

UNIVERSIDAD NACIONAL

Campus Omar Dengo

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE QUIMICA

PROANTOCIANIDINAS: METABOLITOS ASOCIADOS A UNA
SOBREESTIMACIÓN EN LA CUANTIFICACIÓN DE FIBRA

Trabajo sometido a consideración del Tribunal Examinador de la Escuela de Química,
como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Química Industrial

Bach. María Alejandra Vallejo Salas

Tutor:

Lic. Rodrigo Muñoz Arrieta

Asesores:

MSc. Víctor Álvarez Valverde

MSc. Massiel Rodríguez Salazar

Heredia, Costa Rica

Junio, 2023

“Este trabajo de graduación fue _____ por el Tribunal Examinador de la Escuela de Química de la Universidad Nacional, como requisito para optar por el grado de Licenciatura en Química Industrial”.

Miembros del Tribunal del trabajo final de graduación:

	NOMBRE	FIRMA
Decano	_____	_____
Director de la Escuela	_____	_____
Tutor	<u>Lic. Rodrigo Muñoz Arrieta</u>	_____
Asesor	<u>M.Sc. Víctor Álvarez Valverde</u>	_____
Asesora	<u>M.Sc. Massiel Rodríguez Salazar</u>	_____
Lector	_____	_____
Proponente	<u>Bach. María Alejandra Vallejo Salas</u>	_____

DEDICATORIA

Por ser una experiencia inolvidable y dejar una profunda huella en mi vida. Agradezco todas las personas que llegaron a formar parte de este camino, a todos aquellos lugares, a los valiosos aprendizajes, a las oportunidades y a las aventuras vividas. Gracias a todo este proceso por contribuir a forjar la persona que soy hoy en día.

A mi mamá por ser mi modelo y mi inspiración en luchar por todo aquello que me proponga en la vida. Su amor incondicional ha sido mi fortaleza a lo largo de este proceso.

Agradezco su constante motivación y por creer siempre en mí.

¡Este éxito también es suyo mami!

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas e instituciones que han sido parte fundamental en la realización de esta tesis.

Quiero agradecer a mi tutor Lic. Rodrigo Muñoz Arrieta, por su constante guía, apoyo y orientación a lo largo de todo el proceso de investigación. Su experiencia y conocimientos fueron fundamentales para el desarrollo de este trabajo, y estoy profundamente agradecida por su dedicación, compromiso y creer en mí.

También quiero expresar mi agradecimiento mis asesores M.Sc. Víctor Álvarez Valverde y a M.Sc. Massiel Rodríguez Salazar, por compartir su experiencia y conocimientos especializados en el tema de investigación. Sus aportes fueron invaluable para enriquecer este trabajo.

Mi más sincero agradecimiento al Centro Nacional de Alta Tecnología (CENAT), al Centro Nacional de Innovaciones Biotecnológicas (CENIBiot), al Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (INCIENSA) y a la Universidad Técnica Nacional (UTN) Sede Atenas, por abrirme sus puertas, brindarme los recursos y las facilidades necesarias para llevar a cabo esta investigación. El apoyo financiero y logístico proporcionado por esta institución fue crucial para el desarrollo exitoso de esta tesis.

Asimismo, quiero expresar mi agradecimiento a todos los colaboradores de estas instituciones que generosamente brindaron su tiempo y conocimientos para la realización de esta investigación, en especial a Luis Ángel Sánchez Chinchilla y a Karla Campos Fernández. Su orientación fue fundamental para alcanzar los objetivos propuestos.

Por último, quiero agradecer a mi familia y amigos, por su constante apoyo, comprensión y aliento a lo largo de este recorrido. Su amor y respaldo incondicional fueron mi motor y mi fuente de inspiración.

RESUMEN

La fibra es un componente alimenticio de importancia tanto para la nutrición humana, como para la animal, debido a los múltiples beneficios que aporta a la salud en términos fisiológicos y metabólicos. En las paredes celulares, existen ciertos compuestos, como las proantocianidinas, que se encuentran fuertemente asociadas a los componentes de la fibra. Debido a la naturaleza química y al ser compuestos altamente abundantes, las proantocianidinas no son extraídas en su totalidad durante los diferentes procesos de determinación de la fibra.

Generalmente, dichos compuestos son omitidos en las distintas metodologías de determinación de la fibra. Cuando el contenido de estos compuestos es significativo, se pueden producir errores de sobreestimación en la concentración de la fibra. Investigaciones previas han demostrado la correlación existente entre las proantocianidinas presentes en los residuos de las distintas fibras y la cantidad de fibra total.

La presente investigación tuvo como objetivo estudiar la relación entre el contenido de diferentes tipos de fibra (fibra dietética insoluble, fibra dietética soluble, fibra dietética total, fibra cruda, fibra detergente ácida y fibra detergente neutra) y las proantocianidinas extraíbles y no extraíbles presentes en el residuo de estas fibras, utilizando como matriz de estudio el tegumento de maní.

Los resultados obtenidos mostraron la presencia de remanentes de proantocianidinas, mayoritariamente proantocianidinas no extraíbles, en los residuos de las fibras analizadas. Entre las fibras estudiadas, se observó una mayor concentración de proantocianidinas no extraíbles en los residuos de la fibra dietética insoluble con valores entre los (6,4-33,8) mg t-PAC/g de muestra seca, en la fibra dietética soluble con valores entre los (10,4-48,2) mg t-PAC/g de muestra seca y en la fibra detergente ácida con valores entre los (4,8-52,3) mg t-PAC/g de muestra seca de residuo de fibra.

A partir de los resultados obtenidos, se identificaron correlaciones positivas entre las diferentes fibras y las proantocianidinas no extraíbles en sus residuos. Es importante destacar

una correlación particularmente fuerte y positiva ($p=0,792$) entre la fibra detergente ácida y las proantocianidinas no asociadas a esta fibra.

Los resultados obtenidos a partir de este estudio sugieren que las proantocianidinas pueden interferir en el reporte final de la fibra, llevando a una sobreestimación de su concentración. Como conclusión, las proantocianidinas podrían ser consideradas como una posible corrección para obtener determinaciones más precisas de la cantidad de fibra presente en los alimentos.

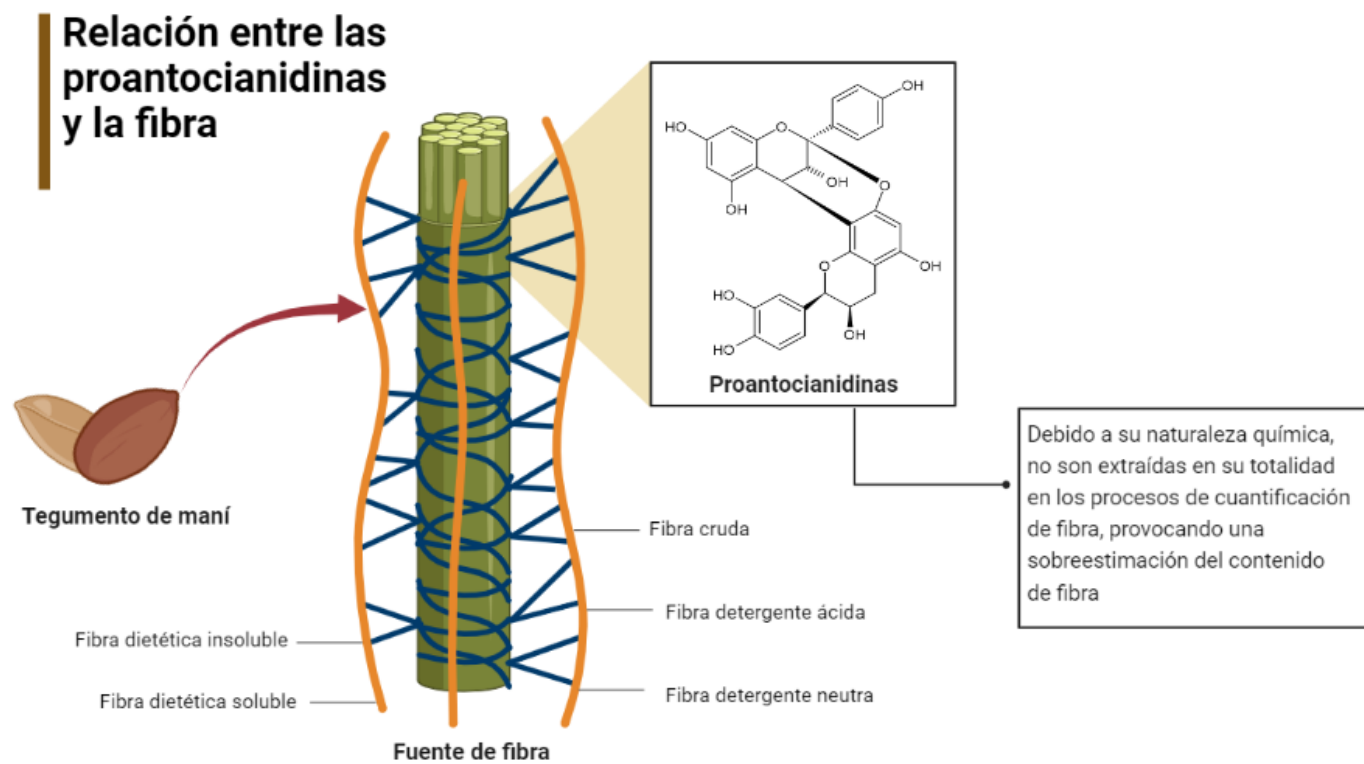


Figura 1. Resumen gráfico de la investigación

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN.....	IV
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XI
ÍNDICE DE TABLAS.....	XIV
ÍNDICE DE ANEXOS.....	XVII
LISTA DE ABREVIACIONES Y SÍMBOLOS.....	XVIII
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	20
1. Antecedentes y justificación.....	20
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	22
2.1. Fibra dietética.....	22
2.1.1. Análisis de la fibra dietética.....	23
2.2. Fibra cruda.....	23
2.2.1. Análisis de la fibra cruda.....	24
2.3. Fibra detergente.....	24
2.3.1. Análisis de fibras detergentes.....	25
2.4. Analizadores automatizados de fibra.....	25
2.5. Interacción molecular de la fibra con compuestos polifenólicos.....	25
2.6. Compuestos polifenólicos.....	27
2.7. Proantocianidinas.....	27
2.7.1. Análisis cuantitativo de las proantocianidinas extraíbles.....	33
2.7.2. Análisis cuantitativo de proantocianidinas no extraíbles.....	34

2.8. Tegumento de maní	35
CAPÍTULO III: OBJETIVOS	37
3.1. Hipótesis	37
3.2. Objetivo general.....	37
3.3. Objetivos específicos.....	37
CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA	38
4.1. Reactivos y materiales.....	38
4.2. Obtención y preparación de las muestras	38
4.3. Obtención del patrón de proantocianidinas de tegumento de maní	39
4.4. Curvas de calibración para la determinación de las proantocianidinas extraíbles mediante el método de DMAC	40
4.4.1. Preparación de la curva de calibración a partir del estándar de procianidina A2	40
4.4.2. Preparación de la curva de calibración a partir del patrón de tegumento de maní....	41
4.4.3. Lectura de las curvas de calibración de las proantocianidinas extraíbles mediante el método de DMAC	41
4.5. Cuantificación del contenido de proantocianidinas extraíbles presentes en las muestras de tegumento de maní mediante el método de DMAC	41
4.6. Curva de calibración para la determinación de las proantocianidinas no extraíbles mediante el método de Butanol-HCl.....	42
4.6.1. Preparación de la curva de calibración a partir del patrón de tegumento de maní....	42
4.6.2. Lectura de la curva de calibración mediante el método de Butanol-HCl.....	42
4.7. Cuantificación del contenido de proantocianidinas no extraíbles presentes en las muestras crudas de tegumento de maní, empleando el método de Butanol-HCl.....	42
4.8. Determinación del contenido de la fibra dietética insoluble, fibra dietética soluble y fibra dietética total en las muestras de tegumento de maní.....	43

4.8.1. Cuantificación del contenido de fibra dietética insoluble, fibra dietética soluble y fibra dietética total.....	43
4.8.2. Cuantificación del contenido de proteína en el residuo de la fibra dietética insoluble y fibra dietética soluble.....	44
4.8.3. Cuantificación del contenido de ceniza en el residuo de la fibra dietética insoluble y fibra dietética soluble.....	45
4.9. Determinación del contenido de la fibra cruda en las muestras de tegumento de maní	45
4.9.1. Cuantificación del contenido de fibra cruda	45
4.9.2. Cuantificación del contenido de ceniza en el residuo de la fibra cruda.....	46
4.10. Determinación del contenido de la fibra detergente ácida en las muestras de tegumento de maní	46
4.11. Determinación del contenido de la fibra detergente neutra en las muestras de tegumento de maní	47
4.12. Determinación del contenido de proantocianidinas extraíbles en los residuos de fibra de las muestras de tegumento de maní, empleando el método colorimétrico de DMAC	47
4.13. Determinación del contenido de proantocianidinas no extraíbles en los residuos de fibra de las muestras de tegumento de maní, empleando el método de Butanol-HCl.....	48
4.14. Determinación de la relación entre la fibra y las proantocianidinas en los residuos de las distintas fibras de las muestras de tegumento de maní mediante análisis estadísticos....	48
CAPÍTULO V: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
5.1. Determinación de las proantocianidinas extraíbles y proantocianidinas no extraíbles en las muestras de tegumento de maní.....	50
5.2.1 Determinación de la fibra dietética insoluble, fibra dietética soluble y fibra dietética total en las muestras de tegumento de maní.....	56
5.2.2. Determinación de las proantocianidinas extraíbles y las proantocianidinas no extraíbles en los residuos de la fibra dietética insoluble y la fibra dietética soluble en las muestras de tegumento de maní.....	60

5.3.1. Determinación de la fibra cruda en las muestras de tegumento de maní	70
5.3.2. Determinación de las proantocianidinas extraíbles y proantocianidinas no extraíbles en los residuos de la fibra cruda en las muestras de tegumento de maní	72
5.4.1. Determinación de la fibra detergente ácida en las muestras de tegumento de maní... 78	
5.4.2. Determinación de las proantocianidinas extraíbles y proantocianidinas no extraíbles en los residuos de la fibra detergente ácida en las muestras de tegumento de maní	79
5.5.1. Determinación de la fibra detergente neutra en las muestras de tegumento de maní. 85	
5.5.2. Determinación de las proantocianidinas extraíbles y proantocianidinas no extraíbles en los residuos de la fibra detergente neutra en las muestras de tegumento de maní.....	86
5.6. Matriz de correlación entre la fibra y las proantocianidinas en los residuos de las distintas fibras de las muestras de tegumento de maní	91
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	95
6.1. Conclusiones.....	95
6.2. Recomendaciones	95
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97
ANEXOS	107

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Resumen gráfico de la investigación	VI
Figura 2. Ejemplo de tipos de interacciones entre componentes de la fibra dietética y compuestos polifenólicos ²⁸	26
Figura 3. Estructura química de la unidad básica de las proantocianidinas ³⁵	28
Figura 4. Modelo estructural químico de las proantocianidinas ³⁵	29
Figura 5. Estructuras químicas representativas de dímeros de enlace interflavanos de tipo B y de tipo A ⁴⁰	31
Figura 6. Mecanismo de reacción de la hidrólisis ácida de una proantocianidina dimérica ⁴¹	32
Figura 7. Mecanismo de reacción de derivatización de una proantocianidina de tipo A2 con el reactivo de DMAC ⁴⁵	34
Figura 8. Reacción química de butanol-ácido con proantocianidinas ³⁵	35
Figura 9. Partes de la semilla de maní (<i>Arachis hypogaea</i>) ⁵³	36
Figura 10. Elución de la columna cromatografía rellena con resina Sephadex® LH-20, para la obtención del patrón propio de proantocianidinas de tegumento de maní	40
Figura 11. Curvas de calibración para el patrón estándar de ProA2 y el patrón t-PAC empleando el método de DMAC	52
Figura 12. Composición de la fibra dietética total en sus proporciones de fibra dietética insoluble y fibra dietética soluble en las muestras de tegumento de maní	59
Figura 13. Composición porcentual del residuo de fibra dietética insoluble de las muestras de tegumento de maní	64
Figura 14. Distribución entre el contenido de la fibra dietética insoluble y el contenido de fibra dietética insoluble con corrección de proantocianidinas en las muestras de tegumento de maní	66
Figura 15. Composición porcentual del residuo de la fibra dietética soluble de las muestras de tegumento de maní	67

Figura 16. Distribución entre el contenido de fibra dietética soluble y el supuesto contenido de fibra dietética soluble con corrección de proantocianidinas en las muestras de tegumento de maní	69
Figura 17. Composición porcentual del residuo de la fibra cruda de las muestras de tegumento de maní	75
Figura 18. Distribución entre el contenido de la fibra cruda y el contenido de fibra cruda con corrección de proantocianidinas en las muestras de tegumento de maní	77
Figura 19. Composición porcentual del residuo de la fibra detergente ácida de las muestras de tegumento de maní.....	82
Figura 20. Distribución entre el contenido de la fibra detergente ácida y el contenido de fibra detergente ácida con corrección de proantocianidinas en las muestras de tegumento de maní	84
Figura 21. Composición porcentual del residuo de la fibra detergente neutra de las muestras de tegumento de maní.....	89
Figura 22. Distribución entre el contenido de la fibra detergente neutra y el contenido de fibra detergente neutra con corrección de proantocianidinas en las muestras de tegumento de maní	91
Figura 23. Matriz de correlación Spearman rho entre la fibra dietética insoluble, fibra dietética soluble, fibra cruda, fibra detergente ácida, fibra detergente neutra, proantocianidinas extraíbles del residuo de las fibras y proantocianidinas no extraíbles de los residuos de las fibras en las muestras de tegumento de maní.....	92
Figura 24. Curva de calibración para la cuantificación de proantocianidinas extraíbles empleando el método de DMAC, utilizando el patrón estándar ProA2	107
Figura 25. Curva de calibración para la cuantificación de proantocianidinas extraíbles empleando el método de DMAC, utilizando el patrón estándar t-PAC	108
Figura 26. Curva de calibración para la cuantificación de proantocianidinas no extraíbles empleando el método de Butanol-HCl, utilizando el patrón estándar t-PAC.....	109

Figura 27. Metodología para la determinación de la fibra dietética insoluble y fibra dietética soluble, mediante el método de la AOAC 991.43, utilizando el equipo automatizado ANKOM ^{TDF} Dietary Fiber Analyzer ⁵⁶	110
Figura 28. Metodología para la determinación de la fibra cruda, mediante el método descrito por ANKOM Technology ⁵⁹	110
Figura 29. Metodología para la determinación de la fibra detergente ácida, mediante el método descrito por ANKOM Technology ⁶⁰	111
Figura 30. Metodología para la determinación de la fibra detergente ácida, mediante el método descrito por ANKOM Technology ⁶⁰	111

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Unidades monoméricas que conforman las proantocianidinas.....	30
Tabla 2. Resultados del contenido de proantocianidinas extraíbles utilizando reportados como ProA2 y como t-PAC en las muestras de tegumento de maní, empleando el método de DMAC	51
Tabla 3. Resultados del contenido de proantocianidinas extraíbles y no extraíbles presentes en las muestras de tegumento de maní, empleando el método de DMAC y Butanol-HCl respectivamente.....	54
Tabla 4. Resultados del contenido de proteína y de ceniza en los residuos de la fibra dietética insoluble y la fibra dietética soluble en las muestras de tegumento de maní	57
Tabla 5. Resultados del contenido de fibra dietética insoluble, fibra dietética soluble y fibra dietética total en las muestras de tegumento de maní, empleando el método estandarizado de la AOAC 991.43 utilizando el equipo automatizado ANKOM ^{TDF} Dietary Fiber Analyzer	58
Tabla 7. Resultados del contenido proantocianidinas extraíbles y proantocianidinas no extraíbles en los residuos de la fibra dietética insoluble y la fibra dietética soluble en las muestras de tegumento de maní, empleando el método de DMAC y Butanol-HCl respectivamente.....	61
Tabla 8. Contenido de fibra dietética insoluble y contenido de fibra dietética insoluble con corrección de proantocianidinas en las muestras de tegumento de maní	65
Tabla 9. Comparación de medias de Tukey entre el contenido de fibra dietética soluble y el supuesto contenido de fibra dietética soluble con corrección de proantocianidinas en las muestras de tegumento de maní.....	68
Tabla 10. Resultados del contenido de ceniza en los residuos de la fibra cruda en las muestras de tegumento de maní.....	70
Tabla 11. Resultados del contenido de fibra cruda en las muestras de tegumento de maní, empleando el método descrito por ANKOM Technology.....	71

Tabla 12. Resultados del contenido proantocianidinas extraíbles y proantocianidinas no extraíbles en los residuos de la fibra cruda en las muestras de tegumento de maní, empleando el método de DMAC y Butanol-HCl respectivamente.....	73
Tabla 13. Contenido de fibra cruda y contenido de fibra cruda con corrección de proantocianidinas en las muestras de tegumento de maní.....	76
Tabla 14. Resultados del contenido de fibra detergente ácida en las muestras de tegumento de maní, empleando el método descrito por ANKOM Technology.....	78
Tabla. Resultados del contenido proantocianidinas extraíbles y proantocianidinas no extraíbles en los residuos de la fibra detergente ácida en las muestras de tegumento de maní, empleando el método de DMAC y Butanol-HCl respectivamente	80
Tabla 16. Contenido de fibra detergente ácida y contenido de fibra detergente ácida con corrección de proantocianidinas en las muestras de tegumento de maní	83
Tabla 17. Resultados del contenido de fibra detergente neutra en las muestras de tegumento de maní, empleando el método descrito por ANKOM Technology.....	85
Tabla 18. Resultados del contenido proantocianidinas extraíbles y proantocianidinas no extraíbles en los residuos de la fibra detergente neutra en las muestras de tegumento de maní, empleando el método de DMAC y Butanol-HCl respectivamente	87
Tabla 19. Contenido de fibra detergente neutra y contenido de fibra detergente neutra .. con corrección de proantocianidinas en las muestras de tegumento de maní	90
Tabla 20. Rango de concentración y parámetros de linealidad de la curva de calibración para la cuantificación de proantocianidinas extraíbles empleando el método de DMAC, utilizando el estándar ProA2 como patrón	107
Tabla 21. Rango de concentración y parámetros de linealidad de la curva de calibración para la cuantificación de proantocianidinas extraíbles empleando el método de DMAC, utilizando t-PAC como patrón.....	108
Tabla 22. Rango de concentración y parámetros de linealidad de la curva de calibración para la cuantificación de proantocianidinas no extraíbles empleando el método de Butanol-HCl, utilizando t-PAC como patrón.....	109

Tabla 23. Valores Spearman rho de la matriz de correlación entre la fibra dietética insoluble, fibra dietética soluble, fibra cruda, fibra detergente ácida, fibra detergente neutra, proantocianidinas extraíbles del residuo de las fibras y proantocianidinas no extraíbles de los residuos de las fibras, en las muestras de tegumento de maní..... 112

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Curva de calibración para la cuantificación de proantocianidinas extraíbles empleando el método de DMAC, utilizando el estándar ProA2 como patrón	107
Anexo 2: Curva de calibración para la cuantificación de proantocianidinas extraíbles empleando el método de DMAC, utilizando t-PAC como patrón.....	108
Anexo 3: Curva de calibración para la cuantificación de proantocianidinas no extraíbles empleando el método de Butanol-HCl, utilizando t-PAC patrón.....	109
Anexo 4: Descripción del método para la determinación de la fibra dietética insoluble y la fibra dietética soluble.....	110
Anexo 5: Descripción del método para la determinación de la fibra cruda	110
Anexo 6: Descripción del método para la determinación de la fibra detergente ácida.....	111
Anexo 7: Descripción del método para la determinación de la fibra detergente neutra	111
Anexo 8: Valores Spearman rho de la matriz de correlación.....	112

LISTA DE ABREVIACIONES Y SÍMBOLOS

AOAC	Asociación de Químicos Analistas Oficiales
DMAC	4-dimetilaminocinamaldehído
DE	Desviación estándar
e-PAC	Proantocianidinas extraíbles
e-PAC(FC)	Proantocianidinas extraíbles en el residuo de fibra cruda
e-PAC(FDI)	Proantocianidinas extraíbles en el residuo de fibra dietética insoluble
e-PAC(FDS)	Proantocianidinas extraíbles en el residuo de fibra dietética soluble
e-PAC(FDA)	Proantocianidinas extraíbles en el residuo de fibra detergente ácido
e-PAC(FDN)	Proantocianidinas extraíbles en el residuo de fibra detergente neutro
FC	Fibra cruda
FD	Fibra dietética
FDT	Fibra dietética total
FDA	Fibra detergente ácida
FDI	Fibra dietética insoluble
FDN	Fibra detergente neutra
FDS	Fibra dietética soluble
LDC	Límite de cuantificación
LDD	Límite de detección
n-PAC	Proantocianidinas no extraíbles
n-PAC(FC)	Proantocianidinas no extraíbles en el residuo de fibra cruda
n-PAC(FDI)	Proantocianidinas no extraíbles en el residuo de fibra dietética insoluble
n-PAC(FDS)	Proantocianidinas no extraíbles en el residuo de fibra dietética soluble
n-PAC(FDA)	Proantocianidinas no extraíbles en el residuo de fibra detergente ácido

n-PAC(FDN)	Proantocianidinas no extraíbles en el residuo de fibra detergente neutro
PAC	Proantocianidinas
ProA2	Patrón estándar de proantocianidinas A2
t-PAC	Patrón propio de proantocianidinas de tegumento de maní

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

1. Antecedentes y justificación

La fibra corresponde un componente de importancia para la nutrición humana y para la animal, dado a los beneficios que aporta al organismo. Desde la nutrición humana corresponde a fracciones de carbohidratos (celulosa, hemicelulosa, almidón resistente, fibras solubles) y lignina de los alimentos que las enzimas de mamíferos no son capaces de digerir, aunque estos pueden fermentarse en el intestino grueso. Por otra parte, en la nutrición de rumiantes, la fibra típicamente se asocia a la lignina y carbohidratos insolubles que no son capaces de fermentarse, o que las bacterias anaeróbicas fermentan lentamente.¹

Actualmente existen metodologías rutinarias para la cuantificación de los distintos tipos de fibras asociadas a la nutrición humana y animal. Estas metodologías entrelazan el concepto nutricional de la fibra con principios de solubilidad química, utilizados para el aislamiento de fracciones relevantes.¹ Principalmente se han enfocado en el aspecto fisiológico de la fibra, por lo que se han diseñado en función a los tipos de compuestos que las conforman.^{2,3}

Entre estas se encuentran, por ejemplo, los métodos enzimáticos-gravimétricos, que se basan en la digestión de la muestra con enzimas para eliminar proteína y almidón; y métodos gravimétricos, que se fundamentan en la descomposición química hidrolítica u oxidativa en los que se incluye extracciones ácidas y alcalinas.^{4,5}

En las metodologías comúnmente utilizadas para la determinación de la fibra, se suelen omitir algunos compuestos bioactivos.² Entre estos se encuentran compuestos polifenólicos, como las proantocianidinas, los cuales se presentan en altos niveles en la fibra de los alimentos ricos en antioxidantes. Estos compuestos interaccionan, por ejemplo, con los carbohidratos que se originan en las paredes celulares uniendo sus anillos aromáticos hidrófobos y grupos hidroxilo hidrófilos a polisacáridos y proteínas de las paredes celulares. Estas interacciones son principalmente no covalentes, no obstante, también se presentan interacciones covalentes que se pueden dar entre polifenoles y proteínas.^{6,7}

Anteriormente se ha estudiado la relación entre compuestos polifenólicos y los distintos tipos de fibras. Reed en 1986 investigó la relación entre las proantocianidinas no extraíbles, la fibra detergente neutra y la fibra detergente ácida, en especies de plantas de ramoneo.⁸ Por otra parte, Saura-Calixto en 1988 demostró que en la caracterización de la fibra dietética insoluble y la fibra dietética soluble, el 55 % (m/m) y el 25 % (m/m) respectivamente, corresponde a sustancias que típicamente no son constituyentes de la fibra, tales como proteínas y compuestos fenólicos.⁹

La capacidad de las proantocianidinas para formar complejos insolubles con proteínas y polisacáridos es un aspecto importante a considerar en el análisis de la fibra.¹⁰ La precisión en la cuantificación de la fibra es fundamental para garantizar exactitud en la determinación de la composición nutricional de alimentos, lo que resulta crucial para la regulación alimenticia, el etiquetado nutricional, el desarrollo de productos ricos en fibra o productos aditivos, así como para la investigación científica.

Estudios recientes realizados por Muñoz-Arrieta *et al.* en el 2021, demostraron que el tegumento del maní se compone aproximadamente de (39-43) % m/m de fibra dietética.¹¹ Asimismo, de acuerdo con Karchesy y Hemingway (1986), se compone de un 17% (m/m) de proantocianidinas.¹² Partiendo de ello, es posible afirmar que el tegumento del maní es fuente rica en fibra y rica en proantocianidinas, constituyéndolo una matriz útil para estudiar la posible relación entre la fibra y las proantocianidinas.

La presente investigación tuvo como fin estudiar si en los procesos descritos por métodos enzimáticos-gravimétricos y gravimétricos de cuantificación de fibra, existen proantocianidinas, que al ser compuestos que interactúan con las matrices intracelulares de la fibra, no son extraídas en su totalidad, provocando una posible adulteración de la fibra, conduciendo a una sobreestimación de su contenido en el reporte final de su concentración, utilizando como matriz de estudio el tegumento de maní.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Fibra dietética

La definición de la fibra dietética (FD) ha evolucionado a través de los años, comenzando con su denominación original como fibra cruda, hasta la adaptación del término de fibra dietética referida particularmente a la nutrición humana.^{13,14} El término fue introducido por Hipsley en 1953 para referirse a los componentes no digeribles de las plantas que constituyen la pared celular, que incluye celulosas, hemicelulosas y ligninas.¹⁵

Posteriormente, el concepto fue ampliado por Trowell *et al.* entre los años de 1974 y 1976, en la que se expuso la primera definición fisiológica de la fibra dietética, al referirse que se encontraba conformada por restos de componentes de la pared celular vegetal que son resistentes a la hidrólisis por enzimas digestibles humanas, incluyendo componentes como celulosas, hemicelulosas, gomas, ligninas y ceras.^{16,17,18} A partir de esta definición, muchas de las metodologías que se aplican se han basado en eliminar las porciones digeribles de los alimentos, utilizando enzimas seleccionadas como herramienta principal, con el fin de dejar sólo aquellas porciones que son resistentes a la digestión.¹⁹

Desde entonces, han surgido distintas definiciones de FD de diversas organizaciones. En el 2001, la Asociación Americana de Químicos de Cereales (AACC) definió la FD como aquellas partes comestibles de plantas o carbohidratos análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado humano con fermentación completa o parcial en el intestino grueso, incluyendo compuestos como polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias vegetales asociadas.^{2,20} Por su parte, la Comisión del Codex Alimentarius (CAC) en el 2008, la definió como “polímeros de carbohidratos con diez o más unidades monoméricas, que no son hidrolizados por enzimas endógenas en el intestino delgado humano”.²¹

Dado a la complejidad y a la heterogeneidad de sus componentes, la FD puede ser clasificada de acuerdo con su estructura química, propiedades fisicoquímicas y grado de polimerización.²² Por ejemplo, se clasifica en fibra dietética insoluble (FDI) y fibra dietética soluble (FDS), de acuerdo con la capacidad de sus componentes en dispersarse

completamente cuando se mezcla con agua. La sumatoria de estas dos fibras es conocida como la fibra dietética total (FDT).

