



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EQUINOCCIAL

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERÍA E
INDUSTRIAS**

CARRERA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS

**DETERMINACIÓN DE LA BIOACCESIBILIDAD A LA
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN NARANJILLA VARIEDAD
BAEZA TRATADA CON RADIACIÓN UV-C.**

**TRABAJO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE INGENIERA DE ALIMENTOS**

ESCOBAR SALGADO KARLA PATRICIA

DIRECTORA: BIOQ. MARÍA JOSÉ ANDRADE CUVI

Quito, octubre 2017

© Universidad Tecnológica Equinoccial. 2017
Reservados todos los derechos de reproducción

FORMULARIO DE REGISTRO BIBLIOGRÁFICO
PROYECTO DE TITULACIÓN

DATOS DE CONTACTO	
CÉDULA DE IDENTIDAD:	0502509789
APELLIDO Y NOMBRES:	Escobar Salgado Karla Patricia
DIRECCIÓN:	N 73 y Av. Eloy Alfaro
EMAIL:	<u>kapes89_76@hotmail.com</u>
TELÉFONO FIJO:	(032)810333
TELÉFONO MOVIL:	0994228506

DATOS DE LA OBRA	
TÍTULO:	DETERMINACIÓN DE LA BIOACCESIBILIDAD A LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN NARANJILLA VARIEDAD BAEZA TRATADA CON RADIACIÓN UV-C.
AUTORA:	Escobar Salgado Karla Patricia

FECHA DE ENTREGA DEL PROYECTO DE TITULACIÓN:	Octubre, 2017
DIRECTORA DEL PROYECTO DE TITULACIÓN:	Bioq. María José Andrade Cuvi
PROGRAMA:	PREGRADO <input checked="" type="checkbox"/> POSGRADO <input type="checkbox"/>
TÍTULO POR EL QUE OPTA:	Ingeniera de Alimentos
RESUMEN:	<p>El objetivo fue determinar la bioaccesibilidad a la capacidad antioxidante en naranjilla variedad Baeza tratada con radiación UV-C (9.5 kJ/m²). Las muestras tratadas se almacenaron en refrigeración durante 21 días. El análisis se realizó al inicio (día 0) y al final del almacenamiento. Muestras control (sin tratamiento) y tratadas se sometieron a las diferentes etapas de digestión (masticación, gástrica duodenal y dializado) y después de cada etapa se determinó el contenido de carotenoides, fenoles totales, la capacidad antioxidante y se determinó el porcentaje de la fracción bioaccesible. Las muestras tratadas mostraron mayor contenido de carotenoides y capacidad antioxidante que los frutos control. Se puede decir que la radiación UV-C preserva los compuestos antioxidantes en naranjilla; a pesar de no encontrar diferencia significativa entre las muestras,</p>

	<p>aquellas provenientes de las naranjillas tratadas mostraron valores mayores a los controles. El porcentaje de bioaccesibilidad de carotenoides en las naranjillas tratadas mostró un incremento del 5 y 7 % (día 0 y día 21, respectivamente) en relación a las controles. La capacidad antioxidante aumentó en un 10 % en los frutos tratados en los dos tiempos de análisis. La determinación de la bioaccesibilidad mediante digestión <i>in vitro</i> permite conocer la eficacia nutricional de los productos alimenticios</p>
<p>PALABRAS CLAVE:</p>	<p>Lulo, digestión <i>in vitro</i>, fenoles totales, capacidad antioxidante, carotenoides</p>
<p>ABSTRACT:</p>	<p>The objective was to determine the bioaccessibility to the antioxidant capacity in the Baeza variety treated with UV-C radiation (9.5 kJ / m²). The treated samples were stored under refrigeration for 21 days. The analysis was performed at baseline (day 0) and at the end of storage. Control (untreated) and treated samples were subjected to different stages of digestion (chewing, gastric duodenal and dialysate) and after each stage the carotenoid content, total phenols, antioxidant capacity were determined and the percentage of fraction bioaccessible. The treated samples showed higher carotenoid content and antioxidant capacity than control fruits. It can be said that UV-C radiation preserves the antioxidant compounds in naranjilla; in spite of not finding significant difference</p>

	between the samples, those coming from the treated naranjillas showed values greater than the controls. The percentage of bioaccessibility of carotenoids in treated naranjillas showed an increase of 5 and 7% (day 0 and day 21, respectively) in relation to the controls. The antioxidant capacity increased by 10% in the fruits treated in the two analysis times. The determination of bioaccessibility through in vitro digestion allows to know the nutritional efficacy of foodstuffs
KEYWORDS:	Lulo, <i>in vitro</i> digestion, total phenols, antioxidant capacity, carotenoids

Se autoriza la publicación de este Proyecto de Titulación en el Repositorio Digital de la Institución.

f: 

Escobar Salgado Karla Patricia

0502509789

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, **ESCOBAR SALGADO KARLA PATRICIA**, CI.: 0502509789 autora del proyecto titulado: **Determinación de la bioaccesibilidad a la capacidad antioxidante en naranjilla variedad baeza tratada con radiación UV-C** previo a la obtención del título de **INGENIERA DE ALIMENTOS** en la Universidad Tecnológica Equinoccial.

1. Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tienen las Instituciones de Educación Superior, de conformidad con el Artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.
2. Autorizo a la BIBLIOTECA de la Universidad Tecnológica Equinoccial a tener una copia del referido trabajo de graduación con el propósito de generar un Repositorio que democratice la información, respetando las políticas de propiedad intelectual vigentes.

Quito, octubre del 2017.

f: 

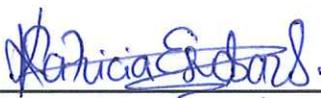
Escobar Salgado Karla Patricia

0502509789

DECLARACIÓN

Yo **KARLA PATRICIA ESCOBAR SALGADO**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Tecnológica Equinoccial puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

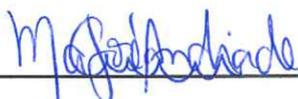


Karla Patricia Escobar Salgado.

C.I. 050250978-9

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo que lleva por título **“DETERMINACIÓN DE LA BIOACCESIBILIDAD A LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN NARANJILLA VARIEDAD *Baeza* TRATADA CON RADIACIÓN UV-C”**, que, para aspirar al título de **Ingeniera de alimentos** fue desarrollado por **Karla Patricia Escobar Salgado**, bajo mi dirección y supervisión, en la Facultad de Ciencias de la Ingeniería e Industrias; y cumple con las condiciones requeridas por el reglamento de Trabajos de Titulación artículos 19, 27 y 28.



Bioq. María José Andrade Cuvi.

DIRECTORA DEL TRABAJO

C.I. 1712338373

AGRADECIMIENTOS

A toda mi familia, han sido mi fortaleza y mi pilar fundamental de perseverancia y lucha.

A mi tío Rodrigo por enseñarme a querer la Física, a mis tías Rosita, Marilú y por supuesto a sus familias, por su presencia e incalculable amor.

A mis padres Carlos y Jenny; a mis hermanos Carlos Efraín y Jenny Alexandra por haber sido mi motivación.

A mis amigos/as, que han sido parte de mis días, risas, sonrisas, en especial a Andrés, por esta larga carrera juntos.

Gracias a cada persona que ha formado parte de mi vida, por la compañía, la alegría, los sentimientos, los problemas, el amor, el trabajo, los momentos...

