F.J. Molina-Corral, J.F. Ayala-Zavala, G.I. Olivas y G.A. González-Aguilar. 2011. Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of 'Hass' avocado. *Food Research International* 44(5):1231-1237.
- Visioli F., C.A. De La Lastra, C. Andres-Lacueva, M. Aviram, C. Calhau, A. Cassano, M. D'Archivio, A. Faria, G. Favé y V. Fogliano. 2011. Polyphenols and human health: a prospectus. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 51(6):524-546.
- Vitaglione P., A. Napolitano y V. Fogliano. 2008. Cereal dietary fibre: a natural functional ingredient to deliver phenolic compounds into the gut. *Trends in Food Science & Technology* 19(9):451-463.

- Walton M.C., W.H. Hendriks, A.M. Broomfield y T.K. McGhie. 2009. Viscous food matrix influences absorption and excretion but not metabolism of blackcurrant anthocyanins in rats. *Journal of Food Science* 74(1):H22-H29.
- Wang S., J.P. Melnyk, R. Tsao y M.F. Marcone. 2011. How natural dietary antioxidants in fruits, vegetables and legumes promote vascular health. *Food Research International* 44(1):14-22.
- Wang T., R. Jonsdottir y G. Ólafsdóttir. 2009. Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. *Food Chemistry* 116(1):240-248.
- Wang W.B., H.C. Lai, P.R. Hsueh, R.Y.Y. Chiou, S.B. Lin y S.J. Liaw. 2006. Inhibition of swarming and virulence factor expression in *Proteus mirabilis* by resveratrol. *Journal of medical microbiology* 55(10):1313-1321.
- Weickert M.O. y A.F. Pfeiffer. 2008. Metabolic effects of dietary fiber consumption and prevention of diabetes. *The Journal of Nutrition* 138(3):439-442.
- Weinert C.H., S. Wiese, H.M. Rawel, T. Esatbeyoglu, P. Winterhalter, T. Homann y S.E. Kulling. 2012. Methylation of Catechins and Procyanidins by Rat and Human Catechol-O-Methyltransferase: metabolite profiling and molecular modeling studies. *Drug Metabolism and Disposition* 40(2):353-359.
- Winter J., L. Moore, V. Dowell Jr y V. Bokkenheuser. 1989. C-ring cleavage of flavonoids by human intestinal bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 55(5):1203-1208.
- Wu B., K. Kulkarni, S. Basu, S. Zhang y M. Hu. First-pass metabolism via UDP-glucuronosyltransferase: a barrier to oral bioavailability of phenolics. *Journal of Pharmaceutical Sciences*.
- Yahia, E. M. (2010). The contribution of fruit and vegetable consumption to human health. In E. A.-P. Laura A. de la Rosa, Gustavo A. Gonzalez-Aguilar (Ed.), *Fruit and vegetable phytochemicals - Chemistry, Nutritional value and stability*: John Wiley & Sons, 2009.
- Zhang K. y Y. Zuo. 2004. GC-MS determination of flavonoids and phenolic and benzoic acids in human plasma after consumption of cranberry juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(2):222-227.