La categorización de FDI incluye compuestos como la celulosa, lignina, almidón resistente y ciertas hemicelulosas. Por otro lado, la FDS comprende compuestos como glucanos, gomas, mucilago, pectina, inulina y hemicelulosa. A pesar de que ambas fibras comparten propiedades físicas, existen propiedades (como la fermentabilidad) que pueden variar a partir de los compuestos que la conforman.^{4,14,23}

2.1.1. Análisis de la fibra dietética

La Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC Internacional), ha establecido métodos normalizados para el análisis de la FD, ajustados al concepto de cuantificación de macronutrientes a partir de lo definido por Trowell *et al.* en 1976. Estos consisten en métodos enzimático-gravimétricos que se fundamentan en el tratamiento de la muestra con enzimas, las cuales garantizan la descomposición de componentes de los alimentos que normalmente son digeridos en el sistema humano.^{17,19}

Entre estas metodologías estandarizadas se encuentra el Método Oficial 991.43: “Fibra dietética total, soluble e insoluble en alimentos: método enzimático-gravimétrico (MES-Tris Buffer)”. Esta corresponde a una metodología adoptada a partir de lo expuesto por Lee y Prosky. (1992), en el que se obtienen las fracciones de FDI y FDS, y la sumatoria de estas corresponde a la FDT.^{3,24}

Consiste en la obtención de la FDI mediante el tratamiento de la muestra con enzimas digestivas, seguido de la filtración, lavado, secado y pesado del residuo. A continuación, la FDS se obtiene al combinar el filtrado y los lavados anteriores, precipitando la fibra con diatomita y alcohol, seguido de la filtración, lavado, secado y pesado del residuo. Para ambas fibras, se debe realizar correcciones por proteína y cenizas.²⁵

2.2. Fibra cruda

Desde principios del siglo XX el concepto de fibra cruda (FC) ha sido empleada para describir componentes de origen vegetal que no son digeribles por mamíferos en alimentos.¹⁴

Su análisis fue desarrollado por Henneberg y Stohmann en la década de 1860, la cual originalmente medía los componentes fibrosos de las plantas separando los carbohidratos en fracciones digeribles e indigeribles, no obstante, algunos de los componentes que la constituían eran parcialmente fermentables por microorganismos durante la digestión animal. Finalmente, la FC se delimita a que la constituye los residuos resistentes que restan al someterse a una extracción con solvente ácido diluido y álcali diluido, en ebullición.¹

En general la FC es particularmente aplicable a la nutrición animal, ya que cuenta con poca significancia fisiológica para la nutrición humana. Por esta razón, se ha adaptado el concepto de FD para su uso en la nutrición humana.¹⁴

2.2.1. Análisis de la fibra cruda

El método para la cuantificación de la FC consiste en un método gravimétrico-no enzimático, en la que se lleva a cabo un proceso de descomposición hidrolítica u oxidativa. La muestra se somete a un tratamiento con ácidos y álcalis en una reacción continua de calentamiento y ebullición, dando lugar un residuo final que constituye la FC. Durante el tratamiento ácido-base ocurre la pérdida de la hemicelulosa, lignina y celulosa, por lo que se considera que no representa la fibra total en los alimentos.^{4,26}

2.3. Fibra detergente

En las paredes vegetales se pueden identificar residuos de componentes insolubles que constituyen distintas fibras, como lo son la fibra detergente ácida (FDA) y la fibra detergente neutra (FDN).²⁷ En la actualidad, en ámbitos de nutrición animal se ha llegado a reemplazar en gran medida el análisis de FC por los sistemas de análisis con detergentes.

Estos métodos fueron primeramente propuestos por Van Soest en la década de 1960.¹ Para el análisis de la FDA, la muestra se somete a lavados con detergente ácido, obteniendo un residuo constituido principalmente por celulosa y lignina, con remanentes de ceniza.¹ Por otro lado, para la FDN, la muestra se somete a lavados con detergente neutro para obtener residuos conformados principalmente de celulosa, hemicelulosa insoluble y lignina, con remanentes de ceniza, sílice y cutina.¹

2.3.1. Análisis de fibras detergentes

Las metodologías de determinación de la FDA y la FDN corresponden a métodos gravimétricos. El análisis de la FDA se lleva a cabo al someter a reflujo la muestra en una solución detergente acuosa que contiene ácido sulfúrico, eliminando la hemicelulosa y obteniendo un residuo bajo en nitrógeno. Esta metodología se desarrolla como pretratamiento a la determinación de la lignina.^{1,27} Por otra parte, el análisis de la FDN se efectúa al someter a reflujo la muestra en una solución detergente neutra acuosa con el fin de que las células vegetales dividan en porciones celulares menos digeribles. En particular, la cuantificación de la FDN no es recomendable en matrices con un alto contenido de fibra soluble.^{4,27}

2.4. Analizadores automatizados de fibra

A pesar de que hay diferencias sistemáticas y metodológicas para la determinación de las diferentes fibras, existen analizadores automatizados que tratan de sistemas robustos que buscan obtener una reproducibilidad aceptable entre laboratorios. Ejemplo de estos son los sistemas automatizados de la compañía ANKOM Technology, que desarrollan protocolos conforme a los Métodos Oficiales de la AOAC, brindando mayor productividad y eficiencia en los análisis.^{1,23}

2.5. Interacción molecular de la fibra con compuestos polifenólicos

En las paredes celulares de las plantas existen interacciones intermoleculares en las entre los macronutrientes que conforman la fibra y compuestos polifenólicos (Figura 2). Por ejemplo, en la FD estas interacciones son dadas a través de fuerzas electrostáticas y de Van der Waals, que incluye enlaces de puente de hidrógeno (generadas por grupos hidroxilo de flavonoides), interacciones de London (entre los anillos aromáticos polarizables no polares de flavonoides y las partes polarizables no polares de cadenas laterales de proteínas) e interacciones iónicas.⁷

Además, se presentan enlaces covalentes que se generan debido a la capacidad de los fenoles para formar radicales quinona o semiquinona, en un proceso que involucra dos pasos reacción. Estos enlaces covalentes se originan a raíz de una interacción irreversible entre los

polifenoles y las proteínas. Durante este proceso, los fenoles se convierten en quinonas que reaccionan con los grupos nucleófilos presentes en la molécula de proteína.

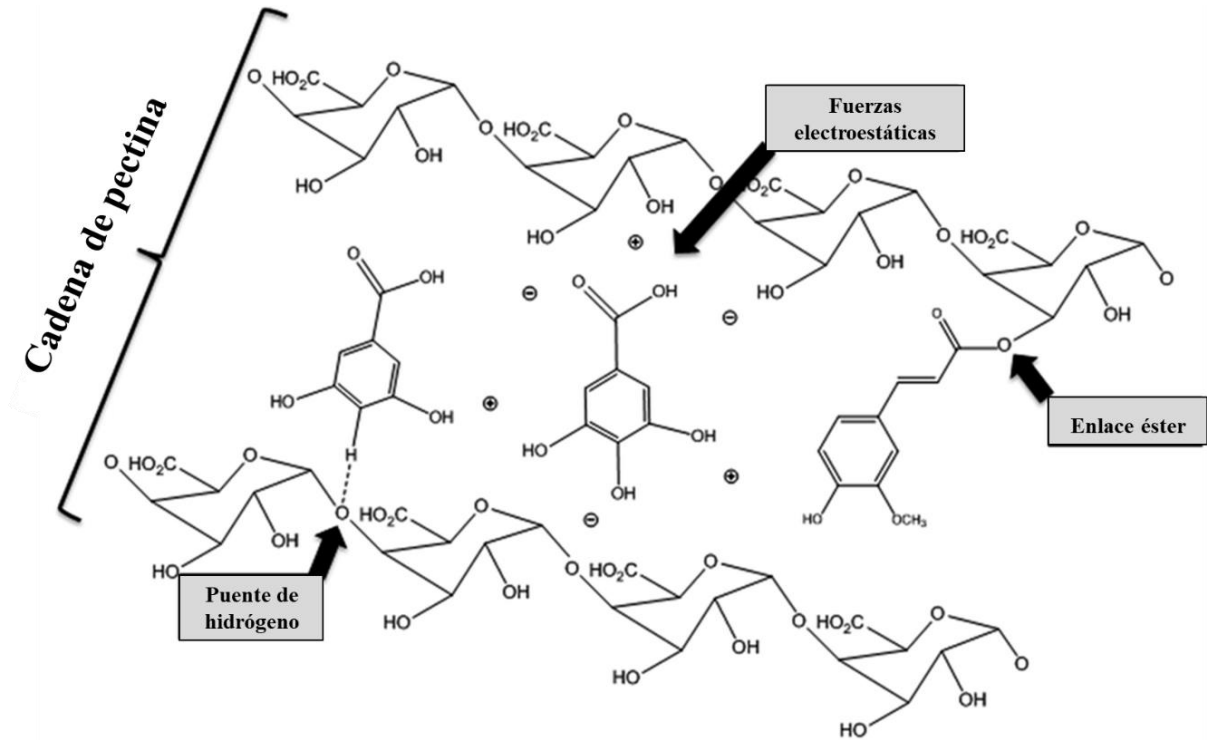


Figura 2. Ejemplo de tipos de interacciones entre componentes de la fibra dietética y compuestos polifenólicos²⁸

Estas interacciones dependen de factores como la estructura molecular, el tamaño, el tipo y la cantidad de grupos funcionales que presenta el compuesto polifenólico. Por ejemplo, las interacciones entre las procianidinas y los carbohidratos de la pared celular aumentan a mayor grado de polimerización y porcentaje de galoilación.^{6,7}

La asociación de compuestos polifenólicos con la matriz de la fibra influye en las propiedades fisicoquímicas de la fibra, además de las propiedades fisiológicas en el organismo de seres humanos y animales. Asimismo, la absorción de estos compuestos en el organismo se encuentra influenciada por parámetros ambientales como la fuerza iónica, el pH y la temperatura.²

2.6. Compuestos polifenólicos

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios que se encuentran abundantemente en plantas. Se encuentran conformados por compuestos aromáticos de anillos de benceno con al menos un grupo hidroxilo. Intervienen en roles importantes en la planta como pigmentos, antioxidantes, agentes de señalización, elemento estructural de lignanos y mecanismo de defensa. Su expresión es causada por el estrés biótico y abiótico, causado por ejemplo, por herbívoros, patógenos, temperatura y pH, estrés salino, estrés por metales pesados y radiación UV.^{29,30}

Estos compuestos se forman a partir de la ruta del shikimato en plantas y microorganismos superiores.³⁰ Sus estructuras químicas pueden variar desde moléculas simples, hasta moléculas complejas, que agrupan varios tipos de compuestos como lo son flavonoides, cumarinas, ácidos fenólicos, acetofenonas, lignanos, entre otros.⁶

Los flavonoides constituyen uno de los grupos más grandes de compuestos fenólicos. Pueden clasificarse en subcategorías como antocianidinas, flavonoles, flavanoles (catequinas y proantocianidinas), flavanonas, flavonas e isoflavonas. Sus estructuras constan de dos grupos fenilo unidos por un puente de tres carbonos comúnmente ciclado con oxígeno.⁶

Además, los compuestos polifenólicos se pueden dividir en polifenoles extraíbles y no extraíbles. Los extraíbles son compuestos que pueden liberarse fácilmente de la matriz de la planta, ya que se solubilizan en solventes acuoso-orgánicos. Por otra parte, los no extraíbles son compuestos que interaccionan con la matriz de la fibra o proteínas, quedando retenidos en el residuo resultante tras la extracción acuosa-orgánica. Estos compuestos pueden ser liberados mediante procesos de hidrólisis ácida o alcalina.³¹

2.7. Proantocianidinas

Las proantocianidinas (PACs) o taninos condensados son de los compuestos polifenólicos más abundantes en cereales y semillas de leguminosas, y son predominantemente en frutas y vegetales. Su astringencia protege a las plantas de patógenos y depredadores. Son químicamente reactivos y forman enlaces intermoleculares por puente de hidrógeno que interactúan y precipitan macromoléculas, como proteínas y carbohidratos.³²

Son oligómeros y polímeros de flavan-3-oles y/o flavan-3,4-diol, cuyas unidades estructurales básicas incluyen la (epi)catequina y la (epi)galocatequina.⁶ Son nombradas de acuerdo con la conversión de la unidad monomérica en la antocianidina durante la autooxidación catalizada por ácido. Su biosíntesis inicia con la leucoantocianidina reductasa que cataliza la síntesis de catequina, donde las unidades elementales se van a encontrar unidas por enlaces C-C y en otras ocasiones por enlaces C-O-C (Figura 3 y 4).^{32,33,34}

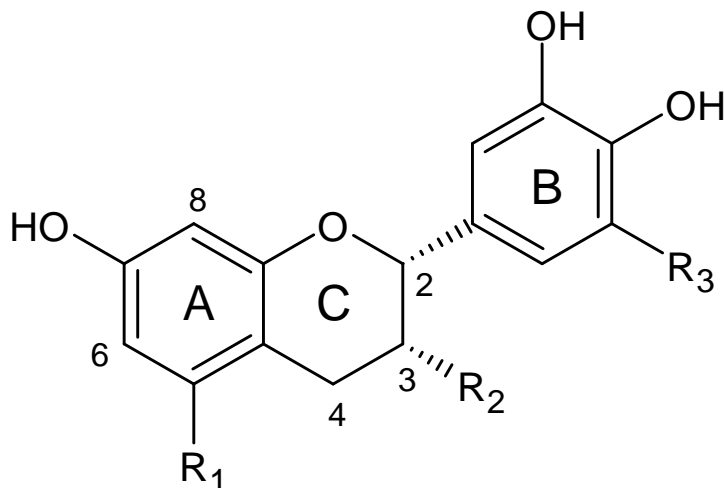


Figura 3. Estructura química de la unidad básica de las proantocianidinas³⁵

Sus estructuras varían de acuerdo con la naturaleza de la unidad del monómero, el grado de polimerización (que oscila entre 3 y 11) y el tipo de enlace interflavano.³⁶ Se clasifican en proantocianidinas extraíbles (e-PAC) que son de bajo peso molecular (hasta seis unidades de catequina) y en proantocianidinas no extraíbles (n-PAC) que son de alto peso molecular (polímeros) que habitualmente se encuentran interaccionando con la fibra y con las proteínas, no siendo posible solubilizarlas mediante extracción acuosa.^{37,38}

De acuerdo con la hidroxilación del anillo B del núcleo flavan-3-ol se subdividen en proacínidinas (3', 4'-dihidroxiderivados) y prodefínidinas (3', 4', 5' trihidroxiderivados). Las unidades monoméricas pueden tener estereoquímica 2,3-trans (2R, 3S), o 2,3-cis (2R, 3R). Las más comunes son los diastereoisómeros de (epi)catequina, (epi)afzelequina y (epi)galocatequina (Tabla 1).^{32,39}

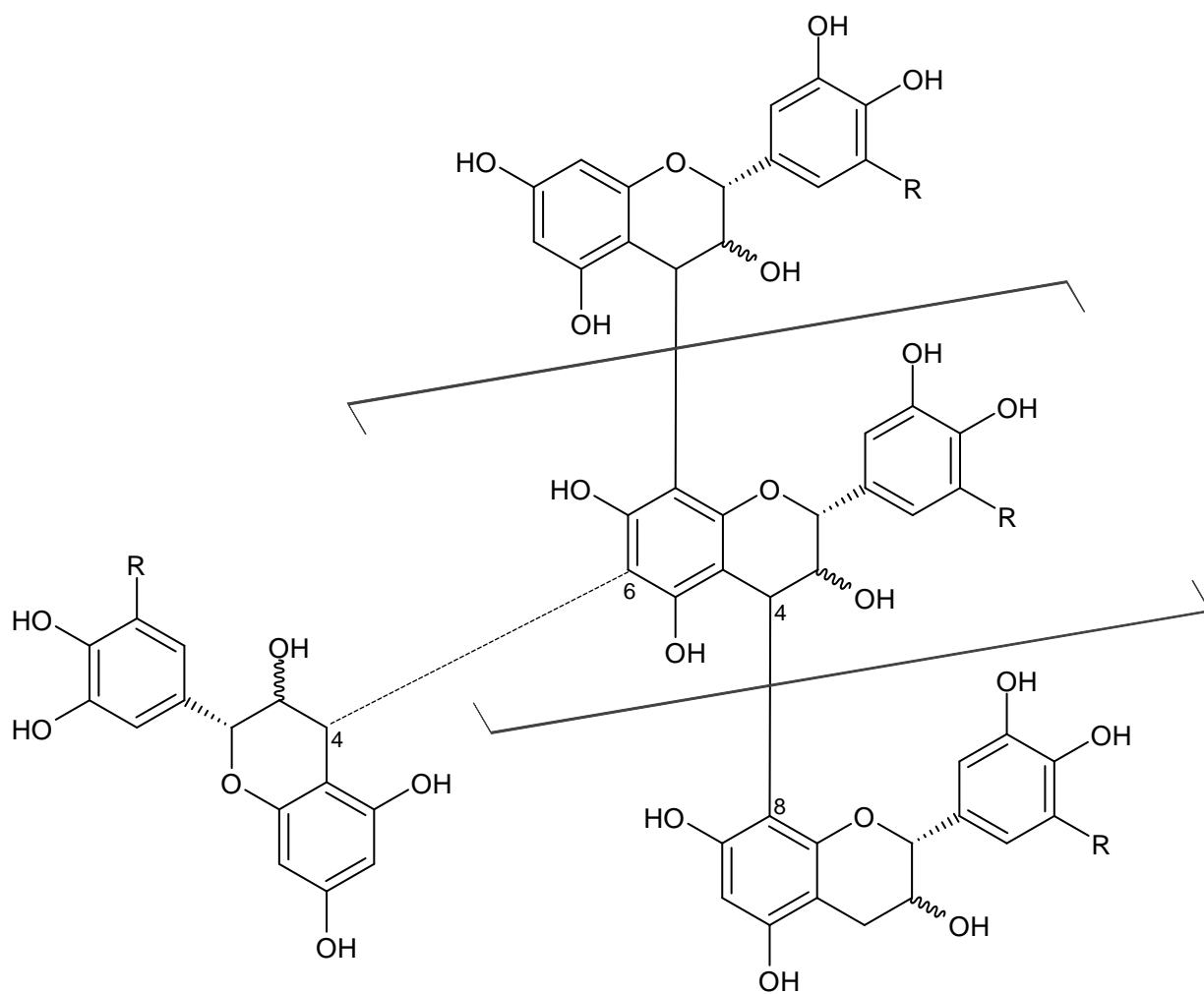
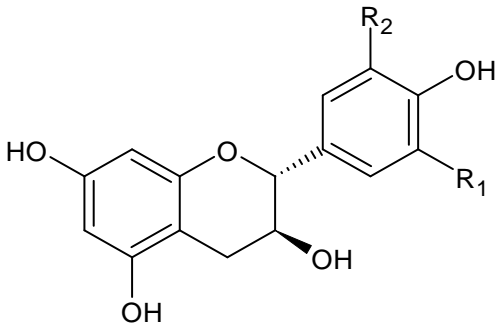
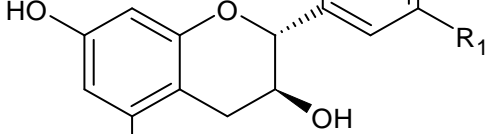

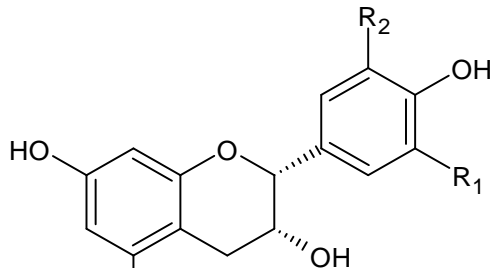
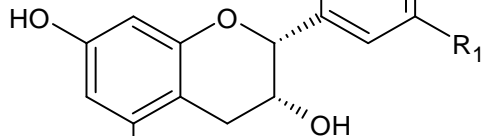



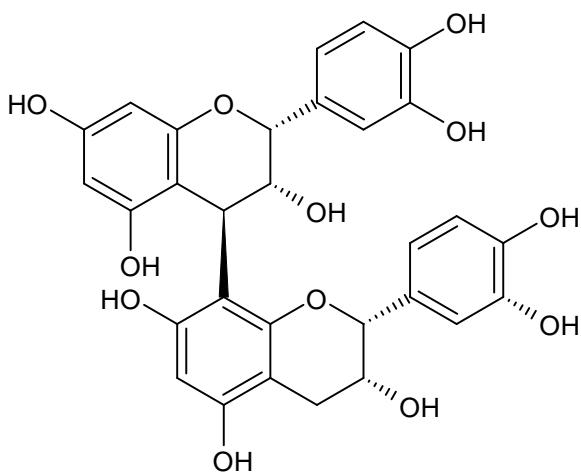
Figura 4. Modelo estructural químico de las proantocianidinas³⁵

Tabla 1. Unidades monoméricas que conforman las proantocianidinas

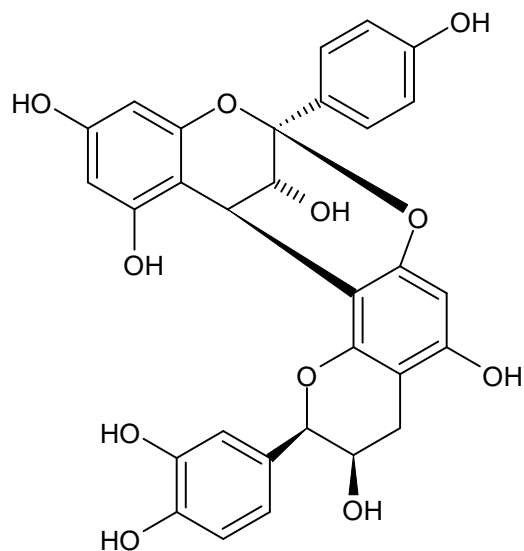
	Compuesto	R ₁	R ₂
	Catequina	OH	H
	Afzelequina	H	H
	Galocatequina	H	OH
	Epicatequina	OH	H
	Epifzelequina	H	H
	Epialocatequina	H	OH

Fuente³²

Las PACs se forman a través de dos tipos de enlaces entre las unidades de flavanol. Las de enlace de tipo B poseen sus unidades monoméricas unidas por enlaces interflavanos de C4-C6 o C4-C8, mientras que las de enlace de tipo A se encuentran unidas por un enlace interflavánico adicional de C2-O-C7 o C2-O-C5 (Figura 5).³³



Tipo B



Tipo A

Figura 5. Estructuras químicas representativas de dímeros de enlace interflavanos de tipo B y de tipo A⁴⁰

Las PACs pueden sufrir diferentes reacciones dependiendo del medio donde se encuentren, por ejemplo en medio ácido se da la ruptura de sus enlaces interflavánicos, dando lugar a subunidades inferiores en su forma libre y a carbocationes que pueden reaccionar con sustancias nucleofílicas existentes en el medio de reacción u oxidarse para producir los antocianos correspondientes (Figura 6).⁴¹

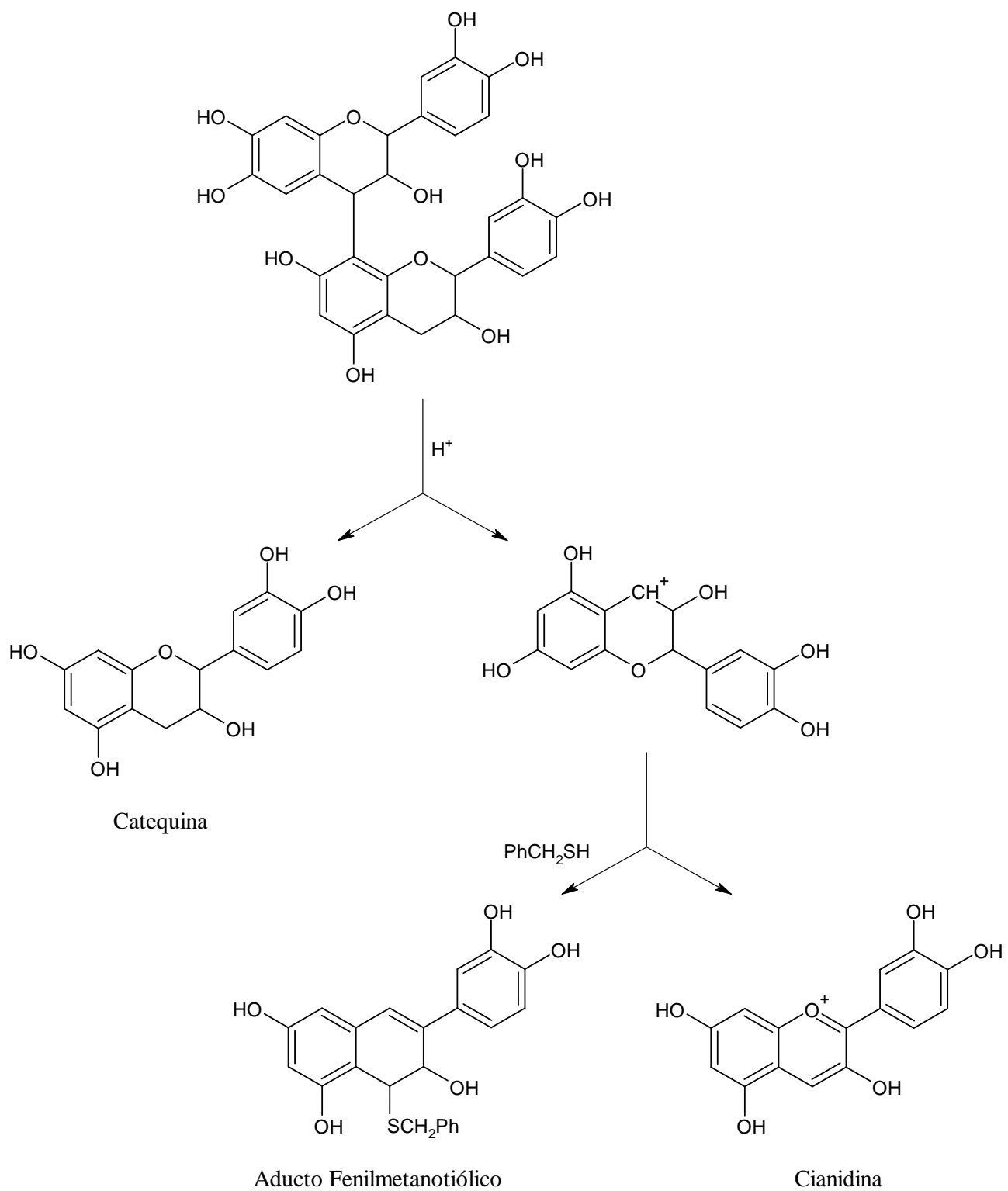


Figura 6. Mecanismo de reacción de la hidrólisis ácida de una proantocianidina dimérica⁴¹

2.7.1. Análisis cuantitativo de las proantocianidinas extraíbles

Las e-PAC pueden ser extraídas mediante solventes polares. Estos al penetrar la matriz sólida, interaccionan con las PACs, disolviéndolas y difundíendolas afuera de la matriz. Para ello, es de suma importancia la adecuada selección del solvente, ya que este se debe elegir en función de la polaridad del soluto de interés.^{42,43}

Para la extracción de e-PAC se han probado distintos solventes incluidos el etanol, metanol, acetona, n-butanol, éter dietílico, acetato de etilo, y sus mezclas acuosas o acidificadas. Downey y Hanlin (2010) demostraron que la extracción de e-PAC con acetona al 50 % (v/v) y 70 % (v/v) es más efectiva que su extracción con etanol.⁴⁴ Asimismo, Esquivel *et al.* (2021) extrajeron e-PAC de distintas matrices (arándano rojo, tegumento de maní y manzana) con acetona al 70 % (v/v).⁴⁰

Por otro lado, la cuantificación de las e-PAC es posible mediante métodos colorimétricos, como el ensayo del 4-(dimetilamino)-cinamaldehído (DMAC). La reacción se lleva a cabo en presencia de un ácido fuerte, que resulta en la formación de un carbocatión electrófilo en el reactivo de DMAC, que luego reacciona con el C8 del anillo A terminal de la PAC, formando un complejo de color verde con una absorbancia máxima a 640 nm (Figura 7).⁴⁵

El método tiene la ventaja de que en él no interfieren otros polifenoles (como antocianinas), ya que la absorbancia de la luz durante el ensayo se mide a una longitud de 640 nm, además tiene una mayor sensibilidad a comparación a otros métodos colorimétricos (como el ensayo de vainillina-ácido). Cabe destacar, que el ensayo es constante con los diversos tipos de PACs, ya que al reaccionar el reactivo de DMAC selectivamente con la posición C8 de la unidad terminal, produce coeficientes de absorción molar constantes en polímeros y oligómeros de PACs estructuralmente diversas.^{37,46,47}