DEDICATORIA

A mí amado sobrino José Julián, que simplemente con su sonrisa y ternura cambió mi vida.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	PÁGINA
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 GENERALIDADES DE LA NARANJILLA VARIEDAD BAEZA	1
1.2 TRATAMIENTO UV-C COMO TECNOLOGÍA POSCOSECHA	3
1.3 COMPUESTOS ANTIOXIDANTES	4
1.4 COMPUESTOS FENÓLICOS	4
1.5 CAROTENOIDES	5
1.6 BIOACCESIBILIDAD Y BIODISPONIBILIDAD	6
2. METODOLOGÍA	7
2.1 MUESTRA VEGETAL	7
2.2 DIGESTIÓN <i>IN VITRO</i> DE NARANJILLA	7
2.2.1 FASE DE MASTICACIÓN: CONDICIONES DE pH: CONDICIONES DE pH BÁSICO Y PRESENCIA DE A-AMILASA	7
2.2.2 FASE GÁSTRICA: CONDICIONES DE pH ÁCIDO Y PRESENCIA DE PEPSINA	7
2.2.3 FASE DUODENAL: CONDICIONES DE pH BÁSICO Y PRESENCIA / AUSENCIA DE PANCREATINA Y SALES BILIARES	8
2.2.4 FASE DE DIÁLISIS: CONDICIÓN DE pH 7	8
2.3 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	8
2.4 DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES	9
2.5 DETERMINACIÓN DE CAROTENOIDES	9
2.6 DETERMINACIÓN DE LA BIOACCESIBILIDAD	10
2.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	10

	PÁGINA
3. ANÁLISIS DE RESULTADOS	11
3.1 BIOACCESIBILIDAD DE CAROTENOIDES, FENOLES Y TOTALES CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN NARANJILLA BAEZA CON TRATAMIENTO UV-C Y CONTROL	11
3.2 PORCENTAJE DE BIOACCESIBILIDAD	13
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	17
4.1. CONCLUSIONES	17
4.2. RECOMENDACIONES	19
5. BIBLIOGRAFÍA	20
6. ANEXOS	25

ÍNDICE DE TABLAS

	PÁGINA
Tabla 1. Caracterización físico, química y nutricional de la naranjilla variedad INIAP Quitoense -2009.	3
Tabla 2. Contenido de carotenoides, fenoles totales y capacidad antioxidante durante las fases de digestión <i>in vitro</i> de naranjilla a los 0 y 21 días de almacenamiento.	11
Tabla 3. Resultados de carotenoides, fenoles totales y capacidad antioxidante de producto en fresco y fracción bioaccesible.	14
Tabla 4. Porcentaje de bioaccesibilidad de carotenoides, fenoles totales y capacidad antioxidante.	15

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINA
Figura 1. (A) Variedad Baeza, (B) Interior del fruto	2

ÍNDICE DE ANEXOS

	PÁGINA
ANEXO 1	
DETERMINACIÓN DE BIOACCESIBILIDAD	25

RESUMEN

El objetivo fue determinar la bioaccesibilidad a la capacidad antioxidante en naranjilla variedad *Baeza* tratada con radiación UV-C (9.5 kJ/m²). Las muestras tratadas se almacenaron en refrigeración durante 21 días. El análisis se realizó al inicio (día 0) y al final del almacenamiento. Muestras control (sin tratamiento) y tratadas se sometieron a las diferentes etapas de digestión (masticación, gástrica duodenal y dializado) y después de cada etapa se determinó el contenido de carotenoides, fenoles totales, la capacidad antioxidante y se determinó el porcentaje de la fracción bioaccesible. Las muestras tratadas mostraron mayor contenido de carotenoides y capacidad antioxidante que los frutos control. Se puede decir que la radiación UV-C preserva los compuestos antioxidantes en naranjilla; a pesar de no encontrar diferencia significativa entre las muestras, aquellas provenientes de las naranjillas tratadas mostraron valores mayores a los controles. El porcentaje de bioaccesibilidad de carotenoides en las naranjillas tratadas mostró un incremento del 5 y 7 % (día 0 y día 21, respectivamente) en relación a las controles. La capacidad antioxidante aumentó en un 10 % en los frutos tratados en los dos tiempos de análisis. La determinación de la bioaccesibilidad mediante digestión *in vitro* permite conocer la eficacia nutricional de los productos alimenticios

Palabras Clave: Lulo, digestión *in vitro*, fenoles totales, capacidad antioxidante, carotenoides

ABSTRACT

The objective was to determine the bioaccessibility to the antioxidant capacity in the Baeza variety treated with UV-C radiation (9.5 kJ / m²). The treated samples were stored under refrigeration for 21 days. The analysis was performed at baseline (day 0) and at the end of storage. Control (untreated) and treated samples were subjected to different stages of digestion (chewing, gastric duodenal and dialysate) and after each stage the carotenoid content, total phenols, antioxidant capacity were determined and the percentage of fraction bioaccessible. The treated samples showed higher carotenoid content and antioxidant capacity than control fruits. It can be said that UV-C radiation preserves the antioxidant compounds in naranjilla; in spite of not finding significant difference between the samples, those coming from the treated naranjillas showed values greater than the controls. The percentage of bioaccessibility of carotenoids in treated naranjillas showed an increase of 5 and 7% (day 0 and day 21, respectively) in relation to the controls. The antioxidant capacity increased by 10% in the fruits treated in the two analysis times. The determination of bioaccessibility through in vitro digestion allows to know the nutritional efficacy of foodstuffs

Keywords: Lulo, *in vitro* digestion, total phenols, antioxidant capacity, carotenoids

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

La bioaccesibilidad se define como la cantidad en que un componente del alimento se encuentra presente en el intestino, como efecto de su liberación de la matriz del alimento y de tener la capacidad de sobrepasar el tejido intestinal. Las propiedades biológicas de los antioxidantes dependen de su bioaccesibilidad y biodisponibilidad. La biodisponibilidad se define como la cantidad y velocidad a la que el principio activo llega al lugar de acción (Almeida, 2012).

La bioaccesibilidad proporciona información valiosa para matrices de alimentos que garanticen la eficacia nutricional de los productos alimenticios. En este sentido, las mediciones de bioactividad *in vitro* son usadas para respaldar los beneficios para la salud de compuestos bioactivos, los mismos que deben realizarse con una estimación de su bioaccesibilidad, para emitir adecuadamente las declaraciones de propiedades saludables además de su importancia nutricional (Fernández, Carvajal y Pérez, 2009).

Los métodos *in vitro* para la determinación de la bioaccesibilidad proporcionan una alternativa para el estudio en humanos y en animales, ya que son simples, rápidos, de bajo costo y pueden predecir la biodisponibilidad relativa en estudios de procesamiento de alimentos (Saura et al., 2007). La bioaccesibilidad intestinal se lleva a cabo utilizando un modelo de digestión *in vitro*, mediante una simulación de digestión (masticación, etapa gástrica, etapa duodenal y diálisis) simulando la absorción (Giao et al., 2012; Aura, 2005; Torres, 2011).

Se han realizado amplios estudios sobre la bioaccesibilidad a nutrientes y a tóxicos en diferentes matrices alimentarias (Denis et al, 2016; Framroze et al 2014); en cuanto a la determinación de bioaccesibilidad a compuestos antioxidantes se registran estudios en bayas, panes y trigo, entre otros (Lila et al, 2012; Hemery et al 2010; Anson et al, 2009). Los resultados permiten potenciar los beneficios nutritivos de los alimentos de manera que puedan aprovecharse en procesamientos industriales.

1.1. GENERALIDADES DE LA NARANJILLA VARIEDAD BAEZA

Los primeros registros del cultivo de la naranjilla datan a mediados de los 1600 en Ecuador y Colombia, se cultiva en franjas semitropicales zonas oriental y occidental de la cordillera de los Andes; es una fruta exótica y tiene

alto potencial de exportación, posee además altos contenidos de vitamina A y C. (Burbano y Gordon 2011; Tapia et al., 2010).

La naranjilla variedad *Baeza* (Figura 1), es un fruto esférico, achatado, color amarillo rojizo su diámetro es de 5 a 7 centímetros, posee un péndulo corto y cinco sépalos adheridos al fruto. El exterior del fruto se encuentra recubierto por una pelusa tosca es la particular característica de la planta, esta variedad es susceptible a plagas y enfermedades (Wilcaso, 2007); en su interior, presenta cuatro divisiones membranosas, en donde se encuentra la pulpa de la fruta, posee un color amarillento verdoso y pequeñas semillas (Burbano y Gordon 2011).



Figura 1. (A) Variedad Baeza, (B) Interior del fruto

(Tapia et al., 2010).

Las variedades: agria, Baeza dulce y espinosa, son variedades altamente susceptibles a plagas y enfermedades; los cultivos híbridos: Puyo, Palora, Mera y la variedad INIAP Quitoense-2009 que fue creada por el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias INIAP, en su Programa de Fruticultura en el cual desarrolló un plan de mejoramiento de la naranjilla, y purificó una nueva variedad de naranjilla, misma que se origina a partir de una selección de la variedad *Baeza*, mediante varios ensayos realizados entre los años 2008 y 2009. Esta variedad es más resistente al ataque de enfermedades y plagas; tiene altos niveles de productividad, además de propiedades de calidad incrementan el consumo de la fruta (Revelo et al., 2010; Tapia et al., 2010; Tapia y Zambrano, 2008).

En la (Tabla 1) se detalla los compuestos nutricionales y caracterización físico química de la naranjilla.

La naranjilla es una fruta considerada altamente perecible, según Forero et al. (2014) por ser una fruta climatérica debe cosecharse en madurez fisiológica (pintón) para que alcance su madurez comercial durante la poscosecha, la fruta cosechada con pedúnculo se conserva en temperatura ambiente por 8 días, y puede extender su periodo de 3 a 5 días más dependiendo las características de almacenamiento y manipulación (Mejía et al., 2014; Damodaran, Parkin, y Fennema, 2010).

Tabla 1. Caracterización físico, química y nutricional de la naranjilla variedad INIAP Quitoense -2009.

Componente:	Promedio:
Humedad (%)	90.46
pH (adimensional)	3.00
Acidez titulable (% ácido cítrico)	2.56
Sólidos solubles (°Brix)	10.80
Peso del fruto (g)	109.50
Largo del fruto (cm)	58.60
Diámetro (cm)	55.60
Pulpa (%)	58.80
Corteza (%)	24.70
Semilla (%)	16.40
Color de pulpa	Verde
Cenizas (%)	0.59
Proteína (%)	0.64
Fibra (%)	0.46
Carbohidratos totales (%)	7.74
Azúcares totales (%)	4.62
Azúcares reductores (%)	2.40
Vitamina C (mg/100g)	53.33
Polifenoles totales (mg/g)	0.81
Carotenoides totales (µg/g)	1.27
Calcio (µg/g)	48
Magnesio (µg/g)	124
Fósforo (µg/g)	95
Potasio (µg/g)	3.09
Sodio (µg/g)	5
Hierro (µg/g)	1
Zinc (µg/g)	2

(INIAP, 2011; Revelo et al., 2010).

1.2 TRATAMIENTO UV-C COMO TECNOLOGÍA POSCOSECHA

Se estiman pérdidas poscosecha del 50 % en algunas frutas tropicales producidas por reacciones de pardeamiento enzimático (Yildiz, 2009). La intensidad del pardeamiento enzimático durante la poscosecha y procesamiento hortofrutícola depende de factores como: la especie, variedad, madurez, naturaleza y contenido de sustratos fenólicos, la actividad de las enzimas endógenas (Samaniego, 2014).

La irradiación UV en la industria alimenticia se aplica por el poder germicida, la misma que provoca un efecto letal al aplicar una dosis de entre 0.5 a 20 J/m² causa daño en el ADN del microorganismo, evitando su reproducción y provocando la vulnerabilidad al medio. Se ha comprobado que la radiación UV-C incrementa el contenido de compuestos con actividad antioxidante, sin embargo, no se conoce la fracción que realmente es absorbida por el cuerpo humano (Rivera et al., 2007).

1.3 COMPUESTOS ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes son compuestos abundantes que se encuentran principalmente en las frutas y hortalizas frescas, posee evidencia de su papel en la prevención de enfermedades degenerativas. Los antioxidantes de frutas se mezclan comúnmente con diferentes macromoléculas tales como carbohidratos, lípidos y proteínas para formar una matriz alimentaria. Estudios previos han revisado la evidencia que indica que la microestructura del alimento afecta la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de varios nutrientes, refiriéndose principalmente a antioxidantes (Parada y Aguilera, 2007).

Según la solubilidad de los antioxidantes, se clasifican en dos grupos: hidrosolubles y liposolubles. Los hidrosolubles, principalmente son la vitamina C y compuestos fenólicos, actúan en el citoplasma celular y el plasma sanguíneo; los liposolubles, destacan la vitamina E y los carotenoides que intervienen en la auto oxidación lipídica de las membranas celulares (Fernández, 2015).

Los antioxidantes a menudo se encuentran en compartimentos celulares naturales, los mismos que necesitan ser liberados durante la digestión para que puedan ser absorbidos en el intestino (Parada y Aguilera 2007). Los compuestos antioxidantes deben ser primero extraídos para ser bioaccesibles y luego potencialmente biodisponibles (Tagliacruzchi, Verzelloni, Bertolini y Conte, 2009).

1.4 COMPUESTOS FENÓLICOS

Los compuestos fenólicos participan como antioxidantes naturales en los alimentos, químicamente los fenoles se los puede definir como compuestos que tienen un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo, además sus derivados funcionales. Se dividen en tres grupos importantes: ácidos fenólicos, polifenoles y flavonoides (Palafox, Ayala y González, 2011).

Los compuestos fenólicos son uno de los principales metabolitos secundarios de las plantas y su presencia en el reino animal se debe a la ingestión de los mismos. Estas sustancias influyen en la calidad, aceptabilidad y estabilidad de los alimentos, ya que actúan como colorantes, antioxidantes y proporcionan sabor, tienen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas, lo más destacable de los compuestos fenólicos son sus propiedades antioxidantes. Además, estos compuestos poseen la característica de ser susceptibles a ser oxidados y evitan que los metales catalicen las reacciones de oxidación (Martínez, 2016).

La naranjilla se destaca por un alto contenido de compuestos fenólicos (Gancel et al., 2008). Según, Acosta et al., (2009), el contenido fenólico en naranjilla que proveniente del Ecuador es de 91 ± 17 mg de ácido gálico equivalentes por cada 100 gramos de fruta fresca.

1.5 CAROTENOIDES

Los carotenoides son precursores de la vitamina A, en la naranjilla se encuentra un contenido de 33.3 ± 0.6 $\mu\text{g/g}$ en el fruto fresco entero y 7.2 ± 0.3 $\mu\text{g/g}$ en la pulpa fresca (Acosta et al., 2009).

Los carotenoides que se encuentran en mayor cantidad en la naranjilla son el β -caroteno con 58.4 %, la luteína con el 32.2 % y zeaxantina con un porcentaje de 3.2 % del total de carotenoides (Acosta et al., 2009).

En frutas de coloración amarilla como la naranja, zanahoria o el tomate, se encuentran de forma cristalina, en frutas como el mango y la papaya se hallan solubilizados en la fracción de solución grasa de la fruta. Parece ser que los carotenoides que se encuentran unidos a proteínas o formando cristales se absorben en menor cantidad, en cambio los carotenoides que se encuentran en la matriz disueltos en gotas lipídicas son fácilmente absorbidos (Yahia y Ornelas, 2009). Generalmente, los carotenoides se concentran más en la piel que en la pulpa de la fruta.

La homogeneización y el tratamiento térmico producen una ruptura de la estructura celular de la matriz y este hecho favorece la liberación los carotenoides (Fielding et al., 2005)

El grado de madurez, el tipo de matriz alimentaria, la presencia e interacción de otros componentes y el procesado del alimento determinan en gran parte la cantidad de carotenoides que se absorbe, es decir, la bioaccesibilidad y por consiguiente la biodisponibilidad (Fernández, 2015).

1.6 BIOACCESIBILIDAD Y BIODISPONIBILIDAD

La bioaccesibilidad se define como la cantidad en que un componente del alimento se encuentra presente en el intestino, como efecto de su liberación de la matriz del alimento, y de tener la capacidad de sobrepasar el tejido intestinal. Las propiedades biológicas de los antioxidantes dependen de su bioaccesibilidad y biodisponibilidad (Almeida, 2012).

Muchos factores pueden influir en la biodisponibilidad de un compuesto. El concepto de biodisponibilidad incorpora: bioaccesibilidad, absorción, distribución tisular y bioactividad.