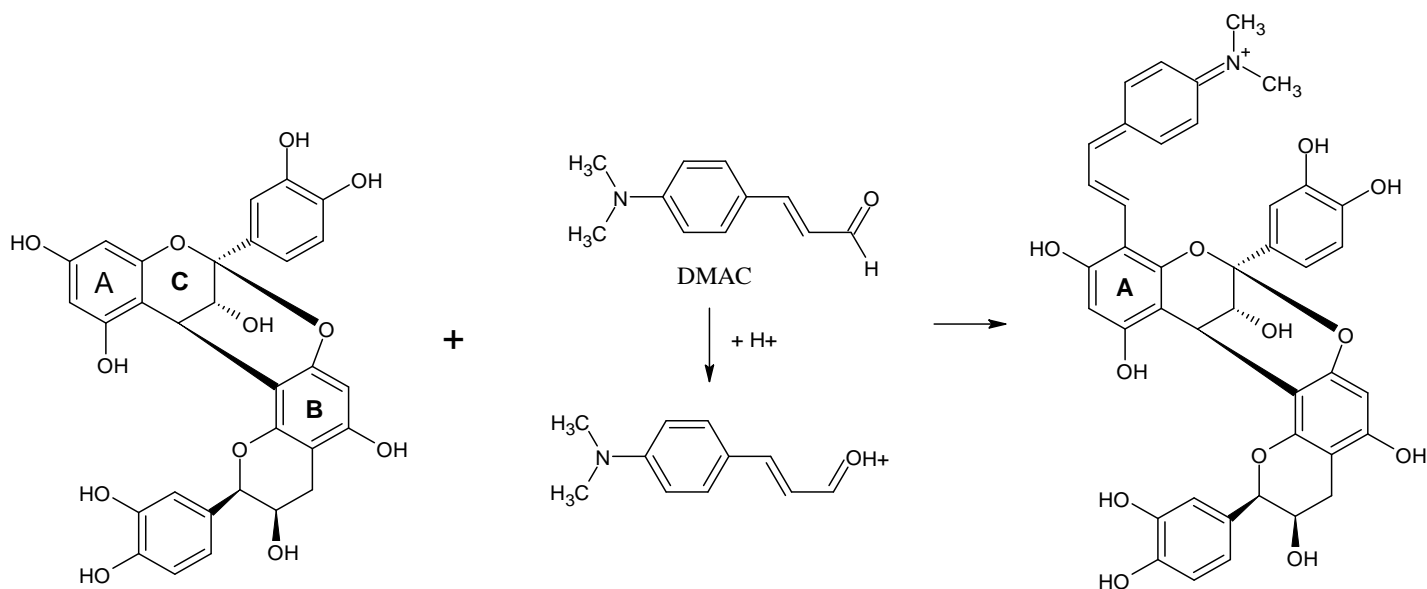


Figura 7. Mecanismo de reacción de derivatización de una proantocianidina de tipo A2 con el reactivo de DMAC⁴⁵

2.7.2. Análisis cuantitativo de proantocianidinas no extraíbles

Las n-PAC a menudo se encuentran interaccionando con material de la pared celular (como la fibra y proteínas), imposibilitando ser liberadas con protocolos de extracción acuosas/orgánicas comunes. Para su extracción, la matriz se debe someter a una reacción de autooxidación. El método que comúnmente se utiliza es el de butanol : HCl (95:5) % v/v a una temperatura de 100 °C. Este consiste en la despolimerización del polímero de la PAC en un medio ácido y la conversión de sus monómeros a antocianidinas, que luego se cuantifican mediante métodos espectrofotométricos a una longitud de onda de 550 nm (Figura 8).^{37,48}

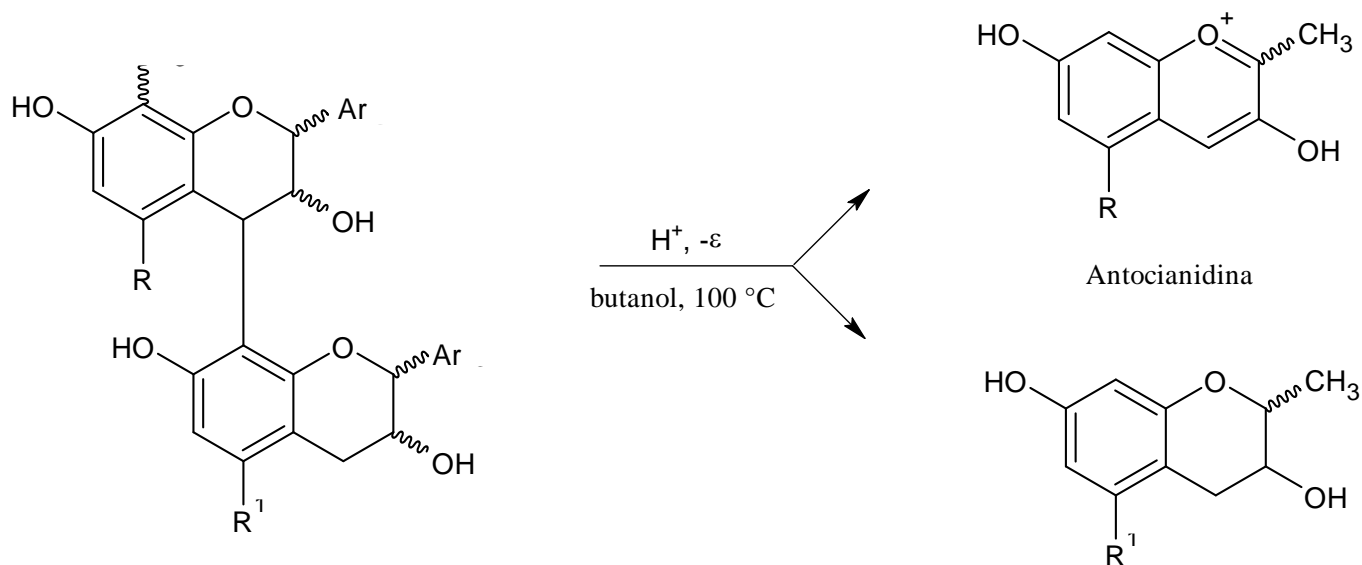


Figura 8. Reacción química de butanol-ácido con proantocianidinas³⁵

2.8. Tegumento de maní

El maní (*Arachis hypogaea* L.) es una de las legumbres más consumidas a nivel mundial, siendo China el país que encabeza la lista como líder de su producción (alrededor de 42,29 millones de toneladas métricas por año), seguido por India, Nigeria y Estados Unidos de América. El tamaño del fruto varía, el cual se encuentra directamente relacionado con el tamaño de la semilla que contiene. La semilla se encuentra conformada por dos cotiledones carnosos cubiertos por una testa o tegumento (Figura 9).^{11,49}

El tegumento del maní representa menos del 3 % del peso total del maní y constituye el principal subproducto de su procesamiento, ya que comúnmente es retirado de la semilla para operaciones de “blanqueado” del maní. A nivel mundial se genera más de 0,93 millones toneladas métricas anuales de tegumento, los cuales son normalmente utilizados para la alimentación animal.^{50,51,52} Ese escaso o nulo valor añadido al tegumento provoca un significativo impacto a nivel ambiental, llevando al interés científico a estudiar su composición nutricional.¹¹

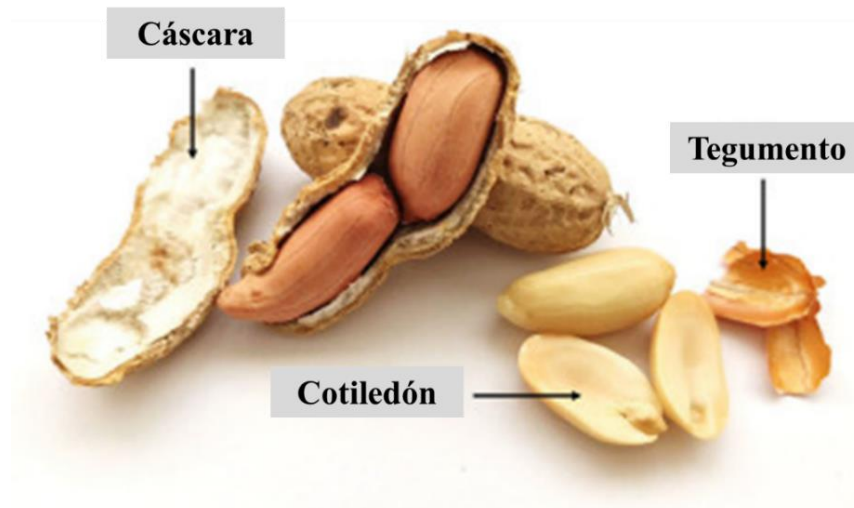


Figura 9. Partes de la semilla de maní (*Arachis hypogaea*)⁵³

El tegumento de maní está compuesto aproximadamente por un 11 % (m/m) de humedad, 2 % (m/m) de ceniza, 10 % (m/m) de grasa y 12 % (m/m) de proteína. Es particularmente fuente de FDT, la cual comprende alrededor de un 42 % (m/m) de su composición. Ese alto contenido de fibra lo propicia a ser utilizado como ingrediente dietético en alimentos.¹¹

Por otra parte, fuente rica en compuestos polifenólicos, de los cuales las PACs representan aproximadamente un 17 % (m/m), cuya función es proteger a la semilla ante daños mecánicos.^{12,54} Estas se encuentran presentes como oligómeros con grado de polimerización desde trímeros, hasta decámeros, de los cuales el 96 % de los ellos contienen uno o más enlaces tipo A que constituye el enlace predominante.⁴⁰

CAPÍTULO III: OBJETIVOS

3.1. Hipótesis

Las proantocianidinas al ser compuestos que interaccionan con las matrices intracelulares de la fibra no son extraídas en su totalidad por los métodos convencionales de cuantificación de las distintas fibras.

3.2. Objetivo general

Estudiar la relación entre el contenido de proantocianidinas extraíbles y no extraíbles y el contenido de fibra, mediante diferentes procesos de determinación de fibra en el tegumento de maní.

3.3. Objetivos específicos

3.3.1. Determinar el contenido de fibra dietética insoluble, fibra dietética soluble, fibra dietética total, fibra cruda, fibra detergente ácida y fibra detergente neutra en el tegumento de maní.

3.3.2. Cuantificar las proantocianidinas extraíbles y no extraíbles en los residuos de las fibras del tegumento del maní.

3.3.3. Establecer la relación entre el contenido de proantocianidinas y el contenido de fibra en el tegumento del maní mediante análisis estadísticos.

CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA

4.1. Reactivos y materiales

La acetona, el metanol, el hexano, el 1-butanol, el ácido clorhídrico fumante y el ácido sulfúrico y sulfito de sodio anhidro fueron adquiridos de J.T. Baker® (Philipsburg, New Jersey 08865 USA). El etanol 96 % (v/v) fue adquirido de la Fábrica Nacional de Licores (Grecia, Alajuela CR). La resina Sephadex® LH-20, la procianidina A2, el reactivo de DMAC, el hidróxido de sodio, el ácido bórico, el cloruro de hierro (III) y las tabletas Kjeldahl fueron adquiridos de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). La α -amilasa, proteasa, amiloglucosidasa, tierras diatomeas, MES: ácido 2-morfolino etanosulfónico, TRIS: tris(hidroximetil)aminometano, detergente neutro, α -amilasa bacteriana estable, trietilenglicol y detergente ácido, fueron adquiridos de ANKOM Technology®, Macedon, NY 14502 USA.

4.2. Obtención y preparación de las muestras

Para la realización de la presente investigación, se utilizaron catorce muestras de tegumento de maní correspondientes a distintas variedades y procesamiento de maní: Jumbo Raw, Organic Raw, Organic Wild Jungle Raw, Raw Redskin, Raw Spanish, Raw Virginia, Dry Roasted Spanish, Jumbo Roasted, Organic Dry Roasted, Organic Wild Jungle Roasted, Over Roasted Spanish, Roasted Red Skin, Roasted Virginia y Roasted Virginia Supreme. Las muestras fueron donadas por el Instituto del Maní ubicado en Albany, Georgia, Estados Unidos.

Las muestras se recibieron en el Centro Nacional de Innovaciones en Biotecnología (CENIBiot). En el laboratorio, se separaron los distintos componentes de la semilla del maní, de los cuales se guardó el tegumento para la realización de los análisis.

El tegumento se trituró con ayuda de un molino pequeño de cuchillas Thomas Wiley con un tamiz de 1 mm. Las muestras se almacenaron a -80 °C hasta su posterior uso.

4.3. Obtención del patrón de proantocianidinas de tegumento de maní

El patrón propio de proantocianidinas de tegumento de maní (t-PAC) se obtuvo con la finalidad de realizar curvas de calibración para la cuantificación de las e-PAC y n-PAC. El procedimiento se llevó a cabo a partir de la adaptación del método descrito por Feliciano *et al.* (2012) y Esquivel *et al.* (2021).^{40,55}

Para ello, se realizó una mezcla representativa de las catorce muestras de tegumento de maní en la que se midió la masa en cantidades iguales de cada una de ellas. Para la extracción de las PACs, se midió la masa de 10,0000 g de la mezcla utilizando una balanza analítica Mettler Toledo. A esta le realizó múltiples extracciones con acetona : agua (70:30) % v/v en un baño ultrasónico. Los extractos que se obtuvieron se combinaron y se filtraron utilizando papel filtro Whatman 42, para luego concentrarlo mediante evaporación rotatoria en el rotavapor Büchi R-300 a presión reducida y a una temperatura no mayor a los 40 °C hasta la eliminación total de la acetona. El extracto que se obtuvo se disolvió en una disolución de metanol : agua (70:30) % v/v. Seguidamente, se le realizó tres particiones con 50,0 mL de hexano, para eliminar posibles interferencias de grasas y clorofilas.

La partición metanólica obtenida se concentró a un volumen aproximado de 25 mL y se cargó en una columna cromatográfica abierta (15 cm largo x 4 cm diámetro) empacada con resina Sephadex® LH-20, la cual fue previamente lavada, acondicionada con agua y equilibrada con etanol. La columna se eluyó secuencialmente con etanol al 96 % v/v, etanol/metanol (50:50) % v/v y finalmente con acetona al 80 % v/v, obteniendo de esta manera un extracto rico en PACs (Figura 10). La fracción de acetona se concentró mediante evaporación rotatoria, a presión reducida y a una temperatura no mayor a los 40 °C hasta la eliminación total de la acetona. El extracto obtenido, rico en PACs (patrón t-PAC), se congeló y se liofilizó en el liofilizador Büchi L-300, para garantizar su sequedad total, y por último se guardó a -80 °C hasta su posterior uso.

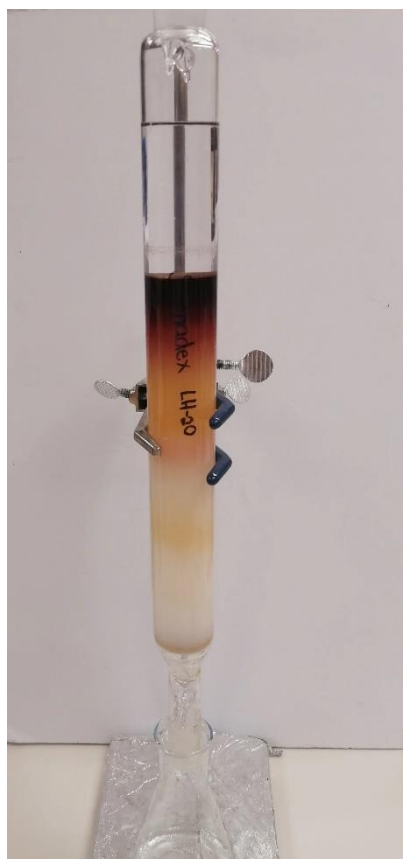


Figura 10. Elución de la columna cromatografía rellena con resina Sephadex® LH-20, para la obtención del patrón propio de proantocianidinas de tegumento de maní

4.4. Curvas de calibración para la determinación de las proantocianidinas extraíbles mediante el método de DMAC

El procedimiento para realizar las curvas de calibración para determinar las e-PAC mediante el método de DMAC, se llevó a cabo a partir de la adaptación del método descrito por Esquivel *et al.* (2021).⁴⁰

4.4.1. Preparación de la curva de calibración a partir del estándar de procianidina A2

Se procedió a preparar una disolución madre del estándar de procianidina A2 (ProA2) a una concentración de 0,04 mg/mL. A partir de la disolución madre de ProA2 se prepararon patrones con concentraciones de (0,00125 - 0,04) mg/mL.

4.4.2. Preparación de la curva de calibración a partir del patrón de tegumento de maní

Se procedió a preparar una disolución madre del patrón propio t-PAC a una concentración de 2,00 mg/mL. A partir de la disolución madre de t-PAC se prepararon patrones con concentraciones de (0,03 - 0,15) mg/mL.

4.4.3. Lectura de las curvas de calibración de las proantocianidinas extraíbles mediante el método de DMAC

Para la lectura de las curvas de calibración a partir del estándar de ProA2 y t-PAC mediante el método de DMAC, primeramente, se preparó una disolución de DMAC 1,0 mg/mL en una disolución etanol : agua : HCl_(C) en una proporción de (76:12:12) % v/v.

Posteriormente, en una placa de 96 pozos se adicionó 70,0 µL de cada patrón y 200,0 µL de disolución de DMAC por triplicado, utilizando como blanco reactivo etanol al 96 % (v/v). Se midió la cinética de la reacción durante una hora a una longitud de onda máxima (λ) de 640 nm en un lector de microplacas marca Synergy HT Multi-Mode, obteniendo el máximo de absorbancia de la cinética.

4.5. Cuantificación del contenido de proantocianidinas extraíbles presentes en las muestras de tegumento de maní mediante el método de DMAC

Para ello, se midió por triplicado la masa de 25,0 mg de cada muestra de tegumento de maní utilizando una balanza analítica Mettler Toledo. A cada muestra se les realizó en total cuatro extracciones (tres extracciones de 2,5 mL y una extracción de 2,0 mL con etanol al 96 % (v/v)) en un baño ultrasónico por diez minutos, se centrifugaron a 1328 rcf durante diez minutos y el líquido sobrenadante se decantó. El líquido decantado de las cuatro extracciones se combinó y se depositó en un balón aforado de 10 mL. Finalmente, el residuo producto de las extracciones se guardó para su posterior análisis.

En una placa de 96 pozos se adicionó por triplicado 70,0 µL de muestra y 200,0 µL de disolución de DMAC, utilizando como blanco reactivo etanol al 96 % (v/v). Se midió la cinética de la reacción durante una hora a una longitud de onda máxima (λ) de 640 nm en un

lector de microplacas marca Synergy HT Multi-Mode, obteniendo el máximo de absorbancia de la cinética.

4.6. Curva de calibración para la determinación de las proantocianidinas no extraíbles mediante el método de Butanol-HCl

El procedimiento para realizar las curvas de calibración para determinar las n-PAC mediante el método de Butanol-HCl se llevó a cabo a partir de la adaptación del método descrito por Gullickson *et al.* (2019).³⁷

4.6.1. Preparación de la curva de calibración a partir del patrón de tegumento de maní

Se procedió a preparar una disolución madre del estándar de procianidina A2 (ProA2) a una concentración de 0,4 mg/mL. A partir de la disolución madre de ProA2 se prepararon patrones con concentraciones de (0,007 - 0,035) mg/mL.

4.6.2. Lectura de la curva de calibración mediante el método de Butanol-HCl

Para la lectura de la curva de calibración a partir de t-PAC mediante el método de Butanol-HCl, primeramente, en un tubo de vidrio con tapa se midió el volumen de 0,5 mL de cada patrón. Se agregó a cada tubo 5,0 mL de HCl al 5 % (v/v) en 1-butanol y 150,0 μ L de FeCl₃. Para efectuar la hidrólisis ácida, los patrones se calentaron a 100 °C por una hora.

Finalmente, en una placa de 96 pozos se dispensó 200,0 μ L de cada patrón por triplicado y se midió la absorbancia a una longitud de onda (λ) de 550 nm en un lector de microplacas Synergy HT Multi-Mode.

4.7. Cuantificación del contenido de proantocianidinas no extraíbles presentes en las muestras crudas de tegumento de maní, empleando el método de Butanol-HCl

Los residuos que se guardaron producto de las extracciones (punto 4.5), se secaron a una temperatura de 80 °C por una hora. Se procedió a medir la masa de 10,0 mg del residuo de cada muestra en un tubo de vidrio con tapa utilizando una balanza analítica Mettler Toledo. A cada tubo se le agregó 0,5 mL de metanol, 5,0 mL de HCl al 5 % (v/v) en 1-butanol

y 150,0 µL de FeCl₃. Para efectuar la hidrólisis ácida, las muestras se calentaron a 100 °C por una hora.

En una placa de 96 pozos se dispuso 200 µL de muestra por triplicado y se midió la absorbancia de las muestras a una longitud de onda (λ) de 550 nm en un lector de microplacas Synergy HT Multi-Mode.

4.8. Determinación del contenido de la fibra dietética insoluble, fibra dietética soluble y fibra dietética total en las muestras de tegumento de maní

4.8.1. Cuantificación del contenido de fibra dietética insoluble, fibra dietética soluble y fibra dietética total

La determinación de la FDI y la FDS se realizó por triplicado siguiendo la metodología estandarizada por ANKOM Technology (2021) en el “Método FDI/FDS (AOAC 991.43, AACC 32-07.01, NMKL 129,2003)” utilizando el analizador de fibra dietética ANKOM^{TDF} Dietary Fiber Analyzer (Macedon, NY, EE. UU.). Se seleccionó el método AOAC 991.43.⁵⁶

De acuerdo con lo indicado en la metodología, se procedió a medir la masa de 0,500 g de cada muestra de tegumento de maní, utilizando la balanza analítica Mettler Toledo, que se depositó en la bolsa filtro correspondiente a la FDI. Asimismo, se midió la masa de 1,0000 g de diatomita, utilizando la balanza analítica Mettler Toledo, que se depositó en la bolsa filtro de la FDS.

El contenido de FDI se calculó mediante la Ecuación 1:

$$\%FDI = \frac{R - P - A - B}{M} \cdot 100 \quad (\text{Ecuación 1})$$

donde, M = peso original para la muestra (g); R = residuo de la muestra (g); P = proteína de residuo y bolsa (g); A = ceniza de residuo y bolsa (g); B = blanco (g)

El contenido de FDS se calculó mediante la Ecuación 2:

$$\%FDS = \frac{R - D - P - A - B}{M} \cdot 100 \quad (\text{Ecuación 2})$$

donde, M = peso original para la muestra (g); R = residuo de la muestra (g); D = peso original de tierra de diatomeas (g); P = proteína de residuo; (g); A = ceniza de residuo y bolsa (g); B = blanco (g)

Por último, el contenido de FDT se calculó mediante la Ecuación 3:

$$\%FDT = \%FDI + \%FDS \quad (\text{Ecuación 3})$$

4.8.2. Cuantificación del contenido de proteína en el residuo de la fibra dietética insoluble y fibra dietética soluble

La determinación del contenido de proteína en el residuo de la FDI y FDS se realizó mediante el método de Kjeldahl a partir de la adaptación del método descrito por Büchi Labortechnik AG (2010).⁵⁷

Para ello, se midió la masa de 200,0 mg de residuo de fibra de cada muestra utilizando la balanza analítica Mettler Toledo, y se colocó en un tubo de digestión de nitrógeno. Se añadieron dos tabletas de Kjeldahl y 20,0 mL de H₂SO₄. La digestión de las muestras se realizó durante 40 minutos a una temperatura de 500 °C utilizando el sistema BÜCHI Digest System K-437. Una vez finalizada la digestión, las muestras se destilaron, a las que se les agregó 50,0 mL de NaOH al 50 % (v/v), 30,0 mL de agua destilada y 60,0 mL H₃BO₃ 4 % (v/v) con indicador de Tashiro utilizando el sistema BÜCHI Distillation Unit K-350. La valoración de las muestras se realizó con HCl 0,25 mol/L.

El contenido de nitrógeno en los residuos de la FDI y FDS se calculó mediante la Ecuación 4:

$$\%N = \frac{(V_V - V_B) \cdot Z \cdot C \cdot MM_N}{M \cdot 1000} \cdot 100 \quad (\text{Ecuación 4})$$

donde, V_v = volumen del ácido valorante consumido por la muestra (mL); V_B = volumen del ácido valorante consumido por el blanco (mL); Z = factor de valencia molar; C =

concentración del ácido valorante (mol/L); MM_N = peso molar del Nitrógeno (g/mol); M = peso de la muestra (g)

Finalmente, el contenido de proteína en los residuos de la FDI y FDS se calculó mediante la Ecuación 5:

$$\%P = \%N \cdot F \quad (\text{Ecuación 5})$$

donde, de acuerdo con Muñoz-Arrieta *et al.* (2021) para el tegumento de maní el F (factor de proteína de la muestra)= 5,46.¹¹

4.8.3. Cuantificación del contenido de ceniza en el residuo de la fibra dietética insoluble y fibra dietética soluble

La cuantificación de la ceniza en el residuo de FDI y FDS se realizó siguiendo la metodología por ANKOM Technology (2021) en “Determinación de la ceniza”.⁵⁸

Los residuos de la FDI y FDS se incineraron a una temperatura de 600 °C durante 3 h en una mufla Fisher Scientific 550-58. La ceniza se determinó por diferencia, al llevar los crisoles a masa constante.

4.9. Determinación del contenido de la fibra cruda en las muestras de tegumento de maní

4.9.1. Cuantificación del contenido de fibra cruda

La determinación de la FC se realizó por triplicado siguiendo la metodología estandarizada por ANKOM Technology (2022) en el “Análisis de fibra cruda”, utilizando el equipo ANKOM 2000 Automated Fiber Analyzer (Macedon, NY, EE. UU.).⁵⁹

De acuerdo con lo recomendado por el fabricante en la metodología, procedió a medir en la bolsa filtro la masa de 1,000 g de cada muestra de tegumento de maní utilizando la balanza analítica OHAUS Adventure.

El contenido de FC se calculó mediante la Ecuación 6:

$$\%FC = \frac{[M_3 - (M_1 \cdot C_1)]}{M_2} \cdot 100 \quad (\text{Ecuación 6})$$

donde, M_1 = peso de tara de la bolsa; M_2 = peso de la muestra; M_3 = peso de la materia orgánica (pérdida de peso por ignición de la bolsa y la fibra); C_1 = factor de corrección por ceniza del banco.

4.9.2. Cuantificación del contenido de ceniza en el residuo de la fibra cruda

El contenido de ceniza en el residuo de fibra se determinó midiendo la masa de 0,20 g de residuo de FC de cada muestra, utilizando el analizador termogravimétrico TGA701.

4.10. Determinación del contenido de la fibra detergente ácida en las muestras de tegumento de maní

La determinación de FDA se realizó por triplicado siguiendo la metodología estandarizada por ANKOM Technology (2022) en el método “Fibra detergente ácida en alimentos: técnica de bolsa de filtro” utilizando el equipo ANKOM 2000 Automated Fiber Analyzer (Macedon, NY, EE. UU.).⁶⁰

De acuerdo con lo recomendado por el fabricante en la metodología, se midió en la bolsa filtro la masa de 0,5000 g de cada muestra de tegumento de maní utilizando la balanza analítica OHAUS Adventure.

El contenido de fibra detergente neutra se calculó mediante la Ecuación 7:

$$\%FDA = \frac{[M_3 - (M_1 \cdot C_1)]}{M_2} \cdot 100 \quad (\text{Ecuación 7})$$

donde, M_1 = peso de tara de la bolsa; M_2 = peso de la muestra; M_3 = peso seco de la bolsa con fibra después del proceso de extracción; C_1 = corrección de la bolsa en blanco = promedio del peso final secado al horno / el peso de la bolsa en blanco original.

4.11. Determinación del contenido de la fibra detergente neutra en las muestras de tegumento de maní

La determinación de la FDN se realizó por triplicado siguiendo la metodología estandarizada por ANKOM Technology (2022) en el método “Fibra detergente neutra en alimentos: técnica de bolsa de filtro” utilizando el equipo ANKOM 2000 Automated Fiber Analyzer (Macedon, NY, EE. UU.).⁶¹

De acuerdo con lo recomendado por el fabricante en la metodología, se midió la masa de 0,5000 g de cada muestra de tegumento de maní utilizando la balanza analítica OHAUS Adventure.

El contenido de fibra detergente neutra (%), se calculó mediante la Ecuación 8:

$$\%FDN = \frac{[M_3 - (M_1 \cdot C_1)]}{M_2} \cdot 100 \quad \text{(Ecuación 8)}$$

Donde, M_1 = peso de tara de la bolsa; M_2 = peso de la muestra; M_3 = peso seco de la bolsa con fibra después del proceso de extracción; C_1 = corrección de la bolsa en blanco = promedio del peso final secado al horno / el peso de la bolsa en blanco original.

4.12. Determinación del contenido de proantocianidinas extraíbles en los residuos de fibra de las muestras de tegumento de maní, empleando el método colorimétrico de DMAC

A los residuos obtenidos producto de los procesamientos de determinación de la FDI, FDS, FC, FDA y FDN se les cuantificó por triplicado las e-PAC.

Se procedió midiendo en la masa de 25,0 mg del residuo de FDI, FC, FDA y FDN, y 350,0 mg del residuo de FDS utilizando la balanza analítica Mettler Toledo. A cada muestra de residuo de fibra se les realizó en total cuatro extracciones (tres extracciones de 2,5 mL y una extracción de 2,0 mL) con acetona pura en un baño ultrasónico por diez minutos, se centrifugaron a 1328 rcf durante diez minutos y el líquido sobrenadante se decantó. El líquido decantado en las cuatro extracciones se combinó y se depositó en tubos, los cuales se colocaron en una estufa a 60 °C durante cinco horas hasta la eliminación de la acetona. El

extracto seco obtenido de cada muestra, se redisolvió en una alícuota de 1,0 mL de etanol al 96 % (v/v). Finalmente, el residuo producto de las extracciones se guardó para su posterior análisis.

En una placa de 96 pozos se adicionó por triplicado 70,0 μL de muestra y 200,0 μL de disolución de DMAC, utilizando como blanco reactivo etanol al 96 % (v/v). Se midió la cinética de la reacción durante una hora a una longitud de onda máxima (λ) de 640 nm en un lector de microplacas marca Synergy HT Multi-Mode, obteniendo el máximo de absorbancia de la cinética.

4.13. Determinación del contenido de proantocianidinas no extraíbles en los residuos de fibra de las muestras de tegumento de maní, empleando el método de Butanol-HCl

Los residuos que se guardaron producto de las extracciones (punto 4.12), se secaron a 80 °C por una hora. Se procedió a medir la masa de 10,0 mg del residuo anterior de la FDI, FC, FDA y FDN, y 300,0 mg del residuo anterior de la FDS en tubos de vidrio con tapa utilizando la balanza analítica Mettler Toledo. A cada tubo se le agregó 0,5 mL de metanol, 5,0 mL de HCl al 5 % (v/v) en 1-butanol y 150,0 μL de FeCl_3 . Para efectuar la hidrólisis ácida, las muestras se calentaron a 100 °C por una hora.

Finalmente, en una placa de 96 pozos se dispensó 200,0 μL de muestra por triplicado y se midió la absorbancia de las muestras a una longitud de onda (λ) de 550 nm en un lector de microplacas Synergy HT Multi-Mode.

4.14. Determinación de la relación entre la fibra y las proantocianidinas en los residuos de las distintas fibras de las muestras de tegumento de maní mediante análisis estadísticos

Los datos obtenidos en esta investigación se sometieron a un análisis estadístico utilizando el software R versión 4.2.2, Minitab versión 20.4.0 y Excel versión Office 2016.

Se realizaron pruebas de normalidad para verificar si los resultados obtenidos seguían una distribución normal, mediante la prueba de Shapiro-Wilk. A partir de ello, se realizaron análisis de varianza (ANOVA) de un solo factor para determinar la significancia estadística

de las diferencias en las muestras en estudio. Para aquellos grupos que presentaron diferencias significativas, se realizó una prueba de comparación múltiple mediante la prueba de Tukey, para determinar cuáles muestras diferían entre sí. Además, se realizó un análisis de regresión para evaluar la correlación entre las distintas fibras que se estudiaron y los resultados de remanentes de PACs en sus respectivos residuos. Para ello se utilizó la prueba de correlación de Spearman rho.