El término "bioaccesibilidad" es un concepto clave para determinar la eficiencia nutricional de los alimentos y la fórmula alimentaria desarrollada con el objetivo de mejorar la salud humana. Se describe la aplicación de la evaluación de la bioaccesibilidad en los alimentos que demandan un beneficio para la salud debido a sus nutrientes o contenido de compuestos bioactivos. La medición de la bioaccesibilidad, proporciona información valiosa para seleccionar la dosis adecuada y fuente de matrices de alimentos para garantizar la eficacia nutricional de los productos alimenticios (Fernández et al., 2009).

Aunque la biodisponibilidad y la bioaccesibilidad a menudo se utilizan indistintamente, es importante señalar que la biodisponibilidad incluye la bioactividad. La biodisponibilidad es la clave de la eficiencia nutricional de la ingesta total de alimentos, se asimila una cantidad inferior y se utiliza para almacenamiento y funciones metabólicas. La bioaccesibilidad durante la ingestión de alimentos da lugar a la transformación en material potencialmente bioaccesible; absorción y asimilación a través del tejido epitelial. La bioactividad, en cambio, da lugar a los eventos durante la interacción con las moléculas biológicas; respuesta fisiológica transporte y asimilación por el tejido objetivo; el compuesto bioactivo se transporta y alcanza el tejido objetivo, interactúa con las biomoléculas, sufre una biotransformación, genera un biomarcador y provoca una respuesta fisiológica (Fernández et al., 2009).

El objetivo principal del presente estudio fue determinar la bioaccesibilidad a la capacidad antioxidante en naranjilla variedad *Baeza* tratada con radiación UV-C, mediante digestión *in vitro*. Se estableció como objetivo específico: determinar la bioaccesibilidad de carotenoides, fenoles totales y la capacidad antioxidante en naranjilla.

2. METODOLOGÍA

2. METODOLOGÍA

2.1 MUESTRA VEGETAL

Se compararon dos muestras de naranjilla (variedad *Baeza*) liofilizada: control (sin tratamiento UV-C) y con tratamiento de radiación UV-C (9.5 kJ/m²). Los análisis se realizaron al inicio (día 0) y al final del almacenamiento refrigerado (día 21). La dosis de radiación UV-C y el tiempo de almacenamiento se determinaron en trabajos experimentales anteriores.

2.2 DIGESTIÓN *IN VITRO* DE NARANJILLA

2.2.1 FASE DE MASTICACIÓN: CONDICIONES DE pH: CONDICIONES DE pH BÁSICO Y PRESENCIA DE A-AMILASA.

Se adicionó 2 g de muestra de naranjilla liofilizada en un matraz Erlenmeyer, se incorporó 6 mL de fluido salival simulado (FSS) en una relación de 3:1 FSS y muestra, respectivamente. El FSS está compuesto de 1 mg/volumen de α -amilasa diluida en una solución con 2.38 g de Na₂HPO₄, 0.19 g de KH₂PO₄ y 8 g NaCl en 100 ml de agua destilada. El pH de la mezcla se ajustó entre 5.6 y 6.9. Se incubó la preparación en la estufa a 37 °C por 2.5 min con agitación de 200 rpm (Giao et al., 2012).

2.2.2 FASE GÁSTRICA: CONDICIONES DE pH ÁCIDO Y PRESENCIA DE PEPSINA

Se añadió a la fase de masticación el fluido gástrico simulado (FGS), que se elaboró con 0.3 mL de pepsina porcina en 0.0075 mg de suero salino al 0.9 % (p/v), según relación 0.1:1 de FGS y muestra, respectivamente. La preparación fue llevada a incubación en estufa a 37 °C con agitación de 130 rpm, durante 30 minutos el proceso se realizó en ausencia de luz (Aura, 2005).

2.2.3 FASE DUODENAL: CONDICIONES DE pH BÁSICO Y PRESENCIA/AUSENCIA DE PANCREATINA Y SALES BILIARES

A la preparación anterior se adicionó el fluido intestinal simulado (FIS), preparado con pancreatina (2 g/L) y sales biliares (12 g/L) en 6 mL de NaHCO_3 0.1 M, en relación de 0.5:1 (0.5 mL de FIS por cada mL de digerido gástrico). El pH se ajustó a 6.0 con NaHCO_3 1 M, la preparación fue llevada a incubación a 37 °C, con agitación de 45 rpm, durante 60 min en ausencia de luz (Giao et al., 2012).

2.2.4 FASE DE DIÁLISIS: CONDICIÓN DE pH 7

El digerido duodenal fue sometido a dializado, se usó una membrana de diálisis de 25 mm de ancho (plano) y un tamaño de poro de 12.000 Da, esta membrana fue sumergida en una solución preparada con 2.38 g de Na_2HPO_4 , 0.19 g de KH_2PO_4 y 8 g NaCl en 100 mL de agua destilada. La fracción bioaccesible de este proceso se determinó a aquella que sobrepasó la membrana de diálisis, después de 8 horas (Torres, 2011).

Al finalizar cada etapa de digestión se tomaron muestras para los posteriores análisis, las mismas que fueron centrifugadas con una agitación de 4000 rpm a 4 °C, durante 30 min, posteriormente fueron sometidas a filtración. Las muestras tomadas fueron separadas en dos partes: a la primera se añadió 5 mL de etanol y se almacenó en congelación a -20 °C para análisis de capacidad antioxidante y fenoles totales; la segunda muestra se reservó en almacenamiento a la misma temperatura para análisis de carotenoides.

2.3 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

El radical $\text{ABTS}^{\cdot+}$ se consiguió al llevar a cabo la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato potásico (2.45 mM) a temperatura ambiente, en ausencia de luz por 16 h. En el radical $\text{ABTS}^{\cdot+}$ se diluyó etanol hasta una absorbancia aproximadamente de 0.7 (\pm 0.005), la longitud de onda a la cual se midió la absorbancia fue 734 nm (se denominó blanco).

Las muestras de cada etapa (extracto etanólico), se diluyeron hasta lograr una inhibición del 20 al 80 % en comparación de la absorbancia del blanco. Primero se adicionó los extractos, seguido se colocó 1000 μL de $\text{ABTS}^{\cdot+}$ se obtuvo un volumen final de reacción de 1030 μL . La preparación s

homogenizó con un vortex, luego se dejó reposar por 6 minutos a temperatura ambiente para finalmente obtener la lectura de mediciones. Se utilizó Trolox como antioxidante sintético de referencia, a una concentración de 0.5 mM en etanol. Los resultados se expresaron en μmol equivalente a Trolox/g tejido (base seca). El ensayo se realizó por triplicado, según la metodología de Re et al. (1999).

2.4 DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES

El proceso se llevó a cabo mediante una reacción colorimétrica de óxido-reducción según el método descrito por Singleton et al., (1965). El reactivo de Folin-Ciocalteu se usó como agente oxidante. Se colocó en un tubo de ensayo una muestra de extracto de 60 μL el mismo que contenía 1740 μL de agua destilada; se añadió 200 μL de Folin-Ciocalteu diluido en agua destilada (1:1); la preparación fue homogenizada y protegida de la luz, se dejó en reposo durante 3 minutos a temperatura ambiente. Se añadió 400 μL de una solución de Na_2CO_3 al 20 % m/v en NaOH 0.1 N y se homogenizó. El volumen final de reacción fue de 2400 μL . Se dejó reposar por 60 min para luego medir la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro. La concentración de fenoles totales fue determinada empleando una curva de calibración, se utilizó como antioxidante de referencia la catequina de 20 a 140 μL en volumen final de reacción. Los resultados se expresaron como μg equivalente de catequina/g. tejido. El ensayo se realizó por triplicado.

2.5 DETERMINACIÓN DE CAROTENOIDES

Se determinó según la metodología de Massolo, (2015). Se preparó una solución de hexano, acetona y etanol en relación de (2:1:1) respectivamente, se añadió 1 mL de muestra en un tubo Falcon, se incorporó 5 mL de la preparación de hexano al tubo, se agitó la mezcla durante 1 min con un vortex.

Se añadió 1 mL de agua destilada de esta manera se obtuvo la separación de fases. Se retiró la fase superior y se midió la absorbancia a una longitud de onda de 454 nm en el espectrofotómetro. La medición se realizó por triplicado. Los resultados fueron expresados en g equivalente de cianidina / kg de tejido.

2.6 DETERMINACIÓN DE LA BIOACCESIBILIDAD

La cuantificación de la fracción soluble (bioaccesible) de los compuestos fenólicos, carotenoides y capacidad antioxidante se obtuvo según la ecuación 1 (Zaccari, 2010):

$$\text{Bioaccesibilidad (\%)} = (X / Y) \times 100\% \quad [1]$$

Donde:

X: El contenido del componente después de la ingesta (mg)

Y: El contenido del componente en producto fresco (en base seca) (mg)

Los resultados obtenidos se reportaron en porcentaje, a partir de los datos obtenidos después de la diálisis y valores iniciales de cuantificación de carotenoides, fenoles totales y capacidad antioxidante de naranjilla fresca obtenidos de un trabajo de investigación según Llerena, (2014).

2.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El diseño experimental que se utilizó fue $A \times B \times C$, mediante análisis de varianza. Las variables independientes fueron la etapa de la digestión, el tratamiento (radiación UV-C con dosis de 9.5 kJ/m^2 y control) y los días de almacenamiento (0 y 21); las variables dependientes fueron la capacidad antioxidante, el contenido de carotenoides y el contenido de fenoles totales. Se realizó la comparación de las medias con la prueba de Tukey; los datos obtenidos fueron analizados en el programa estadístico Infostat versión 2016, con un nivel de significancia de 0.05.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 BIOACCESIBILIDAD DE CAROTENOIDES, FENOLES TOTALES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN NARANJILLA BAEZA CON TRATAMIENTO UV-C Y CONTROL.

Las muestras liofilizadas de naranjilla variedad *Baeza* tratadas con radiación UV-C (9.5 kJ/m²) y no irradiadas (control) fueron sometidas al proceso de digestión *in vitro*. En las etapas de masticación, gástrica, duodenal y luego del proceso de dializado (fracción bioaccesible) se determinó el contenido de carotenoides, fenoles totales y la capacidad antioxidante (Tabla 2).

Tabla 2. Contenido de carotenoides, fenoles totales y capacidad antioxidante durante las fases de digestión *in vitro* de naranjilla a los 0 y 21 días de almacenamiento.

Parámetro	Día	Muestra	Fase de digestión <i>in vitro</i>			
			Masticación	Gástrica	Duodenal	Fracción bioaccesible
Carotenoides (g equivalente cianidina/kg de tejido) (base seca)	0	C	27.31 ^e	50.93 ^{bcd}	62.28 ^{ab}	4.80 ^{fg}
		T	33.01 ^e	54.90 ^{abcd}	65.11 ^a	5.76 ^{fg}
	21	C	24.10 ^{ef}	45.14 ^d	55.59 ^{abcd}	3.98 ^g
		T	27.76 ^e	47.92 ^{cd}	59.22 ^{abc}	5.34 ^{fg}
Fenoles totales (mg equivalente catequina/g de tejido) (base seca)	0	C	1.11 ^{ab}	0.92 ^d	0.38 ^g	0.10 ^h
		T	1.19 ^a	0.98 ^{cd}	0.46 ^g	0.11 ^h
	21	C	0.95 ^{cd}	0.72 ^e	0.46 ^g	0.089 ^h
		T	1.04 ^{bc}	0.76 ^e	0.60 ^f	0.089 ^h
Capacidad antioxidante (μM equivalente Trolox /g de tejido) (base seca)	0	C	491.9 ^f	563.8 ^{de}	737.3 ^{bc}	43.2 ^g
		T	539.3 ^{ef}	586.5 ^{de}	765.4 ^{ab}	76.5 ^g
	21	C	536.7 ^{ef}	595.3 ^{de}	722.2 ^{bc}	51.6 ^g
		T	588.4 ^{de}	658.7 ^{cd}	830.0 ^a	60.0 ^g

Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos ($p < 0.05$) para la prueba de Tukey

C= muestras control

T= muestras tratadas (9.5 kJ/m²)

Al realizar la cuantificación de carotenoides, se determinó la mayor cantidad de estos compuestos en la fase duodenal de la digestión *in vitro*, ya que la parte principal del metabolismo del carotenoide ocurre en el intestino delgado donde también se disuelven en los lípidos dietéticos antes de que puedan ser absorbidos (Parada y Aguilera 2007).

En el día 21 de almacenamiento (en todas las fases de digestión) se encontró menor contenido de carotenoides en relación al día 0; resultados similares fueron presentados por González et al., (2008). Esta diferencia puede estar relacionada con la sensibilidad de los carotenoides frente factores como la luz, calor, oxígeno y acidez; estos factores reducen el valor nutricional de alimentos ricos en carotenoides, según Osuna et al., (2011) quedando menor cantidad para que sea bioaccesible.

Por otro lado, el grado de madurez en el caso de las frutas, el tipo de matriz alimentaria, la presencia e interacción de otros componentes y el procesado del alimento determinan en gran parte la cantidad de carotenoides que se absorbe, es decir, la bioaccesibilidad y por consiguiente su biodisponibilidad (Fernández, 2015).

En cuanto al contenido de fenoles totales, en cada fase de la digestión las muestras tratadas con radiación UV-C (9.5 kJ/m^2) presentaron mayor contenido de fenoles totales. Esto podría estar relacionado con lo propuesto por Massolo et al., (2011) quienes aseguran que la radiación UV-C como tratamiento poscosecha induce la síntesis de fenoles totales.

El mayor contenido de fenoles totales se encuentra en las muestras tratadas (al inicio del almacenamiento, día 0) de la fase de masticación y fase gástrica. Se ha demostrado que el estómago constituye un sitio activo de absorción de numerosos ácidos fenólicos; este hecho explica la rápida absorción de estos compuestos que oscila entre 1 a 2 horas después de la ingesta de frutas y verduras (Lafay y Gil, 2008); la acción de masticación provoca la descomposición de las células y liberación de los compuestos fenólicos contenidos en las vacuolas y los ligados débilmente a la pared celular. Los polifenoles ligados más estrechamente a la pared celular, especialmente en las células de la piel, se liberan durante la fase digestiva gastro-pancreática como consecuencia del medio ácido del estómago y del medio alcalino del intestino (Tagliacruz et al., 2009; Del Río et al., 2009).

Se determinó que el contenido de fenoles totales es bajo, esto debido a que tan solo una porción menor de compuestos fenólicos de bajo peso molecular (monómeros u oligómeros) son capaces de atravesar la pared intestinal hacia el intestino delgado (Palafox, Ayala y González, 2011).

En la determinación de la capacidad antioxidante de las diferentes fracciones de cada fase de la digestión se pudo observar que las muestras provenientes de naranjilla tratada con radiación UV-C presentan mayores valores que los controles. Esta relación se mantiene tanto en el día 0 como en el día 21 de almacenamiento. La concentración de antioxidantes puede cambiar en una matriz alimentaria por la aplicación de tratamientos y tecnologías como temperatura, refrigeración, atmósferas modificadas, radiación UV-C, entre otras, así como en el tiempo de almacenamiento (Haro y Guerrero, 2013). Es importante resaltar que la aplicación de la radiación UV-C como tecnología permite preservar la concentración de compuestos que aportan a la capacidad antioxidante, es decir, que la degradación de compuestos antioxidantes en naranjilla tratada es menor que en los frutos no tratados.

La fracción bioaccesible (posterior al dializado) fue mayor en las muestras tratadas que las muestras control tanto al inicio como al final del almacenamiento, en cuanto al contenido de carotenos como en la capacidad antioxidante. El contenido de fenoles totales no mostró diferencia entre tiempo de almacenamiento y tampoco entre tratamiento. En esta etapa pudo influir la porosidad de la membrana, evitando la absorción de los polifenoles en el intestino delgado (Quiñones et al., 2012). Estudios previos han comprobado que la microestructura del alimento afecta la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de varios nutrientes, refiriéndose principalmente a compuestos antioxidantes (Parada y Aguilera 2007).