Para todos los análisis, se estableció un nivel de significancia estadística de $p < 0,05$ con un nivel de confianza al 95 %. Los resultados se presentan como medias \pm desviación estándar. Todos los análisis se realizaron como mínimo por triplicado para asegurar la reproducibilidad de los resultados.

CAPÍTULO V: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Determinación de las proantocianidinas extraíbles y proantocianidinas no extraíbles en las muestras de tegumento de maní

La composición de e-PAC y n-PAC de las catorce muestras de tegumento de maní fue determinada como primer paso para comprobar su presencia en las muestras en estudio y, para posteriormente, establecer posibles relaciones con los remanentes de estos compuestos en los residuos de las diferentes fibras.

Para la cuantificación de las e-PAC mediante el método de DMAC, se realizaron dos curvas de calibración utilizando como patrón el estándar de ProA2 y el patrón propio de t-PAC.

En estudios anteriores, se han llevado a cabo el aislamiento de estándares propios para su utilización en ensayos colorimétricos. Un ejemplo de ello es el estudio realizado por Feliciano *et al.* (2012), donde aislaron proantocianidinas de una muestra de torta prensada de arándanos rojos, empleando una columna cromatográfica rellena con la resina Sephadex-LH20[®], eluyendo secuencialmente con etanol, etanol : metanol (1:1), y acetona al 80 % (v/v). El resultado obtenido fue un patrón estándar de proantocianidinas con grado pureza del 99,0 %, el cual utilizaron como estándar para el ensayo de DMAC.⁵⁵

La obtención del patrón propio t-PAC fue importante, debido a que anteriormente se ha demostrado que cuando se utiliza monómeros y dímeros de procianidina como estándares para estimar el contenido de oligómeros de PACs de mayor grado de polimerización, se genera una inexactitud y se puede subestimar en gran medida el contenido de PACs.^{46,55}

Así pues, Feliciano *et al.* (2012) demostraron que, al utilizar estándares de monómeros o dímeros de procianidina, como la catequina, procianidina A2 y procianidina B2 en el ensayo de DMAC, condujo a una subestimación del contenido de PACs en productos de arándano, en especial aquellos que contenían PACs de mayor peso molecular. Para abordar esta problemática produjeron un estándar de PACs de arándano, para de esta manera obtener una mayor precisión en la estimación del contenido de PACs.⁵⁵

En la Tabla 2 se muestra los resultados obtenidos de la cuantificación de las e-PAC en las muestras de tegumento de maní expresados como miligramos equivalentes de ProA2 y miligramos equivalentes de t-PAC, por gramo de muestra seca. Al aplicar la prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0,05$), existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias de las muestras.

Tabla 2. Resultados del contenido de proantocianidinas extraíbles utilizando reportados como ProA2 y como t-PAC en las muestras de tegumento de maní, empleando el método de DMAC

Muestra	mg eq de ProA2/g de muestra seca	mg eq de t-PAC/g de muestra seca
Jumbo Raw	47,0 ± 2,0 ^{bc*}	195,9 ± 8,2 ^{bc*}
Organic Raw	12,0 ± 0,5 ⁱ	50,8 ± 2,2 ^j
Organic Wild Jungle Raw	21,7 ± 0,4 ^h	90,5 ± 1,5 ⁱ
Raw Redskin	43,8 ± 1,5 ^d	182,5 ± 6,2 ^{de}
Raw Spanish	46,3 ± 0,7 ^c	191,0 ± 4,0 ^{cd}
Raw Virginia	38,2 ± 1,3 ^e	159,5 ± 5,4 ^f
Dry Roasted Spanish	34,3 ± 1,6 ^{fg}	143,4 ± 6,4 ^{gh}
Jumbo Roasted	43,3 ± 1,8 ^d	180,6 ± 7,4 ^e
Organic Dry Roasted	7,9 ± 0,2 ^j	34,0 ± 0,7 ^k
Organic Wild Jungle Roasted	23,4 ± 1,1 ^h	98,0 ± 4,6 ⁱ
Over Roasted Spanish	36,4 ± 1,3 ^{ef}	151,9 ± 5,4 ^{fg}
Roasted Redskin	51,3 ± 2,5 ^a	213,5 ± 10,4 ^a
Roasted Virginia	32,5 ± 1,3 ^g	135,8 ± 5,4 ^h
Roasted Virginia Supreme	49,2 ± 2,4 ^{ab}	204,8 ± 10,0 ^{ab}

*Los valores son medias ± desviación estándar de nueve repeticiones. Medias con letras diferentes dentro de una fila son estadísticamente significativas, según la prueba estadística de Tukey ($p \leq 0,05$).

Como se observa, la cantidad de las e-PAC se presenta con valores mayores cuando se utiliza como patrón de referencia el t-PAC. Se realizó la prueba de ANOVA de un solo factor ($p \leq 0,05$), y en todas las muestras se encontró diferencias estadísticamente significativas entre las medias del contenido de e-PAC al utilizar el estándar de ProA2 y el estándar propio t-PAC.

Lo anterior se debe a la diferencia entre los valores obtenidos en las pendientes de las curvas de calibración de los estándares de ProA2 y t-PAC (Anexo 1 y 2). Como se observa en la Figura 11, la pendiente de la curva del estándar de t-PAC es aproximadamente 4,2 veces menor que la pendiente de la curva del patrón de ProA2, lo que indica que el contenido de t-PAC se subestimaría en 4,2 veces si estos estándares se usaran para el ensayo DMAC.⁵⁵

Asimismo, en el patrón de t-PAC, no solo hay proantocianidinas de tipo A, sino que también se presentan proantocianidinas de tipo B, las cuales alcanzan el máximo de absorbancia con mayor rapidez, a comparación de las proantocianidinas A2, en la reacción con DMAC. Este fenómeno es debido a la configuración espacial entre los enlaces de tipo A y B.⁵⁵

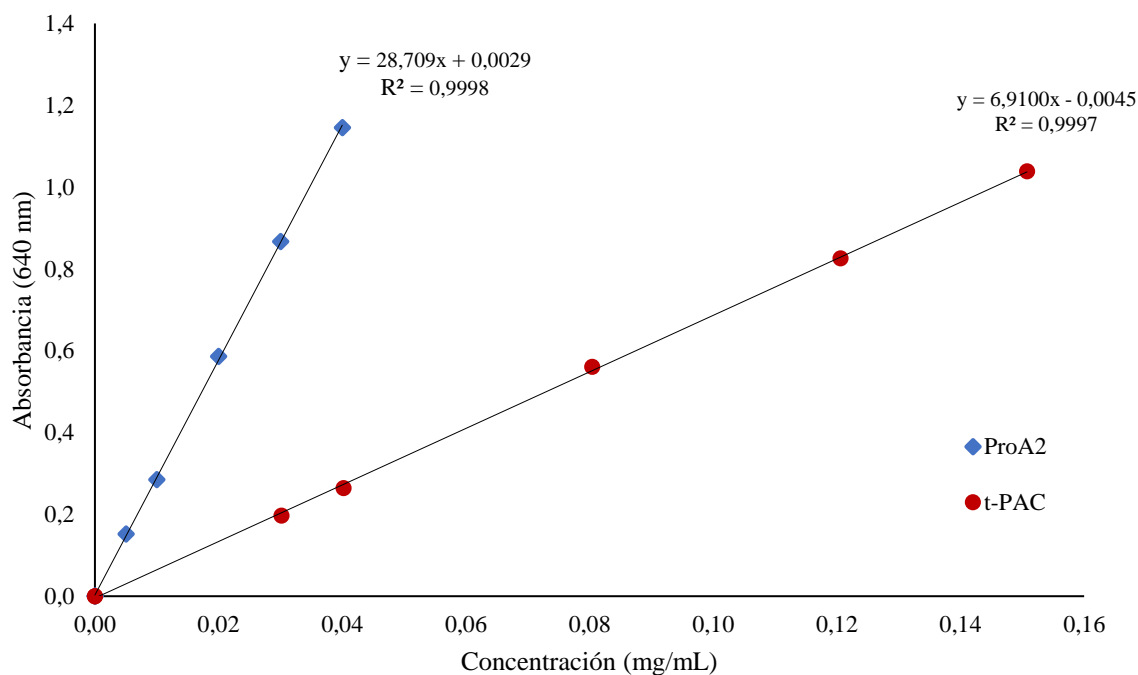


Figura 11. Curvas de calibración para el patrón estándar de ProA2 y el patrón t-PAC empleando el método de DMAC

El resultado de la diferencia entre las pendientes es debido a que la reacción de DMAC se encuentra limitada a la posición C8 del anillo A de las unidades terminales de las PACs (Figura 7), por lo que la actividad de las t-PAC con el reactivo de DMAC disminuye por la proporción de sitios reactivos C8 que se encuentran disponibles para reaccionar, debido

a que al tener un mayor grado de polimerización, tienden a producir una respuesta menor en comparación con las unidades de monómeros o dímeros, como es el caso de la ProA2. Esa baja respuesta provoca diferencias en la cinética de reacción, en la que la de t-PAC va a ser más lenta dado a la gran despolimerización que debe sufrir al reaccionar con el DMAC.^{46,55}

A partir de ello, es imperativo que el estándar de elección siga una cinética de reacción similar a la matriz en estudio. Al utilizar el estándar de t-PAC, que cuenta con distintos grados de polimerización, produce un comportamiento similar al que se va a presentar en las muestras al reaccionar con el DMAC. Es por lo que se justifica el uso del estándar de t-PAC como patrón, sobre el estándar de ProA2, para una cuantificación de e-PAC más exacta.

Asimismo, anteriormente se ha demostrado que para la cuantificación de n-PAC mediante el ensayo de Butanol-HCl, no es apropiado el uso de estándares comerciales. Giner-Chavez *et al.* (1997) demostraron que al utilizar estándares de delfinidina y cianidina, se genera una subestimación del contenido de n-PAC, debido a que estos estándares producen cromóforos que en la reacción del butanol ácido tienden a una alta absorbancia a 550 nm; de esta manera se sugiere el uso de un patrón propio de PACs derivado de la matriz en estudio.^{35,62} Es por ello que se justifica que la curva de calibración para la cuantificación de n-PAC se realizara a partir del estándar de t-PAC (Anexo 3).

En el Tabla 3 se muestran los valores obtenidos de la determinación de las e-PAC y n-PAC en las muestras de tegumento de maní expresados como miligramos equivalentes de t-PAC por gramo de muestra seca. Al aplicar la prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0,05$), existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias de las muestras.

Estas diferencias se pueden atribuir a múltiples factores, entre los cuales se pueden mencionar: la variedad genética del maní en la que se distinguen diversos tamaños en su grano y el color de su tegumento (por ejemplo, la variedad Spanish es de granos pequeños y tegumento de un color marrón rojizo y la variedad Virginia es de granos de gran tamaño y tegumento de color café claro), la procedencia de la muestra, el grado de maduración al momento de la cosecha, factores edáficos, y el procesamiento del maní (en el que se incluye técnicas de tostado y secado).⁶³

Lo anterior demuestra la diversidad polifenólica de la matriz estudiada, lo cual es de gran importancia para esta investigación, ya que al presentarse distintos perfiles fenólicos en los que las concentraciones de PACs varían entre las muestras, genera un escenario real en el que esa diferenciación entre la composición de las muestras podría ser escalable a matrices distintas a la de estudio.

Tabla 3. Resultados del contenido de proantocianidinas extraíbles y no extraíbles presentes en las muestras de tegumento de maní, empleando el método de DMAC y Butanol-HCl respectivamente

Muestra	e-PAC	n-PAC
	mg eq de t-PAC/g de muestra seca	mg eq de t-PAC/g de muestra seca
Jumbo Raw	195,9 ± 8,2 ^{bc*}	27,6 ± 6,4 ^{f*}
Organic Raw	50,8 ± 2,2 ^j	58,9 ± 2,1 ^b
Organic Wild Jungle Raw	90,5 ± 1,5 ⁱ	62,0 ± 2,2 ^b
Raw Redskin	182,5 ± 6,2 ^{de}	39,8 ± 2,2 ^{de}
Raw Spanish	191,0 ± 4,0 ^{cd}	43,6 ± 4,3 ^{cd}
Raw Virginia	159,5 ± 5,4 ^f	56,9 ± 3,3 ^b
Dry Roasted Spanish	143,4 ± 6,4 ^{gh}	48,4 ± 1,9 ^c
Jumbo Roasted	180,6 ± 7,4 ^e	38,4 ± 2,6 ^{de}
Organic Dry Roasted	34,0 ± 0,7 ^k	42,8 ± 2,1 ^d
Organic Wild Jungle Roasted	98,0 ± 4,6 ⁱ	76,3 ± 5,8 ^a
Over Roasted Spanish	151,9 ± 5,4 ^{fg}	26,4 ± 4,9 ^f
Roasted Redskin	213,5 ± 10,4 ^a	43,0 ± 2,1 ^{cd}
Roasted Virginia	135,8 ± 5,4 ^h	36,3 ± 1,7 ^e
Roasted Virginia Supreme	204,8 ± 10,0 ^{ab}	34,9 ± 1,8 ^e

*Los valores son medias ± desviación estándar de nueve repeticiones. Medias con letras diferentes dentro de una fila son estadísticamente significativas, según la prueba estadística de Tukey ($p \leq 0,05$).

Las diferencias encontradas en las cantidades de e-PAC entre las muestras son producto de la cinética de reacción de cada muestra durante el ensayo de DMAC, mientras

que en las n-PAC se dan a partir de la cantidad de oligómeros generados a partir de la reacción con Butanol-HCl.

Como resultado, las e-PAC en el tegumento de maní corresponde a un rango de valores entre los (50,8-204,8) mg t-PAC/g de muestra seca, lo que representa en promedio un 14,5 % (m/m). El resultado obtenido es similar al anteriormente reportado por Karchesy y Hemingway (1986), el cual correspondía a aproximadamente un 17 % (m/m).¹² Por otro lado, los valores obtenidos de n-PAC comprenden valores entre (26,4-76,3) mg t-PAC/g de muestra seca, lo que representa en promedio 4,5 % (m/m).

Las variedades que contienen mayor cantidad de e-PAC corresponde a Roasted Virginia Supreme y Roasted Redskin; mientras que las que contienen mayor cantidad de n-PAC corresponden a una misma especie que es la Organic Wild Jungle. En ciertas muestras como la Jumbo Raw y Organic Raw, se observa una mayor cantidad de e-PAC y n-PAC en sus muestras crudas; por otro lado, en muestras como la Organic Wild Jungle Roasted y Roasted Redskin son mayores en sus muestras tostadas.

Se puede observar que la cantidad de PACs presentes en el tegumento de maní puede variar según su coloración. El tegumento de maní presenta colores entre amarillentos-café y marrones-rojizos. Como resultado las muestras que presentan una coloración más amarillenta (como la Virginia) contienen una mayor cantidad de PACs en comparación a aquellas que presentan una coloración más rojiza (como la Spanish). Dicha tendencia fue demostrada por Chukwumah, *et al.* (2009), quienes encontraron una correlación positiva entre la cantidad de PACs y la coloración amarillenta del tegumento de maní, mientras que aquellos tegumentos con una coloración rojiza mostraron una correlación negativa.⁶⁴

Como se observa en la Tabla 3, la mayoría de las muestras presentan una mayor cantidad de e-PAC en comparación con las n-PAC. Esto es debido a que el tegumento de maní al recubrir y proteger los cotiledones del ambiente exterior, presenta altas cantidades de compuestos fenólicos que le proporciona una actividad antioxidante al capturar radicales libres (como los aniones hidroxilo y superóxido) y quelar iones metálicos.⁶⁵ Para cumplir dicha función, el tegumento de maní debe presentar una mayor cantidad de compuestos

fenólicos disponibles, en comparación con aquellos que se encuentran formando interacciones intermoleculares con la matriz fibrosa.

5.2.1 Determinación de la fibra dietética insoluble, fibra dietética soluble y fibra dietética total en las muestras de tegumento de maní

La determinación de la FDI, FDS y FDT en las muestras de tegumento de maní, se realizó siguiendo las metodologías descritas por ANKOM Technology, el cual corresponde a métodos enzimáticos-gravimétricos. De acuerdo con la metodología descrita, a los residuos que se obtuvieron de FDI y FDS, se les realizó correcciones para descontar las proteínas y ceniza remanentes.⁶⁶

Dichas correcciones son necesarias ya que corresponden a componentes que no se incluyen dentro del concepto de fibra y retribuye a ser interferencias en el reporte final de su concentración. Los resultados obtenidos de los remanentes de proteína y ceniza en los residuos de la FDI y la FDS de las muestras de tegumento de maní se muestran en la Tabla 4, expresados como su porcentaje en peso seco de residuo de fibra.

En el residuo de la FDI se obtuvo valores de proteína entre (13,4-17,4) % m/m, mientras que en los residuos de la FDS se presentó en concentraciones entre (0,6-1,6) % m/m. Estos valores obtenidos demuestran que existe proteína intracelular que no se elimina por completo durante el tratamiento enzimático. Anteriormente, autores han sugerido que esto se debe a que estas forman complejos moleculares con taninos, lo que provoca dificultad para su total extracción; asimismo, los taninos pueden provocar la inhibición de la proteasa, favoreciendo que la proteína se precipite durante el tratamiento térmico.^{9,67}

Por otra parte, los remanentes de ceniza en los residuos de la FDI se encuentran entre (2,3-4,1) % m/m, mientras que en la FDS entre (6,5-16,8) % m/m. Estos remanentes pueden estar relacionados con la asociación de minerales a los polisacáridos de las paredes celulares.⁶⁷

Tabla 4. Resultados del contenido de proteína y de ceniza en los residuos de la fibra dietética insoluble y la fibra dietética soluble en las muestras de tegumento de maní

Muestra	FDI		FDS	
	Proteína (%)	Ceniza (%)	Proteína (%)	Ceniza (%)
Jumbo Raw	15,7	3,7	0,7	10,7
Organic Raw	12,1	4,1	1,3	8,9
Organic Wild Jungle Raw	17,4	3,7	1,6	13,7
Raw Redskin	15,5	3,3	1,0	16,7
Raw Spanish	14,7	3,6	0,8	6,7
Raw Virginia	15,9	3,5	1,3	12,2
Dry Roasted Spanish	15,2	3,4	1,3	8,0
Jumbo Roasted	16,1	3,2	1,6	9,2
Organic Dry Roasted	13,4	3,7	1,2	11,3
Organic Wild Jungle Roasted	17,3	3,6	0,6	9,8
Over Roasted Spanish	15,1	3,4	0,8	6,5
Roasted Redskin	15,1	3,3	1,0	16,8
Roasted Virginia	16,3	2,9	1,1	9,9
Roasted Virginia Supreme	14,8	2,3	0,9	12,0

Una vez que se determinaron los remanentes de proteína y de ceniza en los residuos de la FDI y FDS, se realizó el respectivo descuento al residuo de las fibras de la manera en que se indica en las Ecuaciones 1 y 2. En la Tabla 5 se muestra los resultados de la FDI, FDS y FDT expresados como porcentaje de fibra en peso seco de muestra de tegumento de maní. Al aplicar la prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0,05$), existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias de las muestras.

Como resultado, el rango de valores de la FDI varía entre (56,6-65,2) % m/m, en las que se presenta variaciones pequeñas entre las especies de maní y una tendencia a disminuir en las muestras tostadas. La muestra con mayor contenido es la Roasted Virginia Supreme con $65,2 \pm 0,7$ % (m/m). En cuanto a la cantidad de FDS en las muestras es de (5,1-10,6) % m/m, donde se muestra una disminución en la cantidad de fibra en las muestras crudas. La muestra con mayor contenido es la Over Roasted Spanish con $10,6 \pm 0,2$ % (m/m).

Por otra parte, los resultados obtenidos de la FDT corresponden a (67,2-74,4) % m/m. Estos valores son mayores a los reportados anteriormente por Muñoz-Arrieta *et al.* en el 2021, de tres especies distintas (Spanish, Valencia y Virginia) de tegumento de maní crudo.¹¹ Estas diferencias puede deberse a la procedencia de los lotes de las muestras en estudio.

Tabla 5. Resultados del contenido de fibra dietética insoluble, fibra dietética soluble y fibra dietética total en las muestras de tegumento de maní, empleando el método estandarizado de la AOAC 991.43 utilizando el equipo automatizado ANKOM^{TDF} Dietary Fiber Analyzer

Muestra	FDI (%)	FDS (%)	FDT (%)
Jumbo Raw	63,5 ± 0,2 ^{bc*}	5,1 ± 0,3 ^{d*}	68,6
Organic Raw	63,9 ± 0,1 ^{bc}	9,5 ± 0,6 ^{ab}	73,4
Organic Wild Jungle Raw	64,6 ± 0,3 ^{ab}	9,5 ± 0,7 ^{ab}	74,0
Raw Redskin	61,7 ± 0,5 ^d	6,7 ± 0,3 ^c	68,4
Raw Spanish	60,8 ± 0,4 ^{bc}	7,6 ± 0,2 ^c	68,4
Raw Virginia	63,9 ± 0,6 ^g	10,4 ± 0,6 ^{ab}	74,4
Dry Roasted Spanish	56,6 ± 0,1 ^{de}	10,6 ± 0,7 ^a	67,2
Jumbo Roasted	63,0 ± 0,5 ^c	7,5 ± 0,1 ^c	70,5
Organic Dry Roasted	60,2 ± 0,6 ^{ef}	10,6 ± 0,2 ^a	70,8
Organic Wild Jungle Roasted	64,0 ± 0,3 ^{bc}	9,2 ± 0,5 ^b	73,2
Over Roasted Spanish	59,0 ± 0,2 ^f	10,6 ± 0,2 ^a	69,7
Roasted Red Skin	59,3 ± 0,4 ^f	9,2 ± 0,3 ^b	68,4
Roasted Virginia	63,4 ± 0,1 ^{bc}	9,8 ± 0,4 ^{ab}	73,3
Roasted Virginia Supreme	65,2 ± 0,7 ^a	7,1 ± 0,6 ^c	72,3

*Los valores son medias ± desviación estándar de tres repeticiones. Medias con letras diferentes dentro de una fila son estadísticamente significativas, según la prueba estadística de Tukey ($p \leq 0,05$).

Actualmente en el mercado existe una considerable demanda de productos altos en FD debido sus beneficios sobre la salud humana, ya que contribuye a la regulación de la digestión y a la prevención o tratamiento de enfermedades.^{2,23} A nivel comercial los productos de FDT se encuentran con un contenido mayor al 50 %.⁴ Como se observa, el tegumento de maní contiene altas cantidades de FDT, lo que corresponde a uno de sus

principales componentes. Los resultados obtenidos sugieren que el tegumento podría tener potencial para ser utilizado como producto de fibra comercial.

Cuando se refiere a la FD es importante tomar en cuenta características como el tamaño de la partícula, la fuente, y la proporción de FDI y FDS.⁴ La FDI permite la aceleración del paso de los alimentos por el estómago e intestinos, mientras que la FDS propicia una digestión más lenta ya que absorbe el agua y lo transforma a gel.²³ En la Figura 12 se muestra gráficamente la composición de la FDT en sus proporciones de FDI y FDS presentes en las muestras de tegumento de maní.

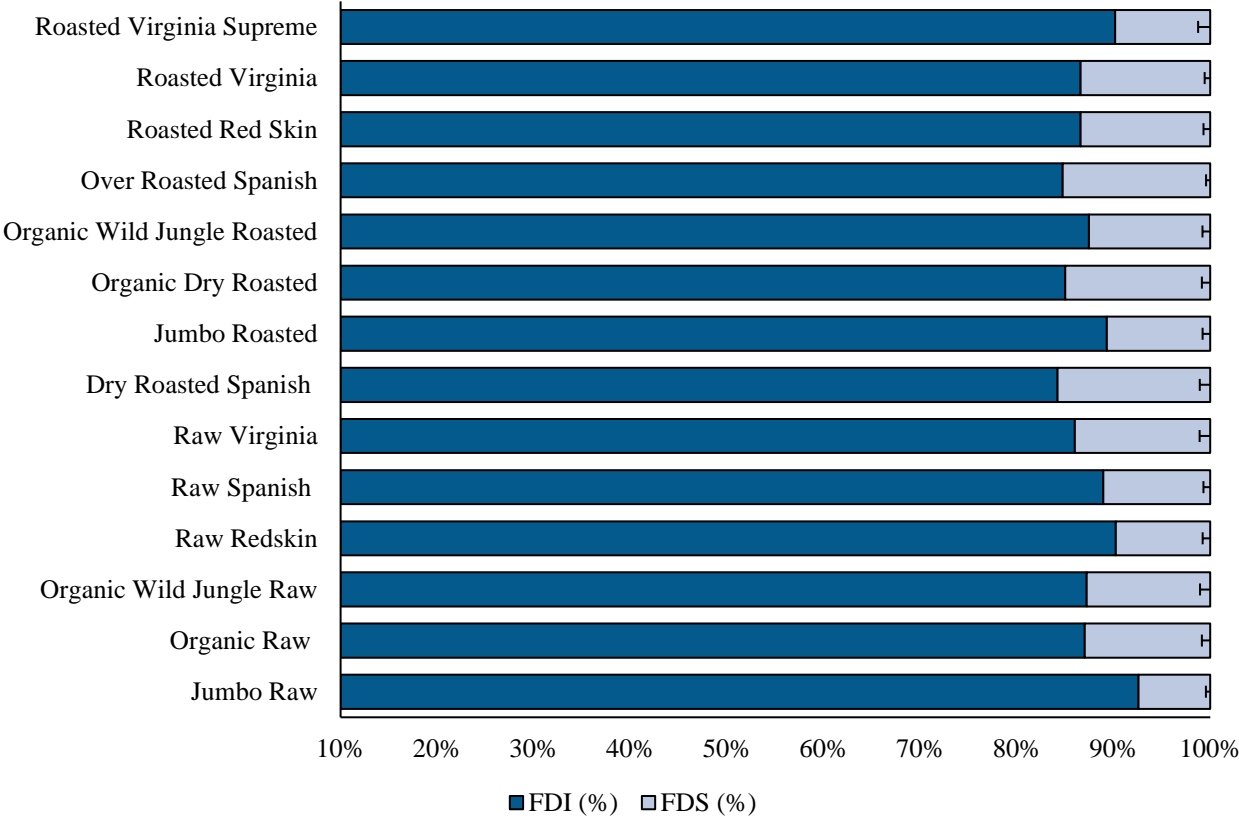


Figura 12. Composición de la fibra dietética total en sus proporciones de fibra dietética insoluble y fibra dietética soluble en las muestras de tegumento de maní

Como se observa, en las muestras de tegumento de maní la FDI es el componente mayoritario de la FDT la cual representa en promedio un 87,6 %, mientras que la FDS en promedio un 12,4 %. Los valores obtenidos indican una relación aproximada de 1:7 (FDS:FDI), posicionando al tegumento de maní a ser utilizado como un posible ingrediente

alimenticio, dado a que estos productos son considerados aceptables cuando sus valores de proporción de es de 1:2.⁴

Teniendo eso en cuenta, se podría decir que el tegumento de maní presenta un potencial como fuente de fibra en la industria alimentaria. Su uso como ingrediente alimenticio complementario en la dieta humana podría ser una alternativa viable para la obtención de los beneficios nutricionales y saludables de la FD.

Existe una gran variedad de compuestos no convencionales que se encuentran asociados a la FD. Entre estos se puede mencionar compuestos fenólicos, donde se encuentran incluidos los taninos. A pesar de que estos compuestos pueden proporcionar propiedades semejantes a la FD, estos no han sido incluidos dentro de su concepto debido a que pueden ser altamente variables e impredecibles. Cuando el contenido de estos compuestos es significativo, se pueden producir errores de sobreestimación en la concentración de la fibra.^{2,66,68}

Es debido a lo anterior, y tomando como evidencia previa de la cantidad de PACs que hay en el tegumento de maní, que se cuantificó las e-PAC y n-PAC en los residuos de la FDI y FDS de las muestras de tegumento de maní.

5.2.2. Determinación de las proantocianidinas extraíbles y las proantocianidinas no extraíbles en los residuos de la fibra dietética insoluble y la fibra dietética soluble en las muestras de tegumento de maní

En el Tabla 7 se muestra los resultados obtenidos de la cuantificación de las e-PAC expresados como miligramos equivalentes de patrón t-PAC por gramo de muestra seca, y las n-PAC expresados como miligramos equivalentes de patrón t-PAC por gramo de muestra seca, en los residuos de la FDI y FDS.

Tabla 7. Resultados del contenido proantocianidinas extraíbles y proantocianidinas no extraíbles en los residuos de la fibra dietética insoluble y la fibra dietética soluble en las muestras de tegumento de maní, empleando el método de DMAC y Butanol-HCl respectivamente

Muestra	Residuo FDI		Residuo FDS		FDT***	
	e-PAC	n-PAC	e-PAC	n-PAC	e-PAC	n-PAC
	mg eq de p-PAC/g de muestra seca		mg eq de p-PAC/g de muestra seca		mg eq de p-PAC/g de muestra seca	
Jumbo Raw	**	17,5 ± 1,9 ^{h*}	**	6,8 ± 0,5 ^{f*}	—	24,3
Organic Raw	**	13,4 ± 1,8 ⁱ	**	10,4 ± 1,9 ^{def}	—	23,8
Organic Wild Jungle Raw	**	30,5 ± 2,9 ^{bc}	**	48,2 ± 7 ^a	—	78,7
Raw Redskin	**	19,9 ± 0,7 ^{gh}	**	14,7 ± 1,7 ^{cd}	—	34,6
Raw Spanish	**	22,9 ± 5,0 ^{efg}	**	23,3 ± 3,7 ^b	—	46,2
Raw Virginia	0,60 ± 0,03 ^{e*}	23,6 ± 4,2 ^{efg}	**	22,8 ± 5 ^b	0,6	46,4
Dry Roasted Spanish	1,6 ± 0,2 ^b	24,2 ± 3,6 ^{ef}	1,3 ± 0,2 ^{c*}	18,4 ± 1,6 ^a	1,9	42,6
Jumbo Roasted	1,7 ± 0,1 ^b	26,1 ± 2,7 ^{de}	2,0 ± 0,1 ^b	7,6 ± 0,7 ^{ef}	3,7	33,7
Organic Dry Roasted	1,22 ± 0,04 ^c	10,4 ± 0,5 ⁱ	0,7 ± 0,1 ^d	8,2 ± 0,2 ^{ef}	1,5	18,6
Organic Wild Jungle Roasted	**	34,8 ± 0,9 ^a	**	45,7 ± 1,9 ^a	—	80,5
Over Roasted Spanish	2,2 ± 0,1 ^a	26,1 ± 2,1 ^{de}	3,6 ± 0,2 ^a	6,4 ± 1,7 ^b	5,8	32,5
Roasted Red Skin	0,84 ± 0,05 ^d	33,8 ± 1,8 ^{ab}	**	11,3 ± 1,5 ^{de}	0,8	45,1
Roasted Virginia	0,8 ± 0,1 ^d	29,4 ± 1,7 ^{cd}	1,2 ± 0,2 ^c	16,7 ± 0,7 ^c	2,0	46,1
Roasted Virginia Supreme	**	20,6 ± 1,0 ^{fgh}	**	18,0 ± 1,1 ^c	—	38,6

*Los valores son medias ± desviación estándar de nueve repeticiones. Medias con letras diferentes dentro de una fila son estadísticamente significativas, según la prueba estadística de Tukey ($p \leq 0,05$).

** Valor inferior al $LDC_{(e-PAC)} = 0,0078$ mg/mL

*** Calculado por sumatoria (Residuo FDI + Residuo FDS).

Como resultado, hay presencia de PACs en los residuos de la FDI y FDS de las distintas variedades de tegumento de maní. Al aplicar la prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0,05$), existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias de las muestras.

El valor máximo de e-PAC en la FDI es de $2,2 \pm 0,1$ mg t-PAC/g de muestra seca, mientras que las n-PAC se presentan en valores entre los (6,4-33,8) mg t-PAC/g de muestra seca. Por otro lado, en la FDS el valor máximo de e-PAC es de $3,6 \pm 0,2$ mg t-PAC/g de muestra seca, y de n-PAC valores entre los (10,4-48,2) mg t-PAC/g de muestra seca.

Como se observa, en los residuos de la FDI y la FDS las e-PAC representan valores bajos o por debajo del límite de cuantificación. Por otra parte, en los residuos de la FDI las n-PAC se presentan con valores mayores. En investigaciones anteriores realizados por Saura-Calixto (1987) y Saura-Calixto *et al.* (1991) se demostró que en la determinación de la FDI y FDS mediante métodos enzimáticos hay fracciones remanentes de PACs en los residuos de dichas fibras.^{69,70}

Hay muestras en las que la cantidad de e-PAC no fueron cuantificables, esto de acuerdo con el límite de cuantificación y el límite de detección (Anexo 2 y 3) los cuales se determinaron mediante regresión lineal conforme a las Ecuaciones 9 y 10 respectivamente.

$$\text{LOC} = \frac{10 \times S_{y/x}}{b} \quad (\text{Ecuación 9})$$

$$\text{LOD} = \frac{3 \times S_{y/x}}{b} \quad (\text{Ecuación 10})$$

donde, $S_{y/x}$ es la desviación estándar de la respuesta y b es la pendiente de la curva de calibración.⁷¹

Como se puede apreciar en el Tabla 7, existe una considerable proporción de remanentes de PACs en los residuos de la FDI y FDS. Para justificar dichos remanentes, es importante evaluar el procesamiento que se le realiza a la muestra para el aislamiento de los residuos de la FDI y FDS mediante el Método de la AOAC 991.43 y utilizando el equipo automatizado ANKOM^{TDF} Dietary Fiber Analyzer (ver Anexo 4).

El procesamiento de digestión enzimática a la cual se somete la muestra provoca la degradación de compuestos en su matriz. La degradación de las PACs fue producto de las condiciones de pH y de temperatura que se utilizan durante esa digestión enzimática. Estas condiciones explican la cantidad tan baja de remanentes de e-PAC en los residuos de las fibras. Por otro lado, los remanentes de n-PAC presentan un valor de cuantificación mayor, ya que al encontrarse unidas a la matriz de la fibra es necesario procesos hidrolíticos más fuertes (a condiciones de pH más ácidos o alcalinos y temperaturas mayores) para su completa extracción.⁹

Además de acuerdo con los remanentes de proteína encontrados en los residuos de la FDI y FDS (Tabla 5) se podría esperar encontrar cantidades importantes de n-PAC debido a que estas forman complejos moleculares con las proteínas.^{9,72,69} Estos complejos se basan principalmente en enlaces de hidrógeno entre los grupos hidroxilo (-OH) de la PAC y el grupo amino (-NH) de los péptidos u otros grupos funcionales. También puede darse mediante interacciones hidrofóbicas entre el anillo fenol de la PAC y el grupo carboxilo (-COOH) de la proteína.⁷³

Asimismo, los remanentes de n-PAC en la FDS puede deberse a la presencia diatomita, la cual es agregadas para el proceso de precipitación de esta fibra. Las tierras diatomeas se encuentran conformadas principalmente por sílice, que en su superficie contienen grupos silanol (Si-OH) expuestos, los cuales son un grupo activo que tiende a reaccionar con compuestos orgánicos polares y varios grupos funcionales.⁷⁴ A partir de ello se podría realizar la suposición que esos grupos silanol presentes en la diatomita podrían interactuar con los grupos polifenólicos de las PACs. Además, la FDS se encuentra conformada por pectina, la cual se ha encontrado que tiene una alta afinidad con las procianidinas al formar bolsas hidrofóbicas que son capaces de encapsularlas.⁶

A partir de los resultados anteriores, es importante estudiar la composición de los residuos de la FDI y FDS, para de este modo determinar si las PACs aportan significativamente al reporte final de la concentración de las FD.

Para ello, en la Figura 13 se muestra las proporciones de los componentes que conforman los residuos de la FDI. Estos corresponden a los remanentes de proteína, ceniza y PACs (totales), y por diferencia la fibra.

Como se puede observar, el remanente que se presenta en mayor proporción es la proteína, seguido de la ceniza y las PACs, las cuales representan en promedio 2,4 % (m/m) del residuo de la FDI en las muestras. En algunas muestras como la Roasted Virginia Supreme los valores de PACs son un componente porcentual similar, o inclusive mayor al de la ceniza.

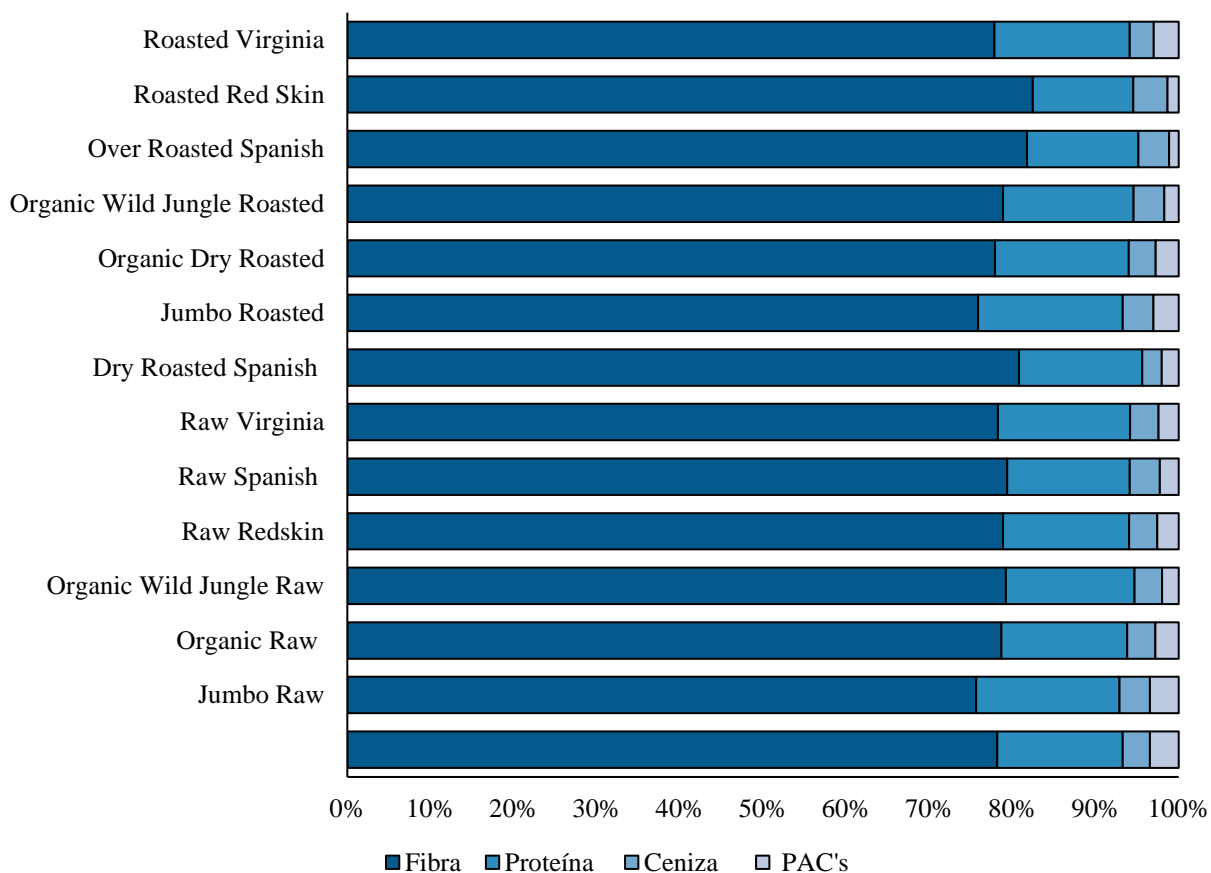


Figura 13. Composición porcentual del residuo de fibra dietética insoluble de las muestras de tegumento de maní

Al demostrarse que los remanentes de PACs en los residuos de la FDI tienen un valor porcentual similar a la de la ceniza, se propone realizar una corrección por PACs calculado mediante la Ecuación 11.

$$\%FDI = \frac{R - P - A - T - B}{M} \cdot 100 \quad (\text{Ecuación 11})$$

donde, M = peso original para la muestra (g); R = residuo de la muestra (g); P = proteína de residuo; (g); A = ceniza de residuo y bolsa (g); T = (e-PAC + n-PAC) de residuo (g); B = blanco (g)

En la Tabla 8 se muestra el valor de la FDI y el valor de la FDI con la corrección por PACs sugerida. En la Figura 14 se muestra gráficamente la distribución de FDI de las muestras y la FDI corregida por la presencia de e-PAC y n-PAC en los residuos de la fibra, tras la realización de la corrección por PACs sugerida.

Tabla 8. Contenido de fibra dietética insoluble y contenido de fibra dietética insoluble con corrección de proantocianidinas en las muestras de tegumento de maní

Muestra	% FDI	% FDI con corrección de PACs
Jumbo Raw	63,5 ± 0,2*	62,2 ± 0,2*
Organic Raw	63,9 ± 0,1	62,9 ± 0,1
Organic Wild Jungle Raw	64,6 ± 0,3	62,1 ± 0,3
Raw Redskin	61,7 ± 0,5	60,2 ± 0,5
Raw Spanish	60,8 ± 0,4	59,1 ± 0,4
Raw Virginia	63,9 ± 0,6	62,0 ± 0,6
Dry Roasted Spanish	56,6 ± 0,1	54,8 ± 0,1
Jumbo Roasted	63,0 ± 0,5	60,8 ± 0,5
Organic Dry Roasted	60,2 ± 0,6	59,3 ± 0,6
Organic Wild Jungle Roasted	64,0 ± 0,3	61,2 ± 0,2
Over Roasted Spanish	59,0 ± 0,2	57,0 ± 0,2
Roasted Red Skin	59,3 ± 0,4	56,8 ± 0,4
Roasted Virginia	63,4 ± 0,1	61,1 ± 0,1
Roasted Virginia Supreme	65,2 ± 0,7	63,6 ± 0,7

*Los valores son medias ± desviación estándar de tres repeticiones

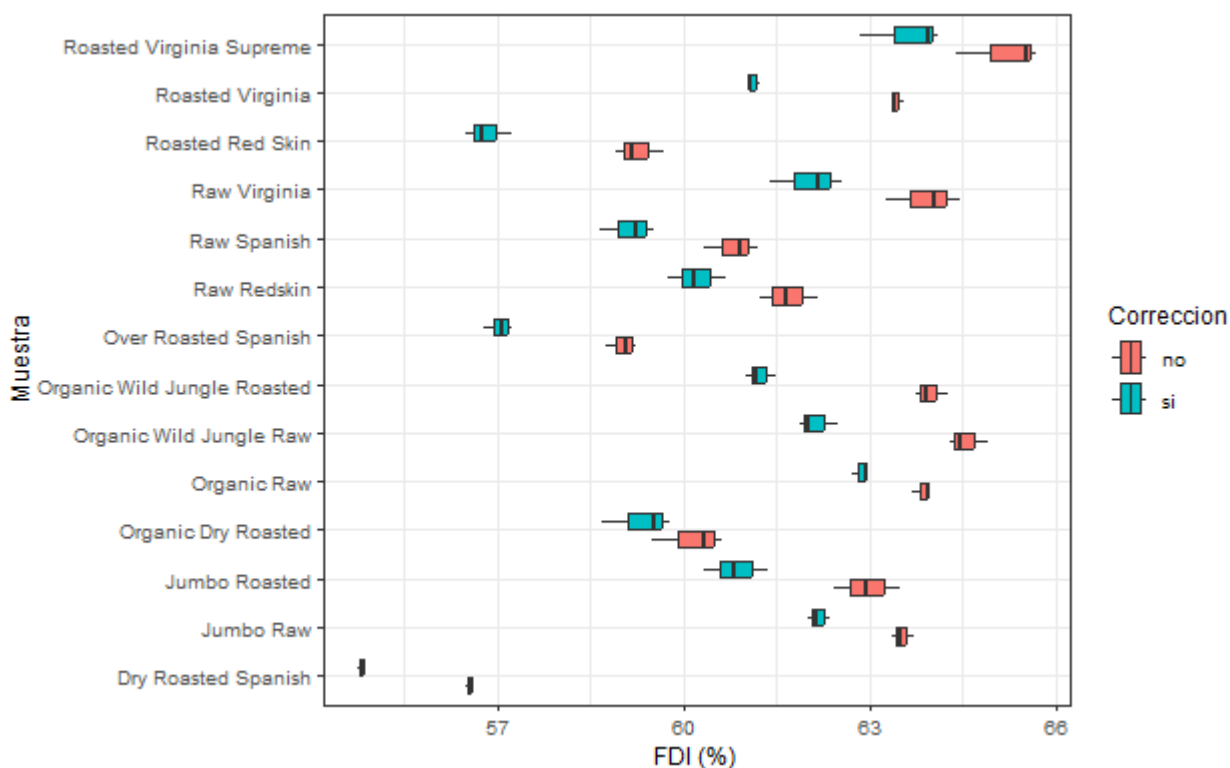


Figura 14. Distribución entre el contenido de la fibra dietética insoluble y el contenido de fibra dietética insoluble con corrección de proantocianidinas en las muestras de tegumento de maní

Como se observa en la Figura 14, el valor de FDI con la corrección por PACs es mayor al valor de la FDI sin la corrección. A partir de ello, se realizó una prueba de ANOVA de un solo factor ($p \leq 0,05$). Como resultado, en todas las muestras, a excepción de la muestra Organic Dry Roasted, se encontró diferencias estadísticamente significativas entre las medias del contenido de la FDI y la FDI con la corrección por PACs.

Por otra parte, para estudiar la composición de la FDS en la Figura 15 se muestra las proporciones de los componentes de sus residuos. En este caso el remanente presente en mayor cantidad es la ceniza, seguido de las PACs que se representan en promedio 1,9 % (m/m) del residuo de la fibra, y la de menor cantidad es la proteína. En todas las muestras los valores de las PACs corresponden a un remanente en mayor proporción a comparación con los valores de los remanentes de proteína.

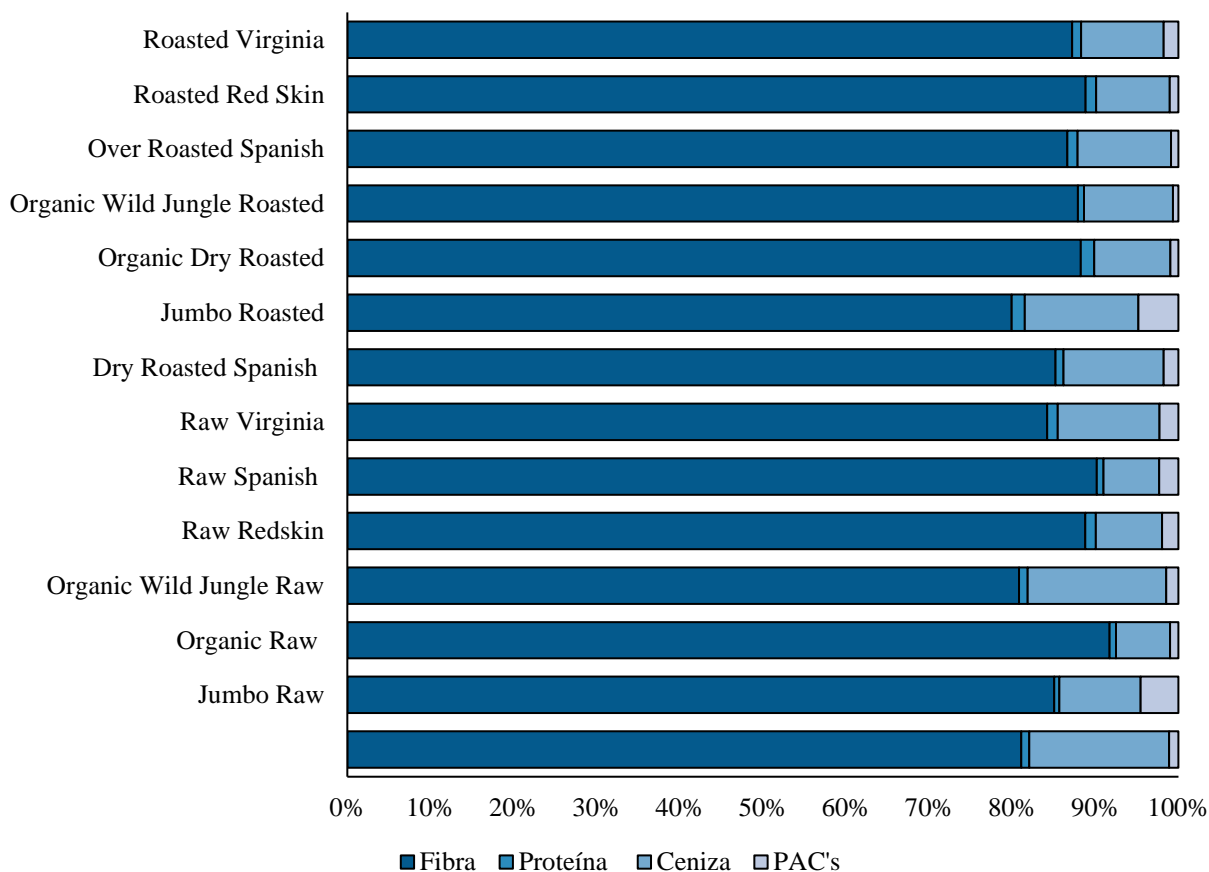


Figura 15. Composición porcentual del residuo de la fibra dietética soluble de las muestras de tegumento de maní

Al demostrarse que los remanentes de PACs en los residuos de la FDS tienen un valor porcentual mayor que los valores de proteína, se propone realizar una corrección por PACs calculado mediante la Ecuación 12.

$$\%FDS = \frac{R - D - P - A - T - B}{M} \cdot 100 \quad (\text{Ecuación 12})$$

donde, M = peso original para la muestra (g); R = residuo de la muestra (g); D = peso original de tierra de diatomeas (g); P = proteína de residuo; (g); A = ceniza de residuo y bolsa (g); T = (e-PAC + n-PAC) de residuo (g); B = blanco (g)

En la Tabla 9 se muestra el valor de la FDS y el valor de la FDS con la corrección por PACs sugerida. En la Figura 16 se muestra gráficamente la distribución de FDS de las

muestras y la FDS corregida por la presencia de e-PAC y n-PAC en los residuos de la fibra, tras la realización de la corrección por PACs sugerida.

Tabla 9. Comparación de medias de Tukey entre el contenido de fibra dietética soluble y el supuesto contenido de fibra dietética soluble con corrección de proantocianidinas en las muestras de tegumento de maní

Muestra	% FDS	% FDS con corrección de PACs
Jumbo Raw	5,1 ± 0,3*	5,1 ± 0,3*
Organic Raw	9,5 ± 0,6	9,4 ± 0,6
Organic Wild Jungle Raw	9,5 ± 0,7	9,0 ± 0,7
Raw Redskin	6,7 ± 0,3	6,6 ± 0,2
Raw Spanish	7,6 ± 0,2	7,4 ± 0,2
Raw Virginia	10,4 ± 0,6	10,2 ± 0,5
Dry Roasted Spanish	10,6 ± 0,7	10,4 ± 0,7
Jumbo Roasted	7,5 ± 0,1	7,5 ± 0,1
Organic Dry Roasted	10,6 ± 0,2	10,5 ± 0,2
Organic Wild Jungle Roasted	9,2 ± 0,5	8,7 ± 0,5
Over Roasted Spanish	10,6 ± 0,2	10,5 ± 0,2
Roasted Red Skin	9,2 ± 0,3	9,1 ± 0,3
Roasted Virginia	9,8 ± 0,4	9,7 ± 0,4
Roasted Virginia Supreme	7,1 ± 0,6	7,0 ± 0,6

*Los valores son medias ± desviación estándar de tres repeticiones

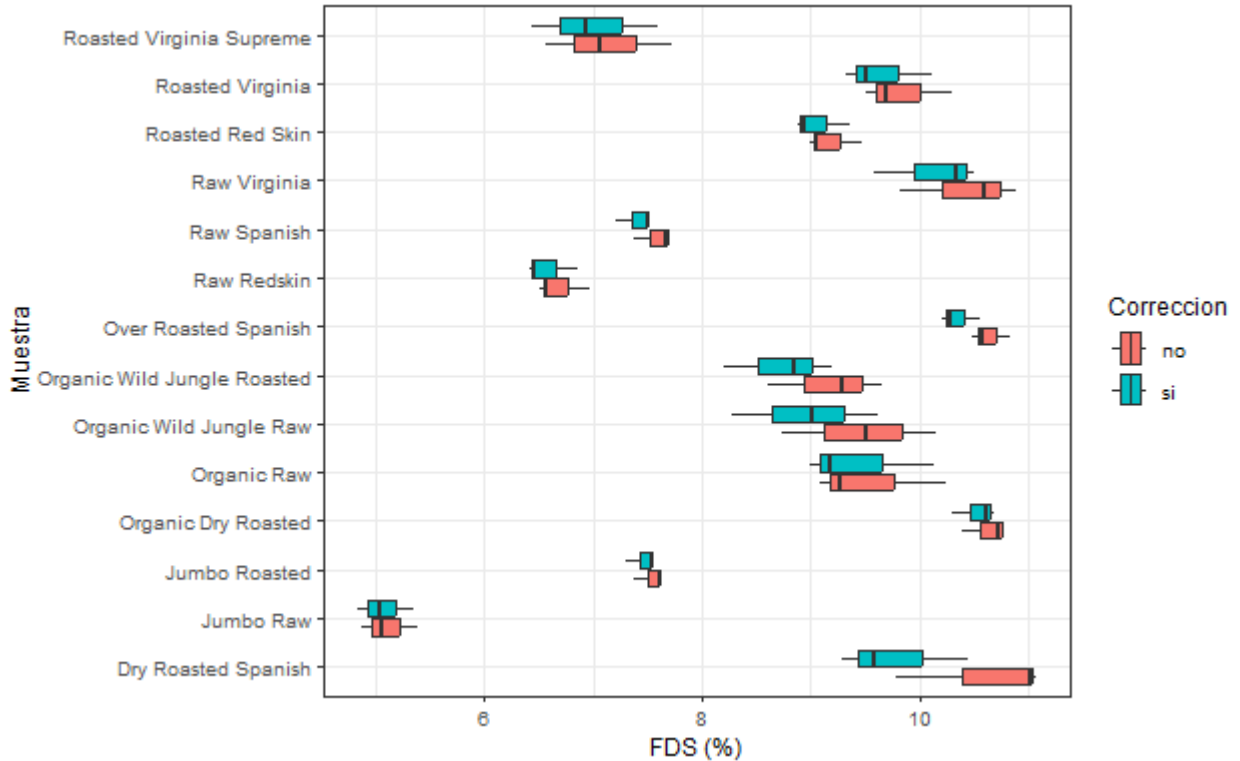


Figura 16. Distribución entre el contenido de fibra dietética soluble y el supuesto contenido de fibra dietética soluble con corrección de proantocianidinas en las muestras de tegumento de maní

Como se observa en la Figura 16, el valor de FDS con la corrección por PACs es mayor al valor de la FDS sin la corrección. A partir de ello, se realizó una prueba de ANOVA de un solo factor ($p \leq 0,05$). Como resultado, en todas las muestras se encontró diferencias estadísticamente significativas entre las medias del contenido de la FDS y la FDS con la corrección por PACs.

A pesar de que los resultados obtenidos no mostraron una diferencia estadísticamente significativa entre la FDS y la FDS con corrección por PACs, es importante considerar que, como se evidenció en la Figura 15, la composición porcentual de remanentes de PACs en la FDS es mayor que el de proteína, la cual corresponde a una corrección que es establecida en la metodología.

Asimismo, determinó que FDT de las muestras de tegumento de maní está compuesta mayoritariamente por la FDI, en la que se encontró que sí hay diferencias estadísticamente significativas al realizar la corrección por los remanentes de PACs. Por lo tanto, es importante

considerar una posible corrección de remanentes de PACs para las fracciones de FDI, FDS y FDT.

5.3.1. Determinación de la fibra cruda en las muestras de tegumento de maní

La determinación de la FC en las muestras de tegumento de maní se realizó siguiendo la metodología descrita por ANKOM Technology, la cual corresponde a un método gravimétrico. Para este caso, a los residuos de dicha fibra se les realizó correcciones para descontar la ceniza remanente.⁵⁹

Esta corrección es necesaria ya que corresponde a un interferente del reporte final de la FC. Los resultados obtenidos de remanente de ceniza en los residuos de la FC se muestran en la Tabla 10, expresados como porcentaje de ceniza en peso seco de residuo de fibra. Como resultado, se obtuvo valores que corresponden a (0,8-6,6) % m/m de ceniza.

Tabla 10. Resultados del contenido de ceniza en los residuos de la fibra cruda en las muestras de tegumento de maní

Muestra	Ceniza (%)
Jumbo Raw	1,9
Organic Raw	6,6
Organic Wild Jungle Raw	1,4
Raw Redskin	2,1
Raw Spanish	2,5
Raw Virginia	1,8
Dry Roasted Spanish	2,2
Jumbo Roasted	2,2
Organic Dry Roasted	2,4
Organic Wild Jungle Roasted	1,1
Over Roasted Spanish	1,2
Roasted Red Skin	0,8
Roasted Virginia	1,4
Roasted Virginia Supreme	1,6

Una vez que se determinó el remanente de ceniza, se realizó el respectivo descuento al residuo de la FC de la manera en que se indica en la Ecuación 6. Los resultados finales obtenidos de la FC se muestran en la Tabla 11 expresados como porcentaje de fibra en peso seco de muestra de tegumento de maní. Al aplicar la prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0,05$), existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias de las muestras.

Tabla 11. Resultados del contenido de fibra cruda en las muestras de tegumento de maní, empleando el método descrito por ANKOM Technology

Muestra	FC (%)
Jumbo Raw	19,2 ± 0,2 ^{def*}
Organic Raw	21,6 ± 0,1 ^a
Organic Wild Jungle Raw	21,5 ± 0,7 ^{ab}
Raw Redskin	20 ± 0,2 ^{bcde}
Raw Spanish	19,6 ± 0,1 ^{cdef}
Raw Virginia	20,6 ± 0,1 ^{abcd}
Dry Roasted Spanish	14,7 ± 0,2 ⁱ
Jumbo Roasted	17,5 ± 1,1 ^{gh}
Organic Dry Roasted	18,8 ± 0,2 ^{efg}
Organic Wild Jungle Roasted	19,9 ± 1,0 ^{cdef}
Over Roasted Spanish	16,3 ± 1,1 ^{hi}
Roasted Red Skin	18,3 ± 0,2 ^{fg}
Roasted Virginia	20,9 ± 0,3 ^{abc}
Roasted Virginia Supreme	20,6 ± 0,2 ^{abcd}

*Los valores son medias ± desviación estándar de tres repeticiones. Medias con letras diferentes dentro de una fila son estadísticamente significativas, según la prueba estadística de Tukey ($p \leq 0,05$).

Como resultado final, los valores de FC en las muestras de tegumento de maní corresponden a valores entre (14,7-21,6) % m/m. Se muestra una tendencia en la que la mayoría de las muestras tienen mayor cantidad de FC cuando son crudas. La muestra con mayor contenido es la Organic Raw con (21,6 ± 0,1) % m/m. Estos son valores similares a

los anteriormente reportado por Hill *et al.* en 1987 en el tegumento de maní, el cual correspondía a un 14,3 % (m/m) de FC en el tegumento de maní.⁷⁵

Los resultados obtenidos de la FC son menores en comparación con la FD debido a que en el procesamiento de digestión ácida y digestión básica, se solubilizan en gran cantidad compuestos que conforman la FD, tales como la lignina y hemicelulosa. Esta fibra comúnmente es relacionada negativamente con la digestibilidad y el valor energético de los alimentos, ya que constituye a la parte menos digerible de la pared celular.¹

Dado a que en el proceso de determinación de la FC se solubilizan grandes cantidades de compuestos que conforman la pared celular, se determinó si existen remanentes de e-PAC y n-PAC en los residuos de la fibra que resistentes a los procesos de digestión ácida y alcalina.

5.3.2. Determinación de las proantocianidinas extraíbles y proantocianidinas no extraíbles en los residuos de la fibra cruda en las muestras de tegumento de maní

En la Tabla 12 se muestran los resultados obtenidos de la cuantificación de las e-PAC expresados como miligramos equivalentes de patrón t-PAC por gramo de muestra seca, y las n-PAC expresados como miligramos equivalentes de patrón t-PAC por gramo de muestra seca, en los residuos de la FC.

Como resultado, hay presencia de PACs en los residuos de la FC de las distintas variedades de tegumento de maní. Al aplicar la prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0,05$), existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias de las muestras.

Las e-PAC únicamente fueron cuantificables en la muestra Over Roasted Spanish con un valor de $1,5 \pm 0,01$ mg t-PAC/g de muestra seca de residuo de fibra. Por otra parte, las n-PAC fueron cuantificables en la mayoría de las muestras, con valores entre (0,8-5,4) mg t-PAC/g de muestra seca de residuo de fibra. Hay muestras en las que no se cuantificó remanentes de e-PAC y n-PAC de acuerdo con el LDC como es el caso, por ejemplo, de la muestra Raw Spanish y Organic Dry Roasted.