3.2 PORCENTAJE DE BIOACCESIBILIDAD

La determinación del porcentaje de bioaccesibilidad indica la concentración que supera las barreras de pH y temperatura, sería la fracción que se absorbería en el intestino. En la (Tabla 3), se reporta los porcentajes de bioaccesibilidad de carotenoides, fenoles totales y capacidad antioxidante; en muestras sin tratamiento (control) y tratadas; en los días de almacenamiento 0 y 21.

Tabla 3. Resultados de carotenoides, fenoles totales y capacidad antioxidante de producto fresco y fracción bioaccesible.

Parámetro	Día	Muestra	Estado de muestra	Resultado
Carotenoides μg equivalente cianidina/kg de tejido (base seca)	0	Control	Producto Fresco	17
			Fracción bioaccesible	4.80
		Tratadas	Producto Fresco	16.20
			Fracción bioaccesible	5.76
	21	Control	Producto Fresco	13
			Fracción bioaccesible	3.98
		Tratadas	Producto Fresco	15
			Fracción bioaccesible	5.34
Fenoles totales μg equivalente catequina/g tejido (base seca)	0	Control	Producto Fresco	379
			Fracción bioaccesible	89
		Tratadas	Producto Fresco	377
			Fracción bioaccesible	108
	21	Control	Producto Fresco	366
			Fracción bioaccesible	89
		Tratadas	Producto Fresco	365
			Fracción bioaccesible	89
Capacidad antioxidante μM equivalente Trolox/g tejido (base seca)	0	Control	Producto Fresco	350
			Fracción bioaccesible	43.2
		Tratadas	Producto Fresco	340
			Fracción bioaccesible	76.5
	21	Control	Producto Fresco	260
			Fracción bioaccesible	51.6
		Tratadas	Producto Fresco	200
			Fracción bioaccesible	60.7

Tabla 4. Porcentaje de bioaccesibilidad de carotenoides, fenoles totales y capacidad antioxidante.

Bioaccesibilidad de (%)						
	Carotenoides		Fenoles totales		Capacidad antioxidante	
Día	Control	Tratadas	Control	Tratadas	Control	Tratadas
0	28.2	35.6	23.5	28.6	12.3	22.5
21	30.6	35.6	24.3	24.4	19.8	30.4

El análisis se realizó desde dos puntos de vista, en primer lugar la variación de los compuestos en el tiempo de almacenamiento y en segundo lugar el efecto del tratamiento UV-C sobre su bioaccesibilidad.

El porcentaje de bioaccesibilidad (referente al almacenamiento) de carotenoides y fenoles totales no varió ya que se obtuvieron valores similares en ambos casos. Por otra parte a capacidad antioxidante obtuvo un incremento del (7 y 8 %) para las muestras control y tratadas, respectivamente, el día 21 obtuvo mayor porcentaje en relación al día 0.

En cuanto al efecto del tratamiento poscosecha sobre el porcentaje de bioaccesibilidad de carotenoides se encontró un incremento del (7 y 5 %) (día 0 y día 21, respectivamente) en relación a las muestras control. A diferencia del contenido de fenoles totales, en el que únicamente en el día 0 se encontró un incremento del 5 % en las muestras tratadas en tanto que en el día 21 el porcentaje de bioaccesibilidad es similar en las dos muestras. Por otro lado, la capacidad antioxidante se vio aumentada aproximadamente en un 10 % en los frutos tratados en los dos tiempos de análisis.

Esta diferencia en los resultados puede deberse a diferentes causas, por ejemplo, en caso de los carotenoides, son compuestos hidrófobos y su absorción depende de la liberación eficiente de la matriz alimenticia y posterior solubilización por ácidos biliares y enzimas digestivas, culminando en su incorporación en micelas. Los carotenoides están disociados de su ambiente nativo en el tejido vegetal durante el procesamiento de los alimentos y la digestión (condiciones ácidas e hidrólisis enzimática) en el estómago. Además, los carotenoides también deben ser liberados de su ambiente nativo durante la masticación, donde las fuerzas mecánicas y las enzimas salivales alteran los tejidos y los compartimentos celulares. Como se mencionó anteriormente la parte principal del metabolismo de los carotenoides ocurre en el intestino delgado donde también se deben disolver en los lípidos dietéticos antes de que puedan ser absorbidos (Parada y Aguilera 2007).

El principal factor que afecta al contenido de carotenoides en frutas y hortalizas es el proceso de maduración. La maduración de un fruto es un proceso que va acompañado de cambios físicos y metabólicos. Durante este proceso el contenido del caroteno puede aumentar en sólo 20 días. Por otra parte, el tipo de matriz alimentaria, el procesado y las interacciones durante la digestión y absorción con otros compuestos de la dieta, pueden alterar la cantidad de carotenoides que se liberan de la matriz del alimento y consecuentemente modificar la bioaccesibilidad de los carotenoides presentes en el alimento (Arranz et al., 2015).

En relación a los compuestos fenólicos, Lafay y Gil (2008) argumentan que la mayoría de los polifenoles, como los flavonoides, se absorben en el intestino después del consumo de alimentos y bebidas y pueden pasar a través de la pared del intestino hacia el torrente sanguíneo, para que se produzca la absorción de los flavonoides en el intestino delgado, primero deben eliminarse los azúcares (glucósidos); este proceso está controlado por la acción de enzimas fabricadas en el intestino delgado (por ejemplo, β -glucosidasa), (Denny y Buttriss, 2007). Sólo una porción menor de compuestos fenólicos de bajo peso molecular (monómeros u oligómeros) son capaces de atravesar la pared intestinal hacia el intestino delgado. Los compuestos fenólicos de bajo peso molecular no absorbidos y los polifenoles asociados con la fibra dietética, que representan una parte importante de los polifenoles dietéticos, no están biodisponibles en el intestino superior humano y llegan al colon, donde se convierten en sustratos fermentables para la microflora bacteriana junto con carbohidratos y proteínas indigeribles (Palafox, Ayala y González, 2011).

Los ácidos fenólicos en forma de aglicona se absorben generalmente en la parte superior del tracto gastrointestinal (Saura et al., 2007). El estómago constituye un sitio activo de absorción de numerosos ácidos fenólicos, ya que los ácidos gálico, caféico, ferúlico, cumárico y también clorogénico pueden ser absorbidos por el estómago; este hecho explica la rápida absorción de estos compuestos que oscila entre 1 a 2 horas después de la ingesta de frutas y verduras (Lafay y Gil, 2008).

Por otro lado, Cienfuegos et al., (2009), mencionan que la capacidad antioxidante varía según diferentes parámetros como los factores de manufactura, el manejo poscosecha e incluso la variedad botánica; además la capacidad antioxidante de una mezcla, depende del microambiente en el cual se encuentra el compuesto, no depende solamente de las capacidades antioxidantes de cada componente. Como se mencionó en la sección anterior de la estabilidad de los compuestos con actividad antioxidante dependerá la capacidad antioxidante global cuantificada por el método utilizado. Debe tomarse en cuenta que compuestos como el ácido ascórbico y dehidroascórbico también aportan a la capacidad antioxidantes.

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

- Las muestras de naranjilla tratadas con radiación UV-C (9.5 kJ/m^2) mostraron mayor contenido de carotenoides, capacidad antioxidante y fenoles totales que las muestras control esto puede deberse a que la radiación UV-C incrementa el contenido de compuestos con actividad antioxidante.
- La bioaccesibilidad de fenoles totales incrementó los valores en las fases de masticación y gástrica en las muestras tratadas en el día 0, este resultado se le atribuye que el estomago constituye un sitio activo de absorción de los ácidos fenólicos, además solo una parte reducida de compuestos fenólicos de bajo peso molecular son capaces de atravesar la pared intestinal hacia el intestino delgado.
- La bioaccesibilidad de carotenoides presentó mayores valores en la fase de digestión duodenal, esto se debe a que la parte principal del metabolismo del carotenoide ocurre en el intestino delgado, además en relación con el almacenamiento se obtuvo mayores valores en el día de almacenamiento 0, este resultado puede estar relacionado con la sensibilidad que tiene los carotenoides frente a factores como la luz, calor y oxígeno.
- La bioaccesibilidad a la capacidad antioxidante presentó mayores resultados en la fase duodenal, en las muestras tratadas, en el día 21 estos resultados son debido a que la radiación UV-C como tecnología favorece a la preservación de la concentración en compuestos que aportan a la capacidad antioxidante.
- El porcentaje de bioaccesibilidad de carotenoides mostró un incremento del (7 y 5 %) en los días 0 y 21, respectivamente en relación con las muestras control.