Tabla 12. Resultados del contenido proantocianidinas extraíbles y proantocianidinas no extraíbles en los residuos de la fibra cruda en las muestras de tegumento de maní, empleando el método de DMAC y Butanol-HCl respectivamente

Muestra	Residuo FC	
	e-PAC	n-PAC
	mg eq de p-PAC/g de muestra seca	
Jumbo Raw	**	1,0 ± 0,1 cd*
Organic Raw	**	**
Organic Wild Jungle Raw	**	1,4 ± 0,2 b
Raw Redskin	**	1,2 ± 0,1 bc
Raw Spanish	**	**
Raw Virginia	**	1,0 ± 0,1 cd
Dry Roasted Spanish	**	0,8 ± 0,1 cd
Jumbo Roasted	**	0,8 ± 0,1 d
Organic Dry Roasted	**	**
Organic Wild Jungle Roasted	**	5,4 ± 0,6 a
Over Roasted Spanish	1,5 ± 0,1	0,8 ± 0,1 d
Roasted Red Skin	**	**
Roasted Virginia	**	1,0 ± 0,1
Roasted Virginia Supreme	**	1,1 ± 0,1

*Los valores son medias ± desviación estándar de nueve repeticiones. Medias con letras diferentes dentro de una fila son estadísticamente significativas, según la prueba estadística de Tukey ($p \leq 0,05$).

** Valor inferior al $LDC_{(e-PAC)} = 0,0078$ mg/mL y $LDC_{(n-PAC)} = 0,0011$

Para justificar que los remanentes de e-PAC no fueron cuantificables y que los de n-PAC son muy bajos, es importante considerar el procesamiento a la que se somete la muestra para el aislamiento de los residuos de FC mediante el método descrito por ANKOM Technology (ver Anexo 5).⁵⁹

Para la determinación de la FC a las muestras se les realiza dos procesos de hidrólisis con el fin de extraer ciertos compuestos de la pared celular. Así pues, el método utiliza ácido para disolver la hemicelulosa presente en las muestras, mientras que el uso del álcali tiene

como finalidad extraer las proteínas, pero en este también se puede solubilizar algunos compuestos fenólicos y lignina.¹

La degradación de las PACs en la FC fue producto de los procesos de hidrolíticos anteriormente mencionados. Las PACs son compuestos que presentan valores diferentes de constante de ionización (pKa) en sus grupos hidroxilo (-OH), con un carácter altamente alcalino, en el que Herrero-Martínez *et al.* (2005) reportaron que los valores de pKa de la catequina se encuentran en un rango de 8-11.⁷⁶ En condiciones alcalinas fuertes se ha reportado que las PACs resultan en la ruptura del enlace interflavánico C-C que conecta sus unidades monoméricas y en la degradación por apertura del anillo A del flavan-3-ol. Lo anterior también sucede bajo condiciones ácidas, en la que la ruptura de sus enlaces interflavánicos da lugar a subunidades inferiores en su forma libre y a carbocationes correspondientes a las unidades de extensión.⁷⁷

A partir de los resultados obtenidos, es importante estudiar la composición de los residuos de la FC de las muestras para determinar si las PACs aportan significativamente al reporte final de su concentración.

Para ello, en la Figura 17 se muestra las proporciones de los componentes que conforman los residuos de la FC. Estos corresponden a los remanentes de ceniza y PACs (totales), y por diferencia la fibra.

Como se puede observar, la ceniza es el remanente que aporta una mayor proporción en el residuo de la FC, por otra parte, la composición porcentual de las PACs en aquellas muestras que fueron cuantificadas es muy pequeña, las cuales representan en promedio a penas el 1,6 % (m/m).

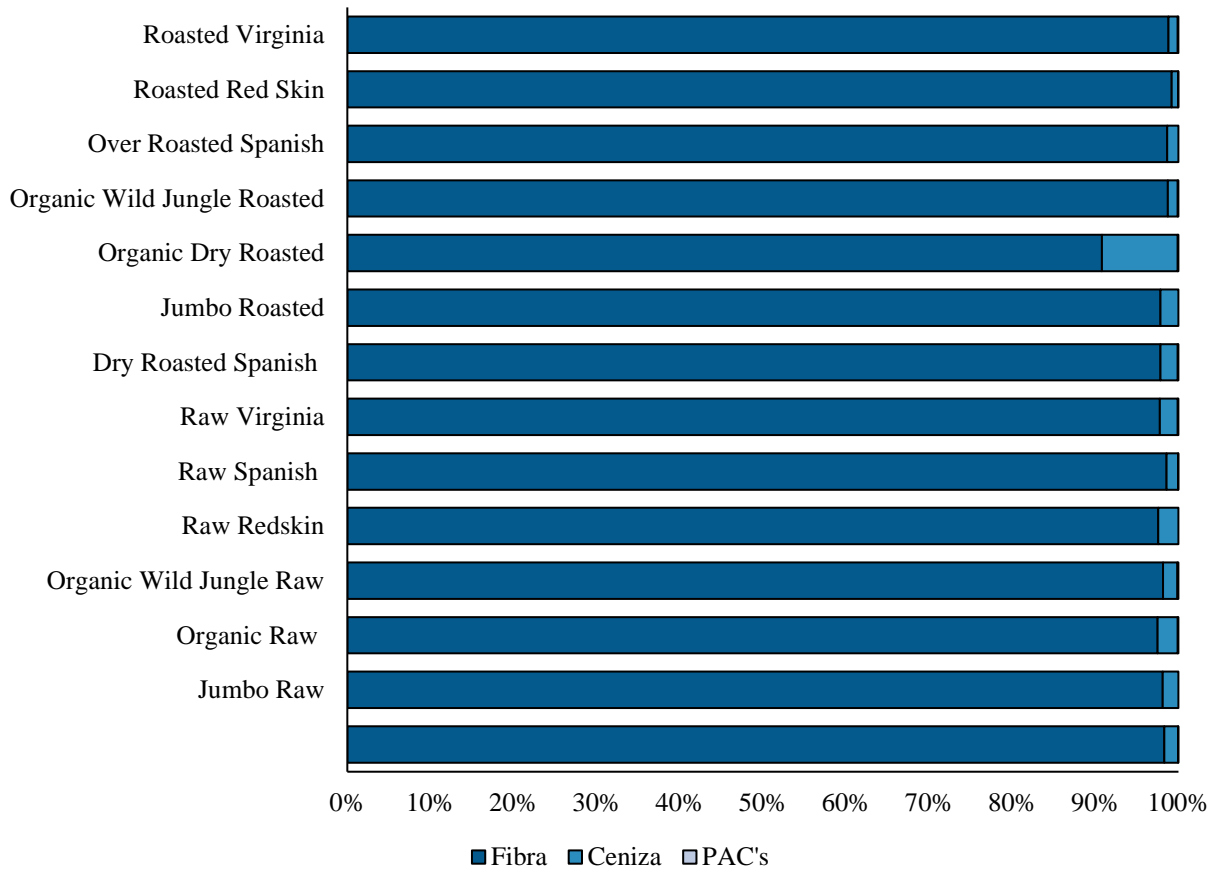


Figura 17. Composición porcentual del residuo de la fibra cruda de las muestras de tegumento de maní

Para demostrar el posible aporte de los remanentes de PACs en los residuos de FC de las muestras de tegumento de maní, se propone realizar una corrección por PACs calculado mediante la Ecuación 13.

$$\%FC = \frac{[M_3 - (M_1 \cdot C_1) - (M_1 \cdot T)]}{M_2} \cdot 100 \quad (\text{Ecuación 13})$$

donde, M_1 = peso de tara de la bolsa; M_2 = peso de la muestra; M_3 = peso de la materia orgánica (pérdida de peso por ignición de la bolsa y la fibra); C_1 = factor de corrección por ceniza del banco; $T = (e\text{-PAC} + n\text{-PAC})$ de residuo (g)

En la Tabla 13 se muestra el valor de la FC con la corrección por PACs sugerida. En la Figura 18 se muestra gráficamente la distribución de FC de las muestras y la FC corregida por la presencia de e-PAC y n-PAC en los residuos de la fibra, tras la realización de la corrección por PACs sugerida.

Tabla 13. Contenido de fibra cruda y contenido de fibra cruda con corrección de proantocianidinas en las muestras de tegumento de maní

Muestra	% FC	% FC con corrección de PACs
Jumbo Raw	19,2 ± 0,2*	19,1 ± 0,2*
Organic Raw	21,6 ± 0,1	21,6 ± 0,1
Organic Wild Jungle Raw	21,5 ± 0,7	21,5 ± 0,7
Raw Redskin	20,0 ± 0,2	19,9 ± 0,2
Raw Spanish	19,6 ± 0,1	19,6 ± 0,1
Raw Virginia	20,6 ± 0,1	20,5 ± 0,1
Dry Roasted Spanish	14,7 ± 0,2	14,7 ± 0,2
Jumbo Roasted	17,5 ± 1,1	17,5 ± 1,1
Organic Dry Roasted	18,8 ± 0,2	18,8 ± 0,2
Organic Wild Jungle Roasted	19,9 ± 1,0	19,7 ± 0,9
Over Roasted Spanish	16,3 ± 1,1	16,2 ± 1,1
Roasted Red Skin	18,3 ± 0,2	18,3 ± 0,2
Roasted Virginia	20,9 ± 0,3	20,9 ± 0,3
Roasted Virginia Supreme	20,6 ± 0,2	20,6 ± 0,2

*Los valores son medias ± desviación estándar de tres repeticiones

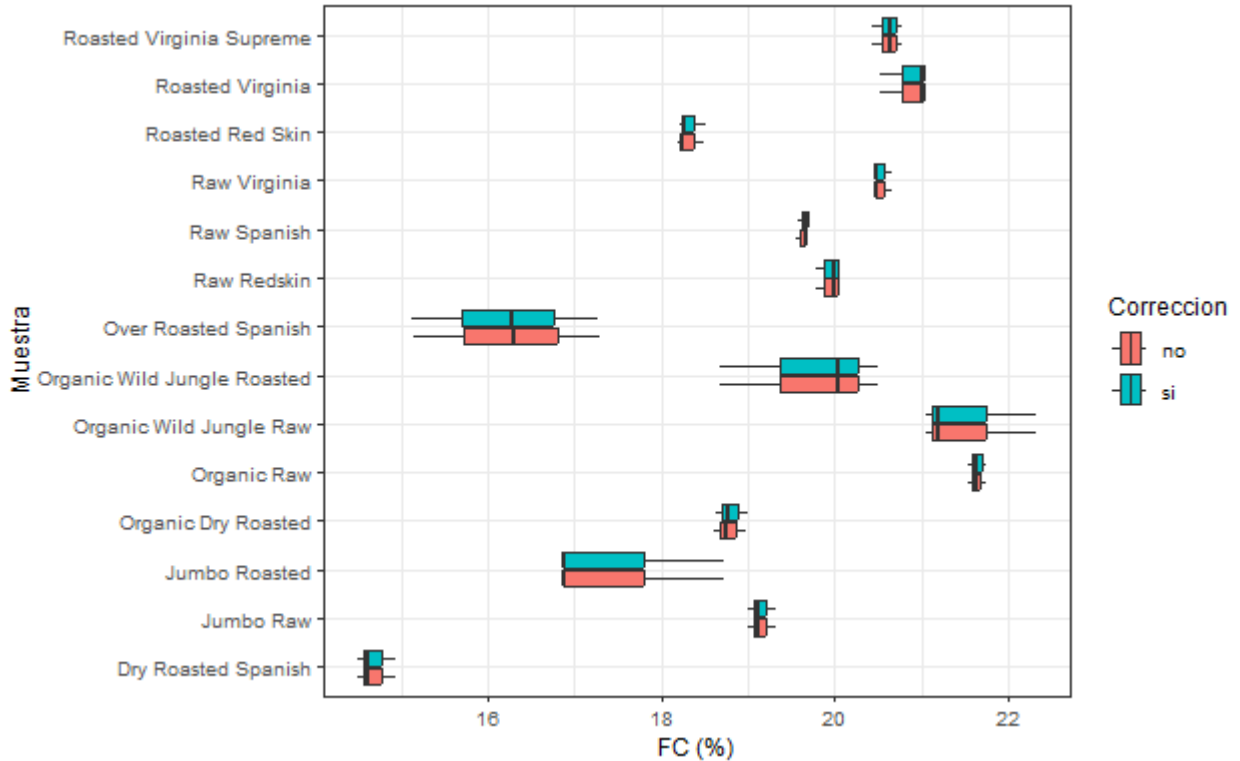


Figura 18. Distribución entre el contenido de la fibra cruda y el contenido de fibra cruda con corrección de proantocianidinas en las muestras de tegumento de maní

Como se observa en la Figura 18, al realizar la corrección sugerida los cambios que surgen en el valor de la mediana son pequeños en comparación con el valor de FC sin la corrección. A partir de ello, se realizó una prueba de ANOVA de un solo factor ($p \leq 0,05$). Como resultado, en todas las muestras no se encontró diferencias estadísticamente significativas entre las medias del contenido de la FC y la FC con la corrección por PACs.

Los resultados demuestran que los procesos hidrolíticos en los que se somete la muestra para el análisis de la FC son efectivos para eliminar una gran cantidad de PACs; no obstante, es importante tener en consideración que estas pueden no ser totalmente extraídas, por lo que podrían ser un posible interferente en el reporte final de la concentración de la fibra.

5.4.1. Determinación de la fibra detergente ácida en las muestras de tegumento de maní

La determinación de la FDA en las muestras de tegumento de maní, se realizó siguiendo las metodologías descritas por ANKOM Technology, los cuales nuevamente corresponden a métodos gravimétricos.⁶⁰ Para este caso no se debe realizar correcciones por componentes remanentes.

En la Tabla 14 se muestra los resultados de la FDA expresados como porcentaje de fibra en peso seco de muestra de tegumento de maní. Al aplicar la prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0,05$), existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias de las muestras.

Tabla 14. Resultados del contenido de fibra detergente ácida en las muestras de tegumento de maní, empleando el método descrito por ANKOM Technology

Muestra	FDA (%)
Jumbo Raw	34,8 ± 0,7 ^{def*}
Organic Raw	35,3 ± 1,7 ^{def}
Organic Wild Jungle Raw	45,4 ± 0,6 ^a
Raw Redskin	35,8 ± 0,4 ^{de}
Raw Spanish	32,8 ± 0,8 ^{efg}
Raw Virginia	44,8 ± 3,1 ^{ab}
Dry Roasted Spanish	38,1 ± 1,6 ^{cd}
Jumbo Roasted	36,1 ± 0,0 ^{de}
Organic Dry Roasted	30,3 ± 0,2 ^g
Organic Wild Jungle Roasted	46,4 ± 0,7 ^a
Over Roasted Spanish	41,6 ± 0,9 ^{bc}
Roasted Red Skin	31,8 ± 1,0 ^{fg}
Roasted Virginia	40,1 ± 1,5 ^c
Roasted Virginia Supreme	35,9 ± 1,2 ^{de}

*Los valores son medias ± desviación estándar de tres repeticiones. Medias con letras diferentes dentro de una fila son estadísticamente significativas, según la prueba estadística de Tukey ($p \leq 0,05$).

Como resultado, el rango de valores de la FDA varía entre (46,4-30,3) % m/m, que son similares entre la especie de maní y su procesamiento. Anteriormente Hill *et al.* en 1987 reportó que el valor de FDA en el tegumento de maní correspondía a 25,0 % (m/m).⁷⁵ La diferencia con los valores obtenidos puede deberse a variaciones en las condiciones en las que se realizó el análisis, por ejemplo, con la concentración de la disolución de ácido sulfúrico que se utilizó.

A pesar de que para la determinación de la FDA no es necesario realizar correcciones, se ha reportado que la presencia de complejos de proteína, puede generar interferencias y contaminar las mediciones de la lignina.¹ Es por ello que es importante estudiar si hay PACs remanentes en los residuos de la FDA que puedan provocar una interferencia en el reporte de su concentración.

5.4.2. Determinación de las proantocianidinas extraíbles y proantocianidinas no extraíbles en los residuos de la fibra detergente ácida en las muestras de tegumento de maní

En la Tabla 15 se muestra los resultados obtenidos de la cuantificación de las e-PAC expresados como miligramos equivalentes de patrón t-PAC por gramo de muestra seca, y las n-PAC expresados como miligramos equivalentes de patrón t-PAC por gramo de muestra seca, en los residuos de la FDA.

Como resultado, hay presencia de PACs en los residuos de la FDA de las distintas variedades de tegumento de maní. Al aplicar la prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0,05$), existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias de las muestras.

Tabla 15. Resultados del contenido proantocianidinas extraíbles y proantocianidinas no extraíbles en los residuos de la fibra detergente ácida en las muestras de tegumento de maní, empleando el método de DMAC y Butanol-HCl respectivamente

Muestra	Residuo FDA	
	e-PAC	n-PAC
	mg eq de p-PAC/g de muestra seca	
Jumbo Raw	**	15,3 ± 1,2 ^{hi}
Organic Raw	**	4,8 ± 0,7 ^j
Organic Wild Jungle Raw	**	46,1 ± 2,4 ^d
Raw Redskin	**	20,3 ± 0,5 ^{fg}
Raw Spanish	**	14,2 ± 1,5 ^{hi}
Raw Virginia	**	27,8 ± 3,4 ^e
Dry Roasted Spanish	**	23,2 ± 4,8 ^b
Jumbo Roasted	**	24,5 ± 2,8 ^{ef}
Organic Dry Roasted	**	6,4 ± 0,4 ^j
Organic Wild Jungle Roasted	**	52,3 ± 1,7 ^c
Over Roasted Spanish	1,8 ± 0,3	16,4 ± 6,5 ^a
Roasted Red Skin	**	12,9 ± 0,3 ⁱ
Roasted Virginia	**	21,1 ± 2,5 ^{fg}
Roasted Virginia Supreme	**	18,6 ± 2,7 ^{gh}

*Los valores son medias ± desviación estándar de nueve repeticiones. Medias con letras diferentes dentro de una fila son estadísticamente significativas, según la prueba estadística de Tukey ($p \leq 0,05$).

** Valor inferior al $LDC_{(e-PAC)} = 0,0078$ mg/mL

Las e-PAC únicamente fueron cuantificables en la muestra Over Roasted Spanish con un valor de $1,8 \pm 0,03$ mg t-PAC/g de muestra seca de residuo de fibra. Las muestras en las que no se cuantificó remanentes de e-PAC fue de acuerdo con el LDC. Por otra parte, las n-PAC fueron cuantificables en todas las muestras, con valores entre (4,8-52,3) mg t-PAC/g de muestra seca de residuo de fibra.

Para justificar que los remanentes de e-PAC no fueron cuantificables y que sí hay remanentes de n-PAC, es importante considerar el procesamiento a la que se somete la muestra para el aislamiento de los residuos de FDA mediante el método descrito por ANKOM Technology (ver Anexo 6).⁶⁰

Esta técnica utiliza la solución de detergente catiónico para separar los componentes fibrosos de los alimentos. Esta solución elimina los carbohidratos lábiles, las proteínas que no forman complejos con los productos de Maillard y las grasas, dejando como residuo celulosa y lignina.⁷⁸

A pesar de que las muestras se digieren en un medio ácido, donde anteriormente se explicó la degradación de las PACs en dichas condiciones, puede ser que se requieran de condiciones de pH y de temperatura más fuertes para provocar una hidrólisis en la que se extraigan en totalidad las n-PAC, dado a las interacciones de estas con componentes que conforman esta fibra. Entre estas interacciones de las PACs se encuentran aquellas con componentes fibrosos de la FDA, por ejemplo, con la lignina, cuya interacción con las catequinas podría darse a través de la formación de enlaces de puente de hidrógeno e interacción entre sus orbitales π .⁷⁹ Asimismo, no toda la proteína es eliminada durante esta digestión, por lo que podrían haber remanentes de complejos formados con las PACs.

A partir de los resultados obtenidos, es importante estudiar la composición de los residuos de la FDA de las muestras para determinar si las PACs aportan significativamente al reporte final de su concentración.

Para ello, en la Figura 19 se muestra las proporciones de los componentes que conforman los residuos de la FDA. Estos corresponden a los remanentes únicamente de las PACs (totales), y por diferencia la fibra. Como se observa, los remanentes de PACs representan en promedio 3,26 % (m/m) del residuo de la fibra.

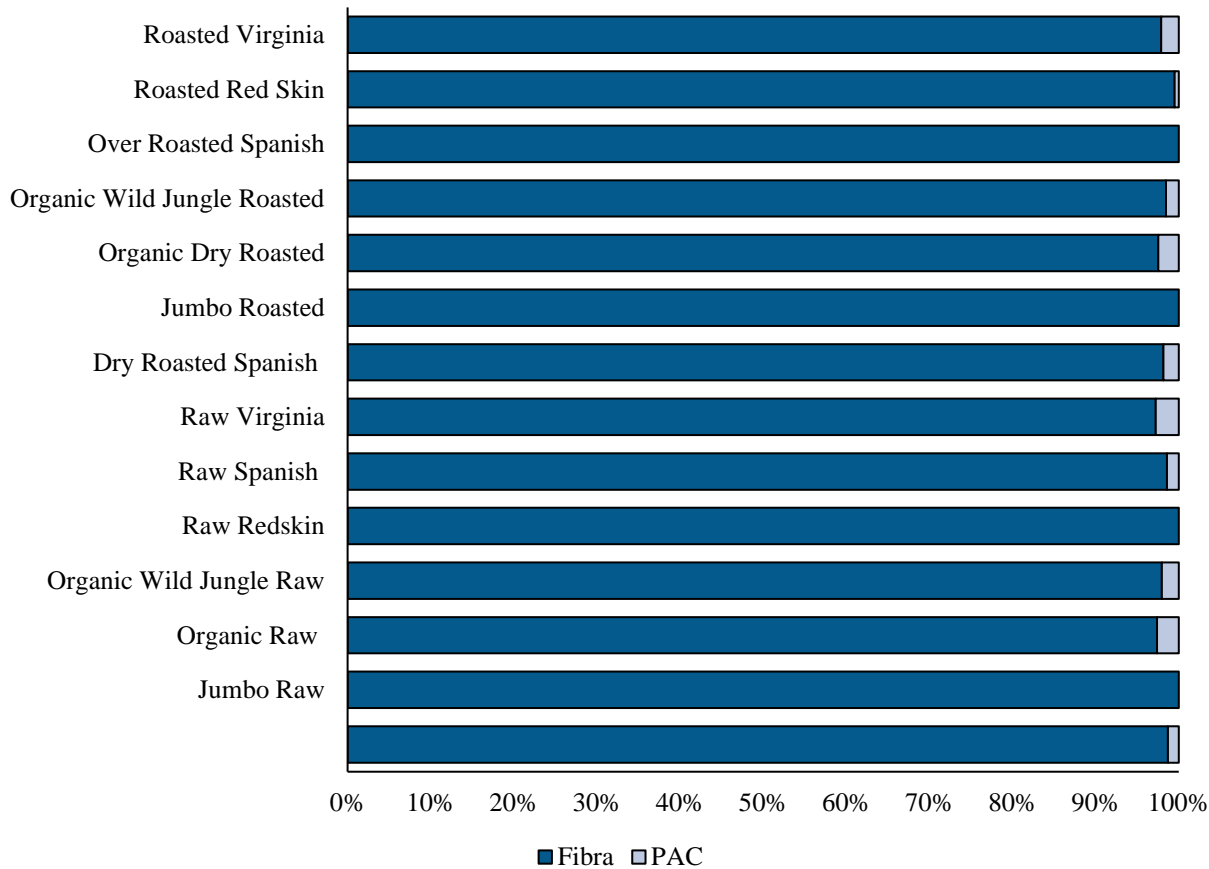


Figura 19. Composición porcentual del residuo de la fibra detergente ácida de las muestras de tegumento de maní

Para demostrar el posible aporte de los remanentes de PACs en los residuos de FDA de las muestras de tegumento de maní, se propone realizar una corrección por PACs calculado mediante la Ecuación 14.

$$\%FDA = \frac{[M_3 - (M_1 \cdot C_1) - (M_1 \cdot T)]}{M_2} \cdot 100 \quad (\text{Ecuación 14})$$

donde, M_1 = peso de tara de la bolsa; M_2 = peso de la muestra; M_3 = peso seco de la bolsa con fibra después del proceso de extracción; C_1 = corrección de la bolsa en blanco = promedio del peso final secado al horno / el peso de la bolsa en blanco original; $T = (e\text{-PAC} + n\text{-PAC})$ de residuo (g).

En la Tabla 16 se muestra el valor de la FDA con la corrección por PACs sugerida. En la Figura 20 se muestra gráficamente la distribución de FDA de las muestras y la FDA corregida por la presencia de e-PAC y n-PAC en los residuos de la fibra, tras la realización de la corrección por PACs sugerida.

Tabla 16. Contenido de fibra detergente ácida y contenido de fibra detergente ácida con corrección de proantocianidinas en las muestras de tegumento de maní

Muestra	% FDA	% FDA con corrección de PACs
Jumbo Raw	34,8 ± 0,7*	34,2 ± 0,7*
Organic Raw	35,3 ± 1,7	35,1 ± 1,7
Organic Wild Jungle Raw	45,4 ± 0,6	43,3 ± 0,6
Raw Redskin	35,8 ± 0,4	35,0 ± 0,4
Raw Spanish	32,8 ± 0,8	32,3 ± 0,8
Raw Virginia	44,8 ± 3,1	43,5 ± 3,0
Dry Roasted Spanish	38,1 ± 1,6	36,5 ± 1,5
Jumbo Roasted	36,11 ± 0,04	35,2 ± 0,0
Organic Dry Roasted	30,3 ± 0,2	30,1 ± 0,2
Organic Wild Jungle Roasted	46,4 ± 0,7	44,5 ± 1,4
Over Roasted Spanish	41,6 ± 0,9	40,5 ± 0,9
Roasted Red Skin	31,8 ± 1,0	31,4 ± 1,0
Roasted Virginia	40,1 ± 1,5	39,3 ± 1,5
Roasted Virginia Supreme	35,9 ± 1,2	35,2 ± 1,2

*Los valores son medias ± desviación estándar de tres repeticiones

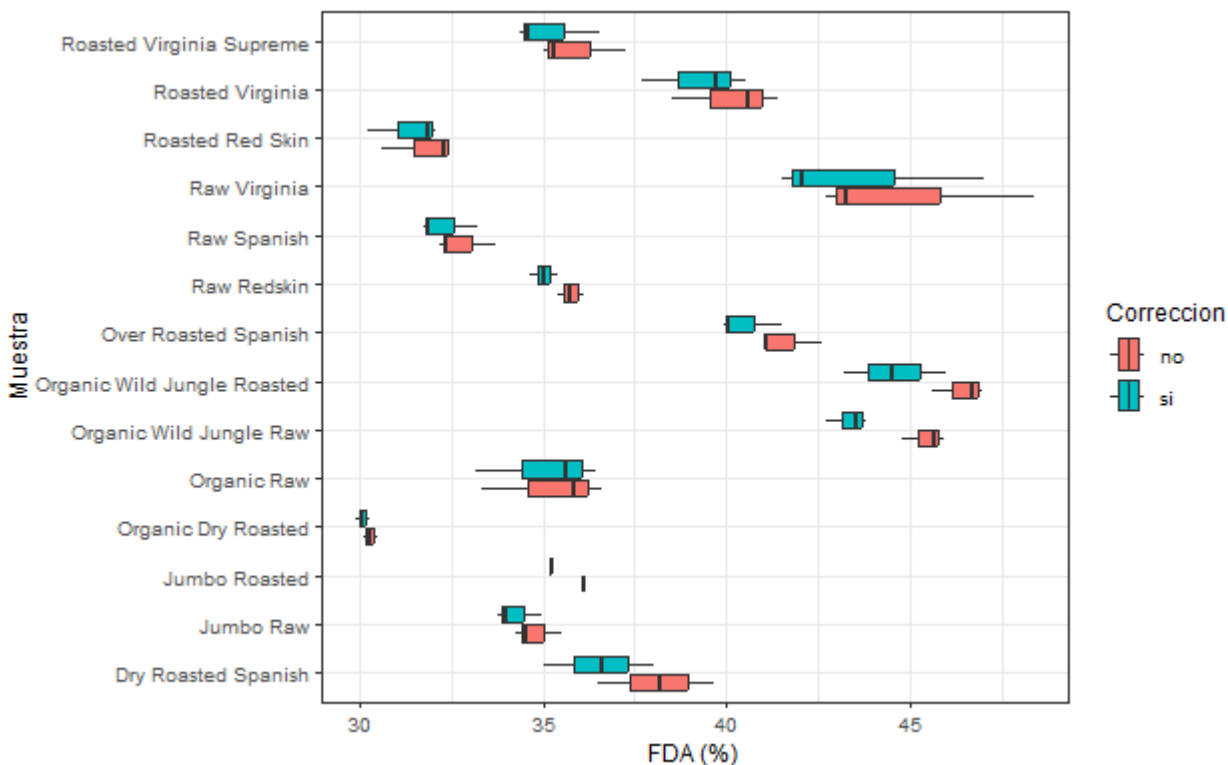


Figura 20. Distribución entre el contenido de la fibra detergente ácida y el contenido de fibra detergente ácida con corrección de proantocianidinas en las muestras de tegumento de maní

Como se observa en la Figura 20, al realizar la corrección sugerida hay cambios que surgen en el valor de la mediana en comparación con el valor de FDA sin la corrección. A partir de ello, se realizó una prueba de ANOVA de un solo factor ($p \leq 0,05$). Como resultado, en todas las muestras no se encontró diferencias estadísticamente significativas entre las medias del contenido de la FDA y la FDA con la corrección por PACs.

Los resultados demuestran que el proceso de digestión con detergente ácido al que se somete la muestra para el análisis de la FDA no elimina en su totalidad los remanentes de PACs, por lo que es importante tener en consideración que estas podrían ser un posible interferente en el reporte final de la concentración de la fibra.

5.5.1. Determinación de la fibra detergente neutra en las muestras de tegumento de maní

La determinación de la FDN en las muestras de tegumento de maní se realizó siguiendo la metodología descrita por ANKOM Technology, la cual corresponde a un método gravimétrico en la que a los residuos de la fibra no se les realiza correcciones por compuestos remanentes.⁶¹

En la Tabla 17 se presentan los valores obtenidos de FDN expresados como porcentaje de fibra en peso seco de muestra de tegumento de maní. Al aplicar la prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0,05$), existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias de las muestras.

Tabla 17. Resultados del contenido de fibra detergente neutra en las muestras de tegumento de maní, empleando el método descrito por ANKOM Technology

Muestra	FDN (%)
Jumbo Raw	49,9 ± 0,8 ^{c*}
Organic Raw	47,3 ± 0,4 ^d
Organic Wild Jungle Raw	55,7 ± 0,2 ^a
Raw Redskin	47,0 ± 0,2 ^d
Raw Spanish	45,5 ± 0,02 ^e
Raw Virginia	51,7 ± 0,2 ^b
Dry Roasted Spanish	40,7 ± 0,1 ^g
Jumbo Roasted	49,0 ± 0,7 ^c
Organic Dry Roasted	40,4 ± 0,5 ^g
Organic Wild Jungle Roasted	52,9 ± 0,7 ^b
Over Roasted Spanish	40,0 ± 0,6 ^g
Roasted Red Skin	43,3 ± 0,2 ^f
Roasted Virginia	50,0 ± 0,3 ^c
Roasted Virginia Supreme	49,7 ± 0,6 ^c

*Los valores son medias ± desviación estándar de tres repeticiones. Medias con letras diferentes dentro de una fila son estadísticamente significativas, según la prueba estadística de Tukey ($p \leq 0,05$).

Como resultado, los valores de FDN en las muestras de tegumento de maní corresponden a valores entre (55,7-40,0) % m/m. Los resultados son valores similares entre las especies de tegumento de maní. La muestra con mayor contenido es la Organic Wild Jungle Roasted con (52,9 ± 0,7) % m/m. Los resultados obtenidos son mayores a los anteriormente reportados por Hill *et al.* (1987) en muestras de tegumento de maní, los cuales correspondían a un 31,6 % (m/m).⁷⁵ Estas diferencias pueden deberse a las condiciones del procesamiento a las que se sometieron las muestras.

Dado a que en el proceso de determinación de la FDN se solubilizan grandes cantidades de compuestos que conforman la pared celular, se determinó si existen remanentes de e-PAC y n-PAC en los residuos de la fibra que resistentes a los procesos de digestión ácida y alcalina.

A pesar de que para la determinación de la FDN no es necesario realizar correcciones, es importante estudiar si hay PACs remanentes en los residuos de la FDN que puedan provocar una interferencia en el reporte de su concentración.

5.5.2. Determinación de las proantocianidinas extraíbles y proantocianidinas no extraíbles en los residuos de la fibra detergente neutra en las muestras de tegumento de maní

En la Tabla 18 se muestra los resultados obtenidos de la cuantificación de las e-PAC expresados como miligramos equivalentes de patrón t-PAC por gramo de muestra seca, y las n-PAC expresados como miligramos equivalentes de patrón t-PAC por gramo de muestra seca, en los residuos de la FDN.

Como resultado, hay presencia de PACs en los residuos de la FDN de las distintas variedades de tegumento de maní. Al aplicar la prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0,05$), existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias de las muestras.

Tabla 18. Resultados del contenido proantocianidinas extraíbles y proantocianidinas no extraíbles en los residuos de la fibra detergente neutra en las muestras de tegumento de maní, empleando el método de DMAC y Butanol-HCl respectivamente

Muestra	Residuo FDN	
	e-PAC	n-PAC
	mg eq de p-PAC/g de muestra seca	
Jumbo Raw	**	6,4 ± 0,4 fg*
Organic Raw	**	3,3 ± 0,2 hi
Organic Wild Jungle Raw	**	11,3 ± 0,4 b
Raw Redskin	**	6,0 ± 1,0 g
Raw Spanish	**	4,0 ± 0,2 de
Raw Virginia	**	7,8 ± 1,2 h
Dry Roasted Spanish	**	10,3 ± 0,2 c
Jumbo Roasted	**	7,1 ± 0,1 ef
Organic Dry Roasted	**	3,6 ± 0,2 hhi
Organic Wild Jungle Roasted	**	16,6 ± 1,0 a
Over Roasted Spanish	**	8,6 ± 0,2 d
Roasted Red Skin	**	4,4 ± 0,2 h
Roasted Virginia	**	4,1 ± 0,9 hi
Roasted Virginia Supreme	**	3,3 ± 0,2 hi

*Los valores son medias ± desviación estándar de nueve repeticiones. Medias con letras diferentes dentro de una fila son estadísticamente significativas, según la prueba estadística de Tukey ($p \leq 0,05$).

** Valor inferior al $LDC_{(e-PAC)} = 0,0078$ mg/mL y $LDC_{(n-PAC)} = 0,0011$

Las e-PAC no fueron cuantificables en ninguna de las muestras de residuo de FDN de acuerdo con el LDC. Por otra parte, las n-PAC sí fueron cuantificables en todas las muestras, con valores entre (3,3-16,6) mg t-PAC/g de muestra seca de residuo de fibra

Para justificar que los remanentes de e-PAC no fueron cuantificables y que hay remanentes de n-PAC, es importante considerar el procesamiento a la que se somete la muestra para el aislamiento de la FDN mediante el método descrito por ANKOM Technology (ver Anexo 7).⁶¹

Debido a las condiciones de pH y de temperatura en la que se da la digestión con detergente neutro, las e-PAC fueron totalmente extraídas. Por otra parte, la adición de sulfito de sodio al procesamiento de la digestión se realiza con el propósito de remover los complejos formados por la proteína cuando el material se calienta. El uso de este reactivo explicaría la reducción en la formación de complejos de proteína-PAC, además de su capacidad para degradar compuestos fenólicos.^{1,10,80} Dado a ello, que se puede justificar que los valores de remanentes de n-PAC que se obtuvieron en los residuos son bajos.

A partir de los resultados obtenidos, es importante estudiar la composición de los residuos de la FDN de las muestras para determinar si las PACs aportan significativamente al reporte final de su concentración.

Para ello, en la Figura 21 se muestra las proporciones de los componentes que conforman los residuos de la FDA. Estos corresponden a los remanentes únicamente de las PACs (totales), y por diferencia la fibra. Como se observa, los remanentes de PACs representan en promedio 6,91 % (m/m) del residuo de la fibra.

Para demostrar el posible aporte de los remanentes de PACs en los residuos de FDN de las muestras de tegumento de maní, se propone realizar una corrección por PACs calculado mediante la Ecuación 15.

$$\%FDN = \frac{[M_3 - (M_1 \cdot C_1) - (M_1 \cdot T)]}{M_2} \cdot 100 \quad (\text{Ecuación 15})$$

donde, M_1 = peso de tara de la bolsa; M_2 = peso de la muestra; M_3 = peso de la materia orgánica (pérdida de peso por ignición de la bolsa y la fibra); C_1 = factor de corrección por ceniza del banco; T = (e-PAC + n-PAC) de residuo (g).

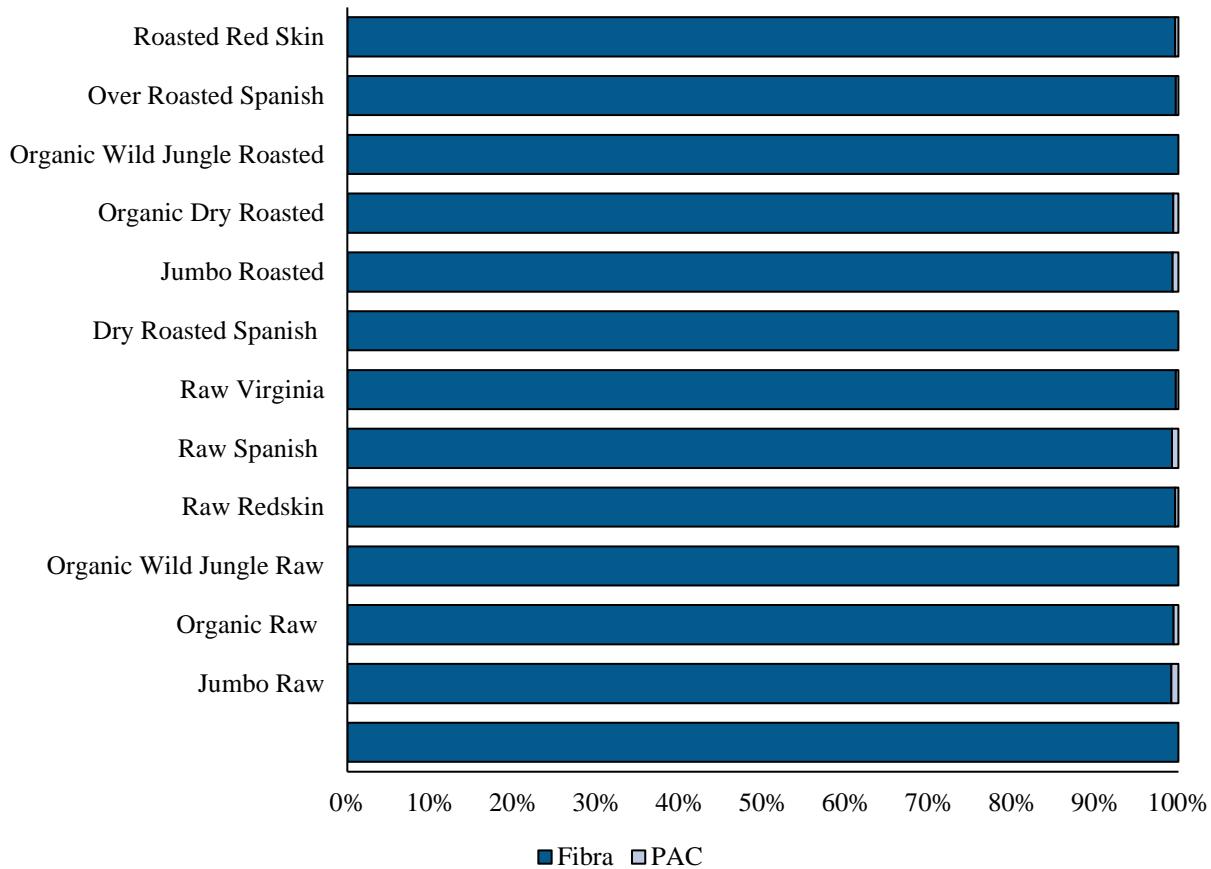


Figura 21. Composición porcentual del residuo de la fibra detergente neutra de las muestras de tegumento de maní

En la Tabla 19 se muestra el valor de la FDN con la corrección por PACs sugerida. En la Figura 22 se muestra gráficamente la distribución de FC de las muestras y la FC corregida por la presencia de e-PAC y n-PAC en los residuos de la fibra, tras la realización de la corrección por PACs sugerida.

Tabla 19. Contenido de fibra detergente neutra y contenido de fibra detergente neutra con corrección de proantocianidinas en las muestras de tegumento de maní

Muestra	% FDN	% FDN con corrección de PACs
Jumbo Raw	49,9 ± 0,8*	49,5 ± 0,8*
Organic Raw	47,3 ± 0,4	47,2 ± 0,4
Organic Wild Jungle Raw	55,7 ± 0,2	55,1 ± 0,2
Raw Redskin	47,0 ± 0,2	46,7 ± 0,2
Raw Spanish	45,51 ± 0,02	45,33 ± 0,02
Raw Virginia	51,7 ± 0,2	51,3 ± 0,2
Dry Roasted Spanish	40,7 ± 0,1	40,3 ± 0,1
Jumbo Roasted	49,0 ± 0,7	48,7 ± 0,7
Organic Dry Roasted	40,4 ± 0,5	40,2 ± 0,5
Organic Wild Jungle Roasted	52,9 ± 0,7	52,0 ± 0,7
Over Roasted Spanish	40,0 ± 0,6	39,7 ± 0,6
Roasted Red Skin	43,3 ± 0,2	43,1 ± 0,2
Roasted Virginia	50,0 ± 0,3	49,8 ± 0,3
Roasted Virginia Supreme	49,7 ± 0,6	49,5 ± 0,6

*Los valores son medias ± desviación estándar de tres repeticiones

Como se observa en la Figura 22, al realizar la corrección sugerida los cambios que surgen en el valor de la mediana son pequeños en comparación con el valor de FDN sin la corrección. A partir de ello, se realizó una prueba de ANOVA de un solo factor ($p \leq 0,05$). Como resultado, en todas las muestras no se encontró diferencias estadísticamente significativas entre las medias del contenido de la FDN y la FDN con la corrección por PACs.

Los resultados demuestran que el proceso de digestión con detergente neutro al que se somete la muestra para el análisis de la FDN no elimina en su totalidad los remanentes de PACs, por lo que es importante tener en consideración que estas podrían ser un posible interferente en el reporte final de la concentración de la fibra.

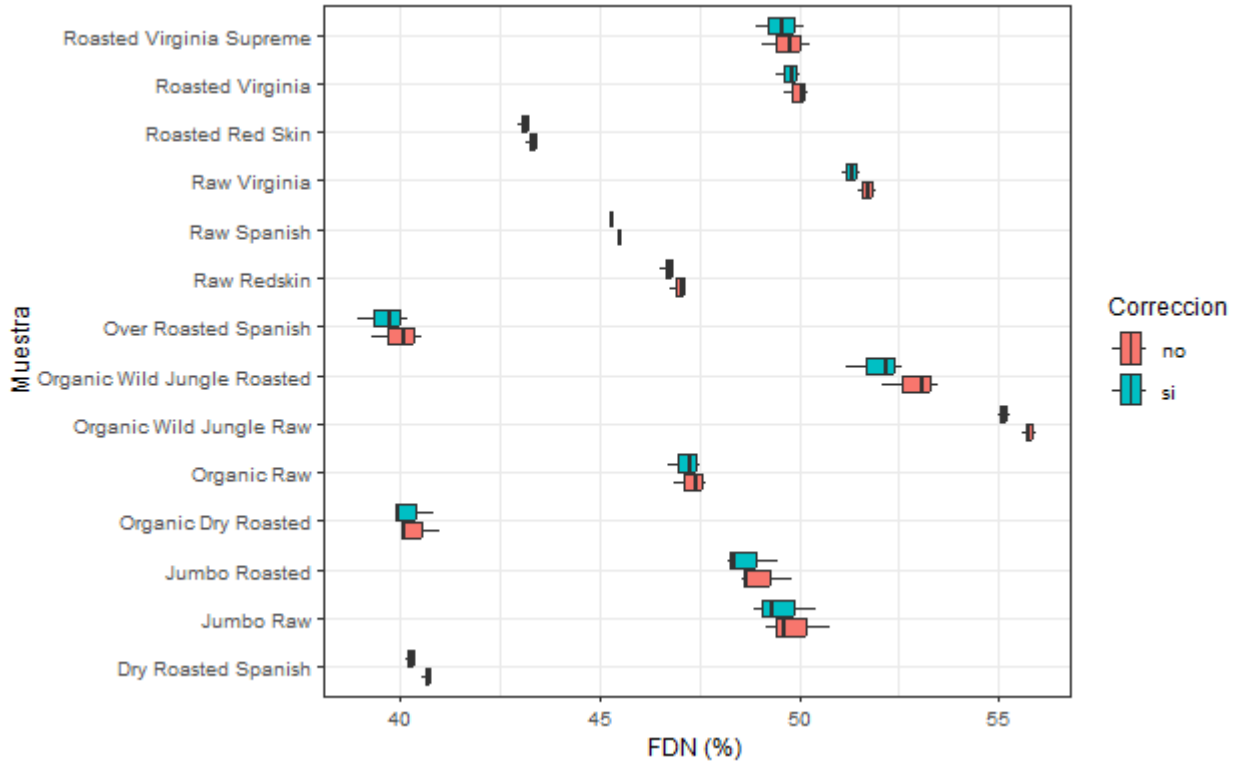


Figura 22. Distribución entre el contenido de la fibra detergente neutra y el contenido de fibra detergente neutra con corrección de proantocianidinas en las muestras de tegumento de maní

5.6. Matriz de correlación entre la fibra y las proantocianidinas en los residuos de las distintas fibras de las muestras de tegumento de maní

Para evaluar el grado de asociación entre el contenido de fibra y el contenido de n-PAC, se llevó a cabo un análisis de correlación utilizando el coeficiente de correlación de Spearman rho (Figura 23). Se decidió enfocarse únicamente en las n-PAC para el estudio de las correlaciones, ya que como se mencionó anteriormente, los residuos de fibra presentan una mayor concentración de n-PAC en comparación con las e-PAC, lo cual aporta una contribución más significativa al contenido de fibra.

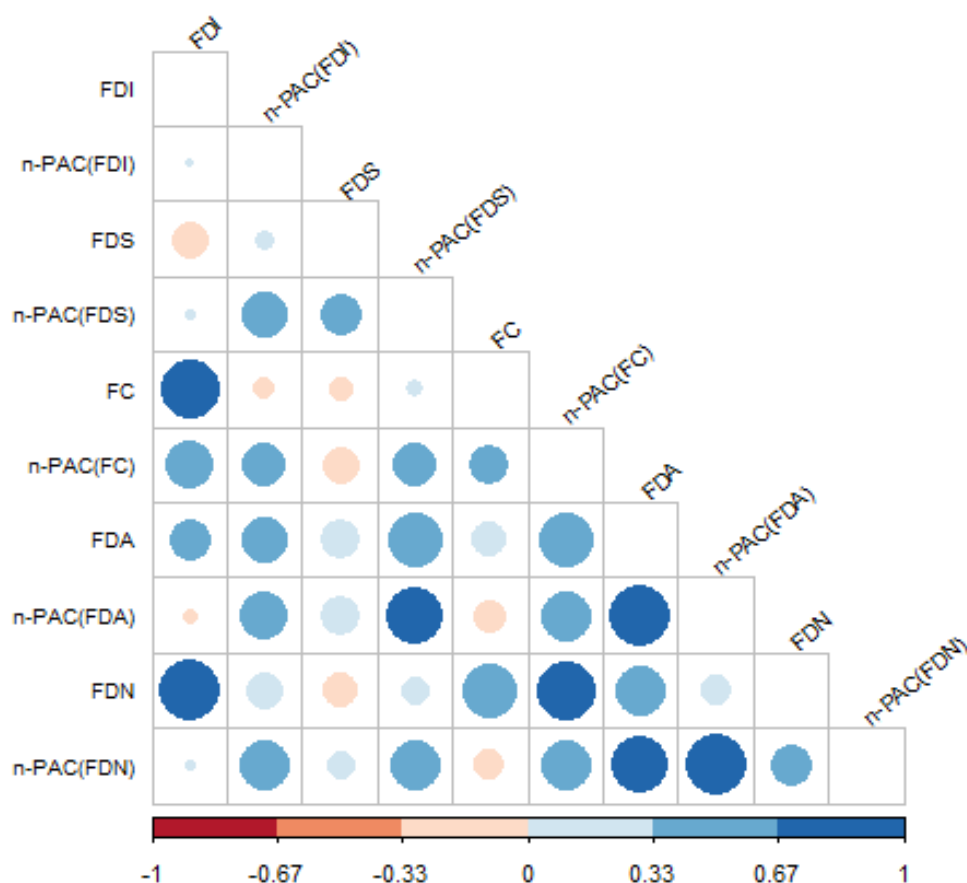


Figura 23. Matriz de correlación Spearman rho entre la fibra dietética insoluble, fibra dietética soluble, fibra cruda, fibra detergente ácida, fibra detergente neutra, proantocianidinas extraíbles del residuo de las fibras y proantocianidinas no extraíbles de los residuos de las fibras en las muestras de tegumento de maní

Como resultado, existe una correlación débil positiva ($p=0,0202$) entre la FDI y las n-PAC (FDI). Por otro lado, también hay una correlación débil positiva ($p=0,3817$) entre la FDS y la n-PAC (FDS). Lo anterior sugiere que matrices con alto contenido de FDT pueden llegar a contener cantidades significativas de remanentes de n-PAC en sus residuos. Es importante tomar en cuenta dicha tendencia, ya que como se mencionó, los remanentes encontrados de n-PAC en los residuos de la FDI son estadísticamente significativos, por lo que en muestras con alto contenido de FDT los remanentes de PACs podrían llegar a ser significativos.

Asimismo, dicha correlación encontrada entre la FDI, FDS y las n-PAC en sus respectivos residuos trae consigo los efectos beneficiosos tanto de la fibra, como de las PACs, sobre la salud humana. Esto sugiere que, a medida en que aumenta el consumo de la FD, se aumentaría la ingesta de alimentos que son ricos en PACs.

De hecho, diversos estudios sugieren que la presencia de compuestos fenólicos vinculados a la fibra dietética (FD) podría estar relacionada con los beneficios bioactivos asociados a ella. Esto se debe a que la FD puede actuar como una matriz que atrapa los polifenoles, impidiendo su absorción en el intestino delgado y permitiendo que lleguen al colon al restringir la difusión de las enzimas a su sustrato. Este mecanismo podría contribuir a la liberación y actividad de los polifenoles en el colon, donde pueden ejercer sus efectos beneficiosos para la salud.^{79,81}

Así pues, una dieta rica en FD se asocia a una mejora en salud del tracto gastrointestinal, además de reducción y tratamiento de ciertas enfermedades cardiovasculares y ciertos cáncer. Por otro lado, incluir en la dieta alimentos con altas cantidades de compuestos polifenólicos, como las PACs, tienen efectos fisiológicos beneficiosos, dado a sus propiedades antioxidantes, que incluye la prevención de enfermedades crónicas y cáncer al eliminar los radicales libres del cuerpo.²⁸

Por otra parte, existe una correlación media positiva ($p=0,3376$) entre la FC y las n-PAC(FC), una correlación fuerte positiva ($p=0,792$) entre la FDA y las n-PAC(FDA), y una correlación media positiva ($p=0,3589$) entre la FDN y las n-PAC(FDN). Esto indicaría que, en matrices con alto contenido de FC, FDA y FDN pueden llegar a contener cantidades importantes de remanentes de n-PAC en sus residuos.

Lo anterior se debe considerar ya que, a pesar de que en los residuos de estas fibras los remanentes de n-PAC no son estadísticamente significativas, al mostrarse que existen correlaciones positivas sería importante estudiar matrices que contengan grandes cantidades de dichas fibras (en especial la FDA que presenta una correlación fuerte positiva con las n-PAC en sus residuos) para determinar si los remanentes de PACs llegan a ser significativos.

Es importante considerar el resultado de esta correlación en la nutrición animal, debido a que las PACs presentes en los forrajes pueden tener efectos tanto positivos como negativos. Uno de los parámetros para tener en cuenta es la concentración de PACs, ya que cuando se encuentran en altas concentraciones, pueden disminuir la digestibilidad de las proteínas y los carbohidratos, así como afectar el rendimiento animal de manera negativa. Por el contrario, cuando se presentan en concentraciones bajas o moderadas, las PACs pueden tener efectos beneficiosos, como la prevención de la hinchazón y el aumento del flujo de nitrógeno no amoniacal y aminoácidos esenciales en el rumen.¹⁰

Además, de acuerdo con su disponibilidad, aquellas PACs que se unen a las proteínas son beneficiosas ya que aumentan el flujo de las proteínas al tracto digestivo inferior. Por otro lado, las PACs que se encuentran libres afectan negativamente la digestión de la fibra, en especial la digestión de compuestos como la hemicelulosa.⁷³

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. Conclusiones

La matriz utilizada de tegumento de maní resultó ser un excelente vehículo de estudio para demostrar la relación entre los remanentes de e-PAC y n-PAC y las diferentes fibras. En primer lugar, el tegumento de maní es rico en fibras, lo que lo convierte en una matriz ideal para estudiar la composición de los residuos de sus fibras. Además, es una fuente rica en PACs, lo que facilitó la extracción de estos compuestos polifenólicos para su cuantificación.

Se demostró que existen remanentes de PACs en los residuos de las fibras estudiadas. Los resultados indican que en los diferentes procesamientos digestivos y de hidrólisis a los que se someten las muestras, no son lo suficientemente efectivos para eliminar por completo las PACs. Esto puede deberse a su naturaleza, que puede dar como resultado la formación de complejos insolubles con otros componentes que conforman la fibra.

Existe una correlación positiva entre las PACs presentes en el residuo de cada fibra y la cantidad de fibra en las muestras, lo cual indica que a medida en que en la matriz aumente su cantidad de fibra, aumentaría también los remanentes de PACs en su residuo. Esto podría provocar una sobreestimación de la cantidad de fibra más alta en aquellas matrices con altos contenidos de fibra.

6.2. Recomendaciones

Dado a que se detectó remanentes de PACs en los residuos de FDI, FDS, FC, FDA y FDN, se sugiere realizar una corrección por PACs para una evaluación precisa de la cantidad de fibra presente en un alimento o materia prima.

Es recomendable que para futuras investigaciones extender este estudio a otras matrices, con el fin de comprender la manera en que puede variar la concentración y composición de las PACs en los residuos de los diferentes tipos de fibra. Además, se sugiere que se realice el mismo estudio evaluando más tipos de fibra.

En cuanto a la cuantificación de las PACs en los residuos de fibra, se sugiere utilizar métodos gravimétricos, para determinar si estos métodos permiten una medición más precisa y cuantitativa de los remanentes de PACs en los residuos de las distintas fibras.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Fahey, G.; Novotny, L.; Layton, B.; Mertens, D. Critical Factors in Determining Fiber Content of Feeds and Foods and Their Ingredients. *J. AOAC Int.* **2019**, *102* (1), 52–62. [https://doi.org/https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0067](https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0067).
- (2) Teixeira Macagnan, F.; Picolli da Silva, L.; Hecktheuer, L. H. Dietary fibre: The scientific search for an ideal definition and methodology of analysis, and its physiological importance as a carrier of bioactive compounds. *Food Res. Int.* **2016**, *85*, 144–154. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.04.032>.
- (3) Garcia-Amezquita, L. E.; Tejada-Ortigoza, V.; Heredia-Olea, E.; Serna-Saldívar, S. O.; Welti-Chanes, J. Differences in the dietary fiber content of fruits and their by-products quantified by conventional and integrated AOAC official methodologies. *J. Food Compos. Anal.* **2018**, *67*, 77–85. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.01.004>.
- (4) Maphosa, Y.; Jideani, V. A. Dietary Fiber Extraction for Human Nutrition - A Review. *Food Rev. Int.* **2015**, *32* (1), 98–115. <https://doi.org/10.1080/87559129.2015.1057840>.
- (5) Yang, Y.; Ma, S.; Wang, X.; Zheng, X. Modification and Application of Dietary Fiber in Foods. *J. Chem.* **2017**, *2017*, 1–8. <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2017/9340427>.
- (6) Jakobek, L. Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. *Food Chem.* **2015**, *175*, 556–567. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.013>.
- (7) González-Aguilar, G. A.; Blancas-Benítez, F. J.; Sáyago-Ayerdi, S. G. Polyphenols associated with dietary fibers in plant foods: molecular interactions and bioaccessibility. *Curr. Opin. Food Sci.* **2017**, *13*, 84–88. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.03.004>.
- (8) Reed, J. D. Relationships among Soluble Phenolics, Insoluble Proanthocyanidins and Fiber in East African Browse Species. *J. Range Manag.* **1986**, *39*(1) (January), 5–7. <https://doi.org/10.2307/3899675>.

- (9) Saura-Calixto, F. Effect of Condensed Tannins in the Analysis Fiber in Carob Pods of Dietary. *J. Food Sci.* **1988**, *53* (6), 1769–1771. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1988.tb07838.x>.
- (10) Reed, J. D. Effects of proanthocyanidins on digestion of fiber in forages. *J. Range Manag.* **2001**, *54* (Julio), 466–473. https://doi.org/10.2458/azu_jrm_v54i4_reed.
- (11) Muñoz-Arrieta, R.; Esquivel-Alvarado, D.; Alfaro-Viquez, E.; Alvarez-Valverde, V.; Krueger, C. G.; Reed, J. D. Nutritional and bioactive composition of Spanish, Valencia, and Virginia type peanut skins. *J. Food Compos. Anal.* **2021**, *98* (January). <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103816>.
- (12) Karchesy, J. J.; Hemingway, R. W. Condensed Tannins: (4 β →8;2 β →O→7)-Linked Procyanidins in *Arachis hypogea* L. *J. Agric. Food Chem.* **1986**, *34*(6), 966–970.
- (13) Korczak, R.; Slavin, J. L. Definitions, regulations, and new frontiers for dietary fiber and whole grains. *Nutr. Rev.* **2020**, *78* (Supplement_1), 6–12. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuz061>.
- (14) Williams, B. A.; Mikkelsen, D.; Flanagan, B. M.; Gidley, M. J. “Dietary fibre”: moving beyond the “soluble/insoluble” classification for monogastric nutrition, with an emphasis on humans and pigs. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* **2019**, *10* (1), 1–12. <https://doi.org/doi.org/10.1186/s40104-019-0350-9>.
- (15) Hipsley, E. Dietary “Fibre” and Pregnancy Toxaemia. *Br. Med. J.* **1953**, Núm. 2 (4833), 420–422. <https://doi.org/10.1136/bmj.2.4833.420>.
- (16) Trowell, H. Definitions of fibre. *Lancet* **1974**, *303* (7856), 503. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(74\)92802-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(74)92802-5).
- (17) Trowell, H.; Southgate, D.; Wolever, T.; Leeds, A.; Gassull, M.; Jenkins, D. Dietary fibre redefined. *Lancet* **1976**, *307* (7966), 967. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(76\)92750-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(76)92750-1).
- (18) Mccleary, B. V; Cox, J.; Ivory, R.; Delaney, E. CHAPTER 6: Definition and

Analysis of Dietary Fiber in Grain Products. En *Cereal Grain-based Functional Foods*; Royal Society of Chemistry, 2019; pp 103–126.
<https://doi.org/10.1039/9781788012799-00103>.

- (19) DeVries, J. Dietary Fiber: The Influence of Definition on Analysis and Regulation. *J. AOAC Int.* **2004**, 87 (3), 682–706. <https://doi.org/doi:10.1093/jaoac/87.3.682>.
- (20) AACC, A. A. of C. C. The Definition of Dietary Fiber 1. **2001**, 46 (3), 112–126.
- (21) Codex Alimentarius Commission. Report of the 30th Session of the Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses. En *Thirty second Seccion*; 2008; pp 1–83.
- (22) Santana-Vaz Rezende, E.; Cariello-Lima, G.; Veloso-Naves, M. M. Dietary fibers as beneficial microbiota modulators: a proposal classification by prebiotic categories. *Nutrition* **2021**, 111217. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2021.111217>.
- (23) Bolen, M.; Patel, S.; Mui, T.; Kasturi, P.; Challa, S. Automation of dietary fibre (TDF, IDF and SDF) analysis by ANKOM TDF analyzer for enzymatic-gravimetric process. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2018**, 53 (1), 2415–2421.
<https://doi.org/10.1111/ijfs.13833>.
- (24) Lee, S. C.; Prosky, L. International survey on dietary fiber: definition, analysis, and reference materials. *J. AOAC Int.* **1995**, 78 (1), 22–36.
<https://doi.org/doi:10.1093/jaoac/78.1.22>.
- (25) AOAC. ANNEX G AOAC Official Method 991.43 Total, Soluble, and Insoluble Dietary Fibre in Foods. En *AOAC Official Methods of Analysis*; 1995; pp 7–9.
- (26) Yang, L.; Xian, D.; Xiong, X.; Lai, R.; Song, J.; Zhong, J. Proanthocyanidins against Oxidative Stress: From Molecular Mechanisms to Clinical Applications. *Biomed Res. Int.* **2018**, 2018, 1–11. <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2018/8584136>.
- (27) Godin, B.; Agneessens, R.; Gerin, P.; Delcarte, J. Structural Carbohydrates in a Plant Biomass: Correlations between the Detergent Fiber and Dietary Fiber Methods. *J.*

Agric. Food Chem. **2014**, 62 (24), 5609–5616.

<https://doi.org/dx.doi.org/10.1021/jf500924q>.