- El porcentaje de bioaccesibilidad de fenoles totales, reportó que únicamente en el día 0 se encontró un incremento del 5 % en las muestras tratadas; en tanto que en el día 21 el porcentaje de bioaccesibilidad es similar en las dos muestras.
- El porcentaje de bioaccesibilidad a la capacidad antioxidante aumentó aproximadamente en un 10 % en las muestras tratadas en los diferentes días de almacenamiento.

4.2 RECOMENDACIONES

- Comparar, los resultados *in vitro*, con resultados *in vivo*, puesto que siempre serán una aproximación de los estudios en humanos, dado que no se pueden controlar todos los factores que influyen dentro de la digestión humana.
- Utilizar compuestos antioxidantes naturales, como una posible alternativa para reemplazar los antioxidantes sintéticos de la industria alimentaria.

5. BIBLIOGRAFÍA

5. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta Ó., Pérez A.M., Vaillant F. (2009). Chemical characterization, antioxidant properties, and volatile constituents of naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) cultivated in Costa Rica. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. Organo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición
- Anson, N., Berg, R., Havenaar, R., Bast, A., Haenen, G. (2008). Bioavailability of ferulic acid is determined by its bioaccessibility. *Journal of Cereal Science* <http://www.sciencedirect.com/sci-hub.bz/science/article/pii/S0733521008001963>
- Almeida Gudiño, F. J. (2012). Extracción y Caracterización del colorante natural del maíz negro (*Zea mays* L.) y Determinación de su Actividad Antioxidante. *Tesis*, 147.
- Arranz, Sara et al. (2015). "Influence of Olive Oil on Carotenoid Absorption from Tomato Juice and Effects on Postprandial Lipemia." *Food chemistry* 168: 203 –10.
- Aura, A. M. (2005). In vitro digestion models for dietary phenolic compounds *VTT Biotechnology* (575).
- Burbano, M., Gordón, E., (2011). Exportación de naranjilla deshidratada a Colombia. Recuperado desde: <http://repositorio.uide.edu.ec/bitstream/37000/113/4/T-UIDE-0874.pdf>
- Cienfuegos, J., Del Ma, Q., Muguera, B., Moulay, L. (2009). Antihypertensive effect of a polyphenol-rich cocoa powder industrially processed to preserve the original flavonoids of the cocoa beans. *J. Agric. Food Chem. Madrid, España*. 57 (14):6156-6162.
- Damodaran, S., Parkin, K. L., y Fennema, O. R. (2010). *Fennema de los Alimentos*. Tercera Edición. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A.
- Denis, S., Sayd, T., Georges, A., Chambon, C., Chalancon, S., Sante-Lhoutellier, V., Blanquet-Diot, S. (2016). Digestion of cooked meat proteins is slightly affected by age as assessed using the dynamic gastrointestinal TIM model and mass spectrometry. *Food Function* 7 (6): 2682-2691.
- Denny A, Buttriss J. (2007). Plant foods and health: focus on plant bioactives. European Food Information Resource (EuroFIR) Consortium. Funded under the EU 6th Framework Food Quality and Safety Thematic Priority. Contract FOOD-CT-2005-513944.

- Fernández-García, E., Carvajal-Lérída, I., y Pérez-Gálvez, A. (2009). In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. *Nutrition Research*, 29(11), 751–760. <http://doi.org/10.1016/j.nutres.2009.09.016>
- Fernández, S. (2015). Determinació de la bioaccessibilitat 'in vitro' dels carotenoides del tomà quet: efecte del grau de maduresa i de l'addició de lípids Universitat de Lleida Facultat de Medicina Grau en Nutrició Humana i Dietètica
- Fielding, J.M, K.G Rowley, P Cooper, and K O'Dea. (2005). "Increases in Plasma Lycopene Concentration after Consumption of Tomatoes Cooked with Olive Oil." *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 14(2): 131 –36.
- Framroze, B., Savard, P., Gagnon, D., Richard, V., Gauthier, S.F. (2014). Comparison of nitrogen bioaccessibility from salmon and whey protein hydrolysates using a human gastrointestinal model (TIM-1). *Func. Foods Health Dis.* 4 (5): 222-231.
- Forero, D., Orrego, C., Peterson, D., Osorio, C. (2014). Chemical and sensory comparison of fresh and dried lulo (*Solanum quitoense* Lam.) fruit aroma. Recuperado desde: <http://www.sciencedirect.com/sci-hub.bz/science/article/pii/S0308814614011595>
- Gancel, A., Ruales, J., Vaillant, F.(2008).Identifying Carotenoids and Phenolic Compounds In Naranjilla (*Solanum quitoense* Lam. Var. Puyo Hybrid), an Andean Fruit. Recuperado desde: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf80151>
- Giao, M. S., Gomes, S., Madureira, A. R., Faria, A., Pestana, D., Calhau, C. y Malcata, X. F. (2012). Effect of in vitro digestion upon the antioxidant capacity of aqueous extracts of *Agrimonia eupatoria*, *Rubus idaeus*, *Salvia* sp. and *Satureja montana* . *Food Chemistry*, 131, 761 - 767. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.09.030
- González, A., Villegas, A. Cruz, M., Vásquez, F. y Ayala, J. (2008). Irradiación (UV-C) de mango fresco cortado y su efecto en la capacidad antioxidante. *Posth. Biol. and Techn.* 45: 108---116 Haro, F. J., y Guerrero, J. A. (2013). Efecto de la radiación UV-C en frutas y verduras *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 7, 68–77.
- Granado-Lorencio, F., Olmedilla-Alonso, B., Herrero-Barbudo, C., Blanco-Navarro, I., Pérez-Sacristán, B., y Blázquez-García, S. (2007). In vitro bioaccessibility of carotenoids and tocopherols from fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 102(3), 641–648.

<http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.05.043>

- Haro, J., Guerrero, A. (2013). Efecto de la radiación UV-C en frutas y verduras. Recuperado desde: <http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-71-Haro-Maza-et-al-2013.pdf>
- Hemery, Y.M., Mateo Anson, N., Havenaar, R., Haenen, G.R.M.M., Noort, M.W.J. Rouau, X. (2010). Dryfractionation of wheat bran increases the bioaccessibility of phenolic acids in breads made from processed bran fractions. *Food Research International*, 43 (5): 1429-1438.
- Lafay, S., Gil, A. (2008). Bioavailability of phenolic acids. Recuperado desde: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11101-007-9077-x>
- Llerena, W. (2014). Estudio de la relación entre el color y el contenido de antioxidantes de seis frutas tropicales y andinas: Arazá (*Eugenia stipitata*), Mora (*Rubus glaucus*) variedad Iniap Andimora 2013, Mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth), Naranjilla (*Solanum quitoense*) variedad Iniap Quitoense 2009, Tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) variedad Anaranjado Gigante y Uvilla (*Physalis peruviana* L.) variedad Golden Keniana. Universidad Técnica de Ambato. Recuperado desde: <http://redi.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/9351/1/AL%20539.pdf>
- Lila, M.A., Ribnicky, D.M., Rojo, L.E., Rojas-Silva, P., Oren, A., Havenaar, R., Janle, E.M., Raskin, I., Yousef, G.G., and Grace, M.H. (2012). Complementary approaches to gauge the bioavailability and distribution of ingested berry polyphenols. *J. Agricultural Food Chem.* 60: 5763-5771.
- Martínez, G. (2016). Biodisponibilidad in vitro de residuos de fungicidas en vinos: influencia de su presencia en la capacidad antioxidante biodisponibilidad de compuestos fenólicos. Recuperado desde: <http://www.tdx.cat/handle/10803/396101>
- Mateo Anson, N., Van den Berg, R., Havenaar, R., Bast, A., Haenen, G. (2009). Bioavailability of ferulic acid is determined by its bioaccessibility. *J. Cereal Sci.* 49 (2): 295-300.
- Massolo, J.F. (2015) Evaluación del uso de reguladores vegetales y de estrategias de procesamiento para reducir el deterioro postcosecha de zapallitos [Tesis doctoral]. Director: Dr. Ariel Vicente. La Plata, Buenos Aires, Argentina
- Massolo, J. F., Concellón, A., Chaves, A. R., y Vicente, A. R. (2011). 1-Methylcyclopropene (1-MCP) delays senescence, maintains quality and reduces browning of non-climacteric eggplant (*Solanum*

melongena L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 59(1), 10-15.

Mejía, C., Gaviria, D., Bru, R., Rengifo, L., Alegría, Á., y Aguilar, E. (2014). Caracterización cinética de la enzima polifenol oxidasa en seis estadios de maduración en lulo (*Solanum quitoense* Lam.) var. Castilla. *Actualidades Biológicas*, 36 (101).

Osuna G J A, M H Pérez B, V Vázquez V, R Gómez J (2011) Aplicación de 1-metilciclopropeno (1-MCP) y su efecto en ciruela mexicana. *Rev. Fitotec. Mex.* 34:197-204

Palafox, H.; Ayala J. y González, G. (2011). The role of dietary fiber in the Bioaccessibility and Bioavailability of fruit and vegetable antioxidants. Institute of Food Technologists.

Parada. J, Aguilera .JM. (2007). Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. *J Food Sci* 72(2):R21–R321

Quiñones, M., Miguel, M., y Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(NTE INEN 518),76-89.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., y Rice, C. (1999). Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay *Radical Biology y Medicine*, 26 (NTE INEN 95), 1231-1237

Revelo, J., Viteri, P., Vásquez, W., Valverde, F., León, J., y Gallegos, P. (2010). Manual de Cultivo Ecológico de la Naranja. *Manual Técnico INIAP*, 77 (1), 23-98

Rivera-Pastrana, D. M., Béjar, A. a G., Martínez-Téllez, M. a, y González-Aguilar, M. R. G. a. (2007). Efectos bioquímicos postcosecha de la irradiación UV-C en frutas y hortalizas *Artículo de Revisión*, 30(4), 361–372.

Ruiz, G., Qüesta, A., Rodríguez, S.,(2010). Efecto de luz UV-C sobre las propiedades antioxidantes y calidad sensorial de repollo mínimamente procesado. Recuperado desde: <http://www.redalyc.org/html/813/81315093013/>

Samaniego, E. (2014). Estudio del efecto de la irradiación ultravioleta en la actividad enzimática de la polifenoloxidasa y peroxidasa y propiedades fisicoquímicas del jugo de dos variedades de naranja (*Solanum quitoense* Lam.). Escuela Politécnica Nacional de Quito

- Saura-Calixto F, Díaz-Rubio ME. (2007). Polyphenols associated with dietary fibre in wine: a wine polyphenols gap? *Food ResInt* 40(5):613–9.
- Singleton, V. L., Rossi Jr., J. A., y Rossi J A Jr. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158. <http://doi.org/10.12691/ijebb-2-1-5>
- Tagliazucchia, D., Verzelloni, E., Bertolinia, D., Conte, D. (2009). In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. Recuperado desde: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814609012230>
- Tapia, C., Velásquez, J., Estrella, J., Cazar, E. (2010). Recolección de naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) en Ecuador INIAP: <http://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/37/1/iniapsc104.pdf>
- Tapia, E., Zambrano, J. (2008). Nematode resistance through mutation induction in a local variety of naranjilla (*Solanum quitoense* Lam) in Ecuador. Recuperado desde: http://www-pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/te_1426_web.pdf#page=95
- Torres, S. (2011). Bioaccesibilidad de arsénico y mercurio en alimentos con potencial riesgo toxicológico Tesis Doctoral, Universidad de Valencia, Valencia, España.
- Yahia, Elhadi M., and José de Jesús Ornelas- Paz. (2009). “Chemistry, Stability and Biological Actions of Carotenoids.” In *Fruit and Vegetable Phytochemicals. Chemistry, Nutritional Value and Stability.*, eds. Laura A. de la Rosa, Emilio Alvarez- Parrilla, and Gustavo A. González- Aguilar. , 177– 223.
- Wilcaso, P. (2007). Efecto de la variedad de la fruta en el pardeamiento enzimático del néctar de naranjilla (*Solanum quitoense* Lam). Recuperado desde: <http://redi.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3399/3/PAL152.pdf>
- Yildiz, F. (2009). *Advances in Food Biochemistry*. USA: Taylor y Francis.
- Zaccari, F. (2010). Caracterización de seis cultivares de zanahorias (*daucus carota*, L.), crudas y cocidas al vapor, por color y contenido y bioaccesibilidad in vitro de β – carotenos y minerales. Uruguay. Universidad de la República -Facultad de Agronomía

6. ANEXOS

ANEXO 1

DETERMINACIÓN DE BIOACCESIBILIDAD

Digestión *in vitro* y condiciones gastrointestinales de naranjilla *Baeza* y tratada con dosis de 9.5 kJ/m^2 de radiación UV-C, y sin tratamiento.



Preparación de la muestra vegetal



Preparación de FSS (Fluido salival simulado).



Digestión *in vitro* de masticación



Centrifugación de extractos etanólicos



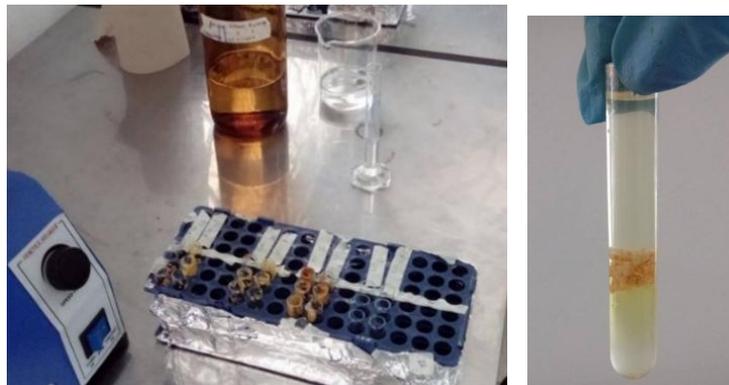
Digestión *in vitro* incubación en estufa, fase duodenal



Extracción de alícuotas



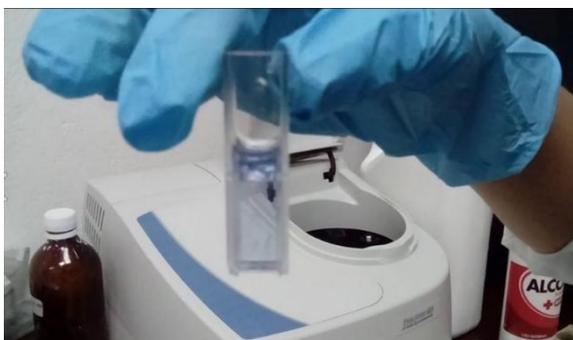
Digestión *in vitro* dializado



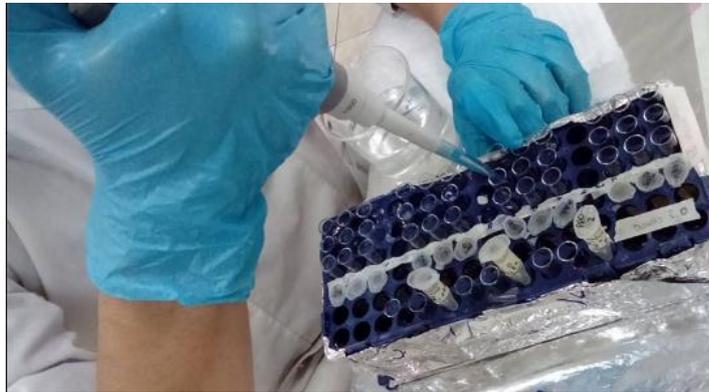
Determinación de contenido de carotenoides



Estabilización del radical ABTS



Determinación de contenido de capacidad antioxidante



Determinación de contenido de fenoles totales.