- (28) Quirós-Sauceda, A. E.; Palafox-Carlos, H.; Sáyago-Ayerdi, S. G.; Ayala-Zavala, J. F.; Bello-Perez, L. A.; González-Córdova, A. F.; González-Aguilar, G. A. Dietary fiber and phenolic compounds as functional ingredients: interaction and possible effect after ingestion. *Food Funct.* **2014**, 6 (6), 1063–1072.
<https://doi.org/10.1039/c4fo00073k>.
- (29) Mohiuddin, A. K. Chemistry of Secondary Metabolites. *Ann. Clin. Toxicol.* **2019**, 2 (1), 1014. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3545055>.
- (30) Santos-Sánchez, N. F.; Salas-Coronado, R.; Hernández-Carlos, B.; Villanueva-Cañongo, C. Shikimic Acid Pathway in Biosynthesis of Phenolic Compounds. En *Plant Physiological Aspects of Phenolic Compounds*; Soto-Hernández, M., García-Mateos, R., Palma-Tenango, M., Eds.; 2019.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.77494>.
- (31) Wang, L.; Bei, Q.; Wu, Y.; Liao, W.; Wu, Z. Characterization of soluble and insoluble-bound polyphenols from *Psidium guajava* L. leaves co-fermented with *Monascus anka* and *Bacillus sp.* and their bio-activities. *J. Funct. Foods* **2017**, 32, 149–159. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.02.029>.
- (32) Smeriglio, A.; Barreca, D.; Bellocco, E.; Trombetta, D. Proanthocyanidins and hydrolysable tannins: occurrence, dietary intake and pharmacological effects. *Br. J. Pharmacol.* **2017**, 174, 1244–1262. <https://doi.org/10.1111/bph.13630>.
- (33) Birmingham, A. D.; Esquivel-Alvarado, D.; Krueger, C. G.; Reed, J. D. Inter-laboratory validation of 4-(dimethylamino) cinnamaldehyde (DMAC) assay using cranberry proanthocyanidin standard for quantification of soluble proanthocyanidins in cranberry foods and dietary supplements, First Action Method: 2019.06. *J. AOAC Int.* **2019**, 104 (1), 216–222. <https://doi.org/10.1093/jaoacint/qsaa084>.
- (34) Rauf, A.; Imran, M.; Abu-Izneid, T.; Ul-Haq, I.; Patel, S.; Pan, X.; Naz, S.; Sanches-Silva, A.; Saeed, F.; Rasul-Suleria, H. A. Proanthocyanidins: A comprehensive

review. *Biomed. Pharmacother.* **2019**, *116*, 108999.

<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108999>.

- (35) Schofield, P.; Mbugua, D.; Pell, A. Analysis of condensed tannins : a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2001**, *91* (1–2), 21–40. [https://doi.org/10.1016/s0377-8401\(01\)00228-0](https://doi.org/10.1016/s0377-8401(01)00228-0).
- (36) Esquivel-Alvarado, D.; Mun, R.; Alfaro-Viquez, E.; Madrigal-Carballo, S.; Krueger, C. G.; Reed, J. D. Composition of Anthocyanins and Proanthocyanidins in Three Tropical *Vaccinium* Species from Costa Rica. *J. Agric. Food Chemistry* **2019**, *68*(10), 2872–2879. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b01451>.
- (37) Gullickson, E. R.; Krueger, C. G.; Birmingham, A.; Maranan, M.; Reed, J. D. Development of a Cranberry Standard for Quantification of Insoluble Cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) Proanthocyanidins. *J. Agric. Food Chemistry* **2019**, Núm. 68(10), 2900–2905. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b03696>.
- (38) Sun, L.; Warren, F. J.; Gidley, M. J. Natural products for glycaemic control: Polyphenols as inhibitors of alpha-amylase. *Trends Food Sci. Technol.* **2019**, *91* (July), 262–273. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.07.009>.
- (39) Foo, L. Y.; Porter, L. The phytochemistry of proanthocyanidin polymers. *Phytochemistry* **1980**, *19*, 1747–1754. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)83807-8](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)83807-8).
- (40) Esquivel-Alvarado, D.; Alfaro-Viquez, E.; Krueger, C. G.; Vestling, M. M.; Reed, J. D. Classification of proanthocyanidin profiles using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) spectra data combined with multivariate analysis. *Food Chem.* **2021**, *336*, 127667. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127667>.
- (41) Muñoz-Arrieta, R. Bioprospección Fitoquímica de dos variedades de fruta de cas (Psidium friedrichsthalianum Ndz y Psidium guineense Sw.) oriundas de Costa Rica. Lic Tesis, Universidad Nacional de Costa Rica, Heredia, 2014.

- (42) Altemimi, A.; Lakhssassi, N.; Baharlouei, A.; Watson, D. G.; Lightfoot, D. A. Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. *Plants* **2017**, *6* (42), 1–23. <https://doi.org/10.3390/plants6040042>.
- (43) Zhang, Q. W.; Lin, L. G.; Ye, W. C. Techniques for extraction and isolation of natural products : a comprehensive review. *Chinese Med. Rev.* **2018**, *2018* (13:20), 1–26. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x> Chinese.
- (44) Downey, M. O.; Hanlin, R. L. Comparison of Ethanol and Acetone Mixtures for Extraction of Condensed Tannin from Grape Skin. *J. Enol. Vitic.* **2010**, *31* (2), 154–159. <https://doi.org/doi:10.21548/31-2-1412>.
- (45) Vidal-Casanella, O.; Nuñez, O.; Hernández-Cassou, S.; Saurina, J. Assessment of Experimental Factors Affecting the Sensitivity and Selectivity of the Spectrophotometric Estimation of Proanthocyanidins in Foods and Nutraceuticals. *Food Anal. Methods* **2020**, Núm. 41, 485–495. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s12161-020-01878-1>.
- (46) Krueger, C. G.; Chesmore, N.; Chen, X.; Parker, J.; Khoo, C.; Marais, J. P. J.; Shanmuganayagam, D.; Crump, P.; Reed, J. D. Critical reevaluation of the 4-(dimethylamino) cinnamaldehyde assay: Cranberry proanthocyanidin standard is superior to procyanidin A2 dimer for accurate quantification of proanthocyanidins in cranberry products. *J. Funct. Foods* **2016**, *22*, 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.01.017>.
- (47) Wang, Y.; Singh, A. P.; Hurst, W. J.; Glinski, J. A.; Koo, H.; Vorsa, N. Influence of Degree-of-Polymerization and Linkage on the Quantification of Proanthocyanidins using 4-Dimethylaminocinnamaldehyde (DMAC) Assay. *J. Agric. Food Chemistry* **2016**, Núm. 64(11), 2190–2199. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b05408>.
- (48) Shay, P. E.; Trofymow, J. A.; Constabel, C. P. An improved butanol-HCl assay for quantification of water-soluble, acetone: methanol-soluble, and insoluble proanthocyanidins (condensed tannins). *Plant Methods* **2017**, 1–11.

<https://doi.org/10.1186/s13007-017-0213-3>.

- (49) Jones, J.; Barkley, N.; Simpson, C.; Mattes, R. Peanuts. *Encycl. Food Heal.* **2016**, 277–282. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00528-6>.
- (50) Lorenzo, J. M.; Munekata, P. E. S.; Sant, A. S.; Baptista, R.; Barba, F. J.; Toldrá, F.; Mora, L.; Trindade, M. A. Main characteristics of peanut skin and its role for the preservation of meat products. *Trends Food Sci. Technol.* **2018**, 77, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.04.007>.
- (51) Rossi, Y. E.; Bohl, L. P.; Vanden, N. L.; Ballatore, M. B.; Escobar, F. M.; Bodoira, R.; Maestri, D. M.; Porporatto, C.; Cavaglieri, L. R.; Montenegro, M. A. Polyphenols of peanut (*Arachis hypogaea* L.) skin as bioprotectors of normal cells. Studies of cytotoxicity, cytoprotection and interaction with ROS. *J. Funct. Foods* **2020**, 67 (Diciembre 2019), 103862. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103862>.
- (52) Zhao, Z.; Wu, M.; Zhan, Y.; Zhan, K.; Chang, X.; Yang, H.; Li, Z. Characterization and purification of anthocyanins from black peanut (*Arachis hypogaea* L.) skin by combined column chromatography. *J. Chromatogr. A* **2017**. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.08.078>.
- (53) Çiftçi, S.; Suna, G. Functional components of peanuts (*Arachis Hypogaea* L.) and health benefits: A review. *Futur. Foods* **2022**, 5, 100140. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100140>.
- (54) Toomer, O. T.; Vu, T.; Pereira, M.; Williams, K. Dietary supplementation with peanut skin polyphenolic extracts (PSPE) reduces hepatic lipid and glycogen stores in mice fed an atherogenic diet. *J. Funct. Foods* **2019**, 55 (August 2018), 362–370. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.02.041>.
- (55) Feliciano, R. P.; Shea, M. P.; Shanmuganayagam, D.; Krueger, C. G.; Howell, A. B.; Reed, J. D. Comparison of Isolated Cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) Proanthocyanidins to Catechin and Procyanidins A2 and B2 for Use as Standards in the 4-(Dimethylamino)cinnamaldehyde Assay. *J. Agric. Food Chemistry* **2012**, 60 (18), 4578–4585. <https://doi.org/dx.doi.org/10.1021/jf3007213>.

- (56) ANKOM Technology. IDF/SDF Method (AOAC 991.43, AACC 32-07.01, NMKL 129,2003) using the ANKOMTDF Dietary Fiber Analyzer. En *ANKOM TDF Dietary Fiber Analyzer Operator's Manual*; 2021; pp 18–34.
- (57) Büchi Labortechnik AG. *Application Note: Nitrogen and Protein Determination in Nuts according to the Kjeldahl Method*; 2010.
- (58) ANKOM Technology. Ash Determination. En *ANKOM TDF Dietary Fiber Analyzer Operator's Manual*; 2021; pp 68–69.
- (59) ANKOM Technology. Crude Fiber Analysis Procedure using the ANKOM2000 Fiber Analyzer. En *ANKOM 2000 Fiber Analyzer Operator's Manual*; 2022; pp 25–28.
- (60) ANKOM Technology. Acid Detergent Fiber in Feeds - Filter Bag Technique (for A2000 and A2000I). En *ANKOM 2000 Fiber Analyzer Operator's Manual*; 2022; pp 36–37.
- (61) ANKOM Technology. Neutral Detergent Fiber in Feeds - Filter Bag Technique (for A2000 and A2000I) Definition. En *ANKOM 2000 Fiber Analyzer Operator's Manual*; 2022; pp 38–39.
- (62) Giner-Chavez, B. I.; Soest, P. J. Van; Robertson, J. B.; Lascano, C.; Reed, J. D.; Pell, A. N. A Method for Isolating Condensed Tannins from Crude Plant Extracts with Trivalent Ytterbium. *J. Sci. Food Agric.* **1997**, *74* (3), 359–368.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199707\)74:3<359::AID-JSFA811>3.0.CO;2-C](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199707)74:3<359::AID-JSFA811>3.0.CO;2-C).
- (63) The Peanut Institute. The Peanut Institute Health, Research, Education
<https://peanut-institute.com/peanut-facts/growing-and-variety/> (accesado 13 de enero, 2023).
- (64) Chukwumah, Y.; Walker, L. T.; Verghese, M. Peanut Skin Color: A Biomarker for Total Polyphenolic Content and Antioxidative Capacities of Peanut Cultivars. *Int. J. Mol. Sci.* **2009**, *10* (11), 4941–4952. <https://doi.org/10.3390/ijms10114941>.

- (65) Larrauri, M.; Zunino, M. P.; Zygadlo, J. A.; Grosso, N. R.; Nepote, V. Chemical characterization and antioxidant properties of fractions separated from extract of peanut skin derived from different industrial processes. *Ind. Crop. Prod.* **2016**, *94*, 964–971. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.09.066>.
- (66) Moron, C. Capítulo 16: Análisis de fibra dietética. En *Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición*; 1997; pp 177–187.
- (67) Lahaye, M. Marine Algae as Sources of Fibres : Determination of Soluble and Insoluble Dietary Fibre Contents in Some “Sea Vegetables”. *J. Sci. Food Agric.* **1991**, *54* (4), 587–594. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740540410>.
- (68) Di, A. E.; Saura-calixto, F.; Zurita, J. Improved procedure to determine non-extractable polymeric proanthocyanidins in plant foods. **2012**, *63* (December), 936–939. <https://doi.org/10.3109/09637486.2012.681634>.
- (69) Saura-Calixto, F. Dietary Fibre Complex in a Sample Rich in Condensed Tannins and Uronic Acids. *Food Chem.* **1987**, *23*, 95–103. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(87\)90003-3](https://doi.org/10.1016/0308-8146(87)90003-3).
- (70) Saura-Calixto, F.; Goñi, I.; Mañas, E.; Abia, R. Klason Lignin, Condensed Tannins and Resistant Protein as Dietary Fibre Constituents: Determination in Grape Pomaces. *Food Chem.* **1991**, *39*, 299–309. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(91\)90147-g](https://doi.org/10.1016/0308-8146(91)90147-g).
- (71) Shrivastava, A.; Gupta, V. B. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chronicles Young Sci.* **2011**, *2* (1), 21–25. <https://doi.org/10.4103/2229-5186.79345>.
- (72) Arranz Martínez, S. Compuestos polifenólicos (extraíbles y no extraíbles) en alimentos de la dieta española: Metodología para su determinación e identificación. PhD Tesis., Universidad Complutense de Madrid, Madrid, 2010.
- (73) Jonker, A.; Yu, P. The Occurrence, Biosynthesis, and Molecular Structure of Proanthocyanidins and Their Effects on Legume Forage Protein Precipitation,

- Digestion and Absorption in the Ruminant Digestive Tract. *Int. J. Mol. Sci.* **2017**, *18* (5), 1105. <https://doi.org/10.3390/ijms18051105>.
- (74) Khraisheh, M. A. M.; Al-ghouti, M. A.; Allen, S. J.; Ahmad, M. N. Effect of OH and silanol groups in the removal of dyes from aqueous solution using diatomite. *Water Res.* **2005**, *39* (5), 922–932. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2004.12.008>.
- (75) Hill, G. M.; Utley, P. R.; N, G. L.; Al, H. E. T. Dietary Urea Influences on Digestibility and Utilization of Diets Containing Peanut Skins by Steers. *J. Anim. Sci.* **1987**, *64* (1), 1–7. <https://doi.org/10.2527/jas1987.6411>.
- (76) Herrero-Martínez, J. M.; Sanmartin, M.; Rosés, M.; Bosch, E.; Ràfols, C. Determination of dissociation constants of flavonoids by capillary electrophoresis. *Electrophoresis* **2005**, *26* (10), 1886–1895. <https://doi.org/10.1002/elps.200410258>.
- (77) White, B. L.; Howard, L. R.; Prior, R. L. Release of Bound Procyanidins from Cranberry Pomace by Alkaline Hydrolysis. *J. Agric. Food Chemistry* **2010**, *58*, 7572–7579. <https://doi.org/10.1021/jf100700p>.
- (78) Moller, J. Gravimetric Determination of Acid Detergent Fiber and Lignin in Feed: Interlaboratory Study. *J. AOAC Int.* **2009**, *92*(1), 74–90. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/jaoac/92.1.74>.
- (79) Liu, X.; Bourvellec, C. Le; Renard, C. M. G. C. Interactions between cell wall polysaccharides and polyphenols: Effect of molecular internal structure. *Phytochemistry* **2020**, *27* (1), 1–44. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12632>.
- (80) Mertens, D. Gravimetric Determination of Amylase-Treated Neutral Detergent Fiber in Feeds with Refluxing in Beakers or Crucibles: Collaborative Study. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *85*(6), 1217–1240. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/jaoac/85.6.1217>.
- (81) Goñi, I.; Díaz-Rubio, M. E.; Pérez-Jiménez, J.; Saura-Calixto, F. Towards an updated methodology for measurement of dietary fiber, including associated polyphenols, in food and beverages. *Food Res. Int.* **2009**, *42* (7), 840–846.

ANEXOS

Anexo 1: Curva de calibración para la cuantificación de proantocianidinas extraíbles empleando el método de DMAC, utilizando el estándar ProA2 como patrón

Tabla 20. Rango de concentración y parámetros de linealidad de la curva de calibración para la cuantificación de proantocianidinas extraíbles empleando el método de DMAC, utilizando el estándar ProA2 como patrón

Concentración de la curva de calibración (mg/mL)	R ²	n	Ecuación de regresión		LDD	LDC
			m	b		
0,005-0,040	0,9998	3	28,7095	0,0029	0,0005	0,0015

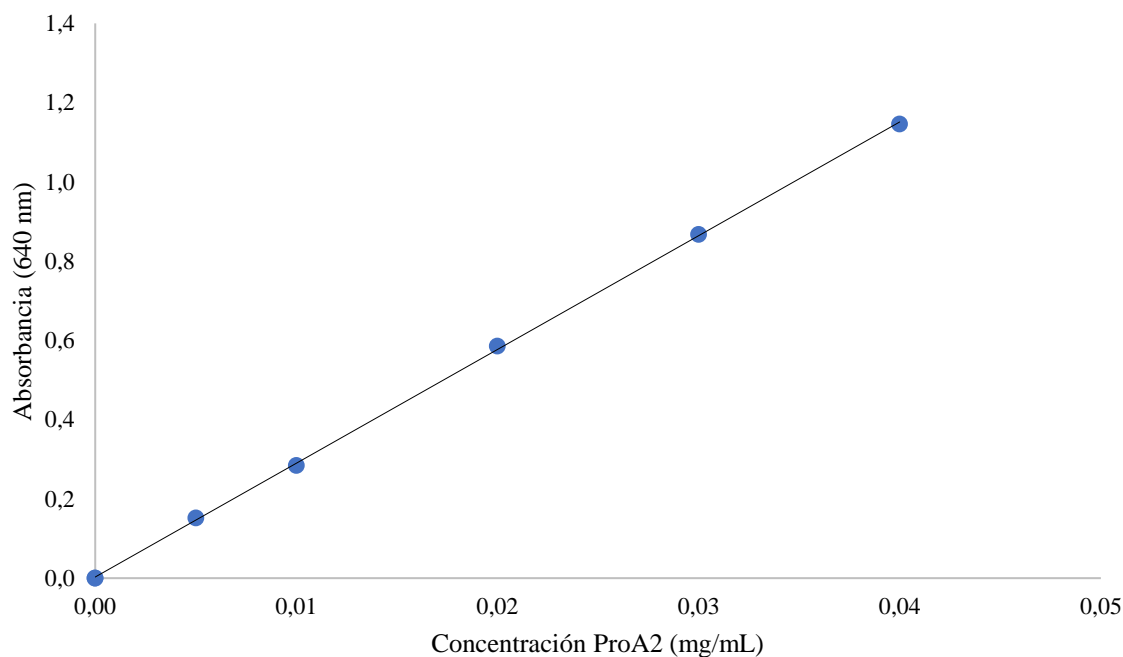


Figura 24. Curva de calibración para la cuantificación de proantocianidinas extraíbles empleando el método de DMAC, utilizando el patrón estándar ProA2

Anexo 2: Curva de calibración para la cuantificación de proantocianidinas extraíbles empleando el método de DMAC, utilizando t-PAC como patrón

Tabla 21. Rango de concentración y parámetros de linealidad de la curva de calibración para la cuantificación de proantocianidinas extraíbles empleando el método de DMAC, utilizando t-PAC como patrón

Concentración de la curva de calibración (mg/mL)	R ²	n	Ecuación de regresión		LDD	LDC
			m	b		
0,030-0,150	0,9997	3	6,9100	-0,0066	0,0024	0,0078

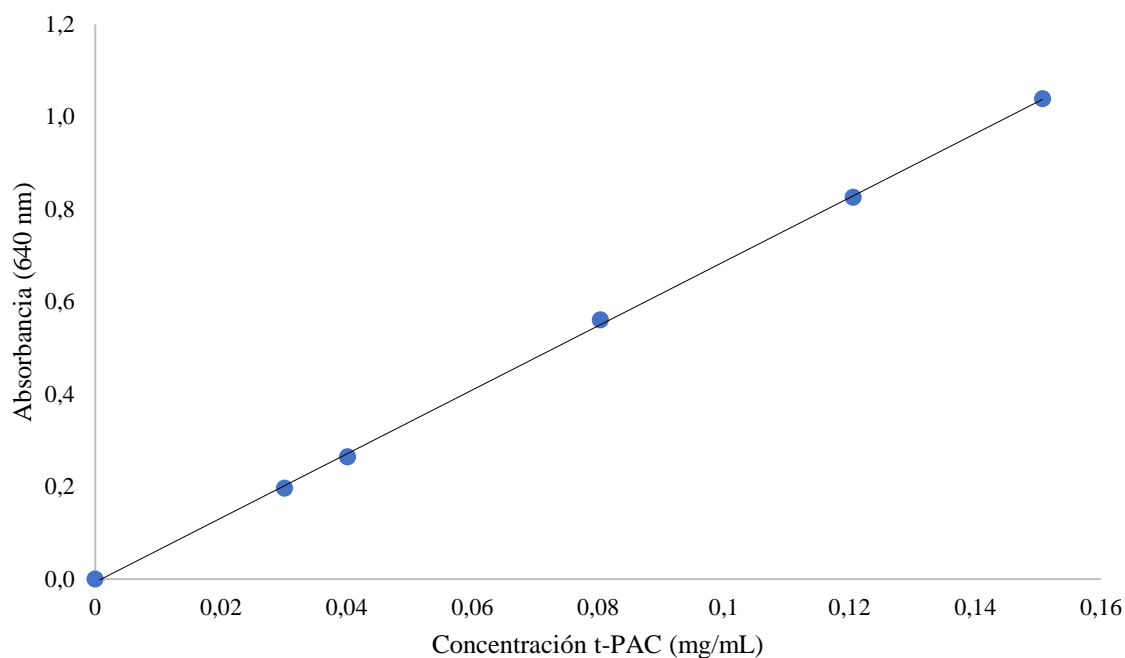


Figura 25. Curva de calibración para la cuantificación de proantocianidinas extraíbles empleando el método de DMAC, utilizando el patrón estándar t-PAC

Anexo 3: Curva de calibración para la cuantificación de proantocianidinas no extraíbles empleando el método de Butanol-HCl, utilizando t-PAC patrón

Tabla 22. Rango de concentración y parámetros de linealidad de la curva de calibración para la cuantificación de proantocianidinas no extraíbles empleando el método de Butanol-HCl, utilizando t-PAC como patrón

Concentración de la curva de calibración (mg/mL)	R ²	n	Ecuación de regresión		LDD	LDC
			m	b		
0,007-0,036	0,9999	3	20,7926	0,0017	0,0003	0,0011

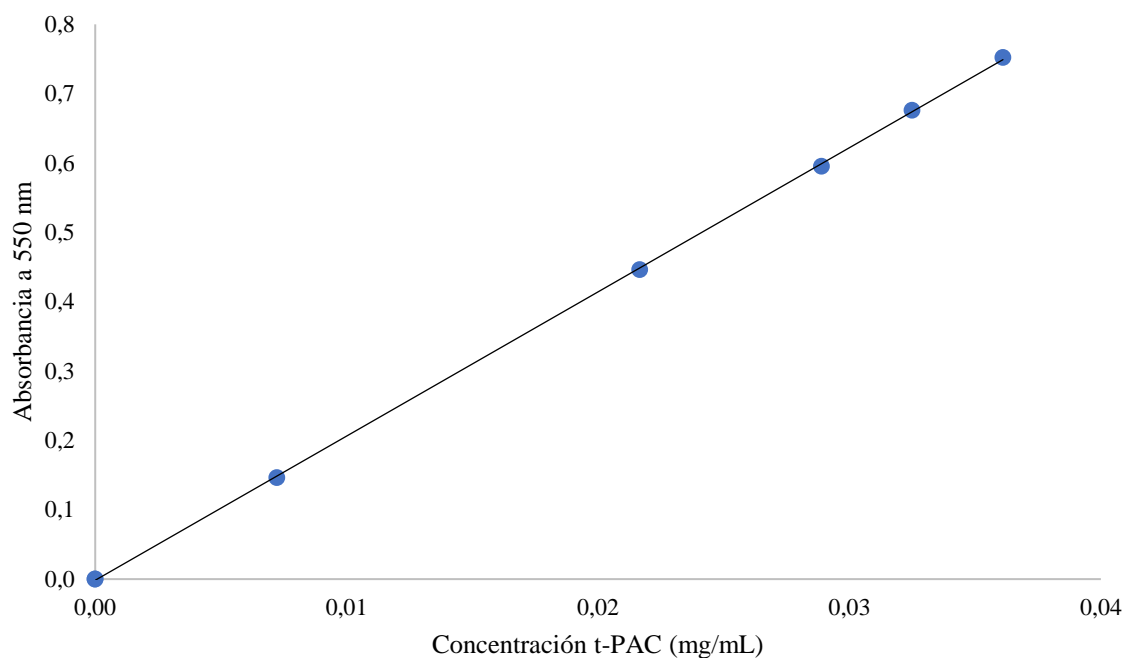


Figura 26. Curva de calibración para la cuantificación de proantocianidinas no extraíbles empleando el método de Butanol-HCl, utilizando el patrón estándar t-PAC

Anexo 4: Descripción del método para la determinación de la fibra dietética insoluble y la fibra dietética soluble

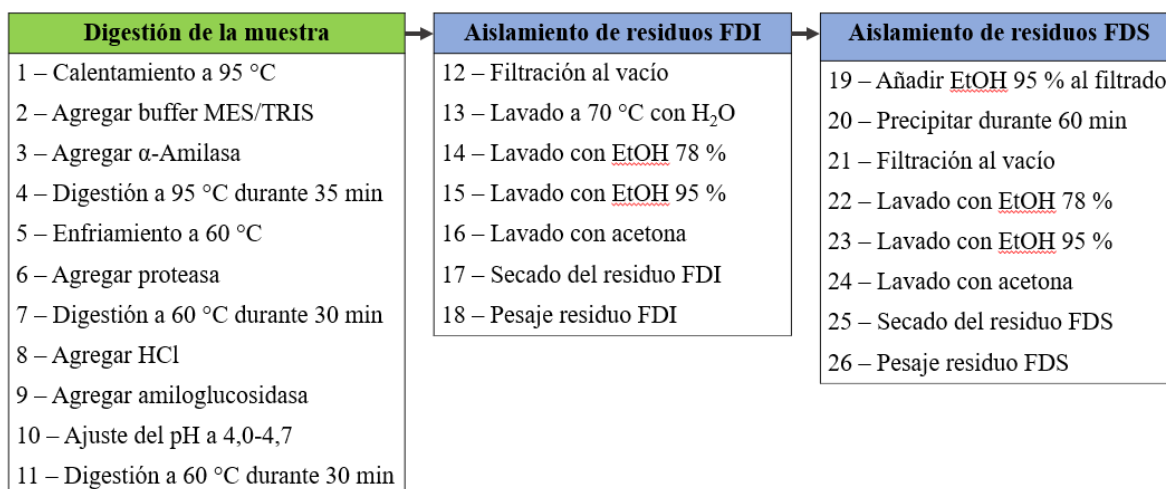


Figura 27. Metodología para la determinación de la fibra dietética insoluble y fibra dietética soluble, mediante el método de la AOAC 991.43, utilizando el equipo automatizado ANKOM^{TDF} Dietary Fiber Analyzer⁵⁶

Anexo 5: Descripción del método para la determinación de la fibra cruda

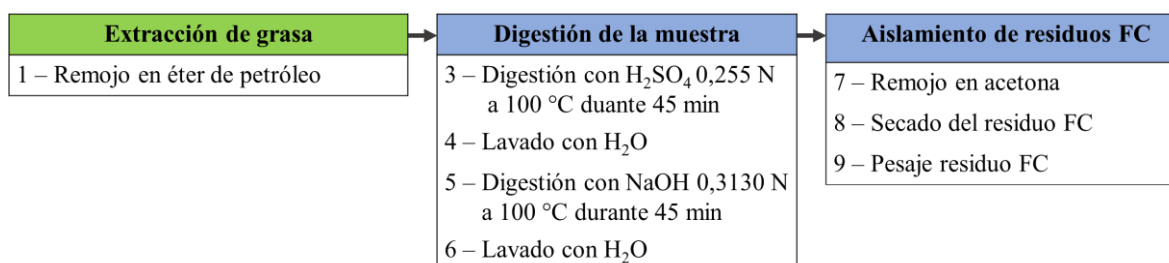


Figura 28. Metodología para la determinación de la fibra cruda, mediante el método descrito por ANKOM Technology⁵⁹

Anexo 6: Descripción del método para la determinación de la fibra detergente ácida

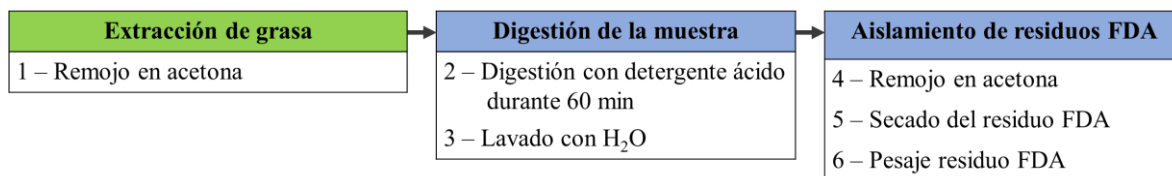


Figura 29. Metodología para la determinación de la fibra detergente ácida, mediante el método descrito por ANKOM Technology⁶⁰

Anexo 7: Descripción del método para la determinación de la fibra detergente neutra

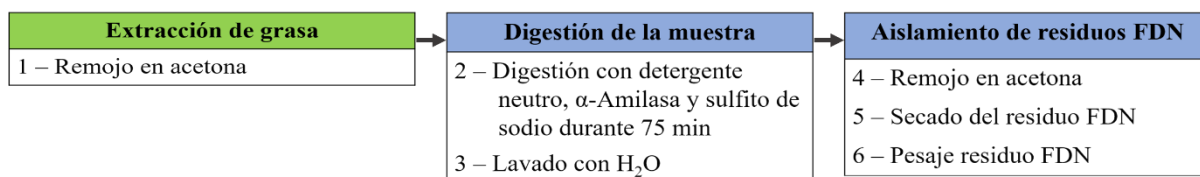


Figura 30. Metodología para la determinación de la fibra detergente ácida, mediante el método descrito por ANKOM Technology⁶⁰

Anexo 8: Valores Spearman rho de la matriz de correlación

Tabla 23. Valores Spearman rho de la matriz de correlación entre la fibra dietética insoluble, fibra dietética soluble, fibra cruda, fibra detergente ácida, fibra detergente neutra, proantocianidinas extraíbles del residuo de las fibras y proantocianidinas no extraíbles de los residuos de las fibras, en las muestras de tegumento de maní

	FDI	n-PAC_(FDI)	FDS	n-PAC_(FDS)	FC	n-PAC_(FC)	FDA	n-PAC_(FDA)	FDN	n-PAC_(FDN)
FDI	1,0000									
n-PAC_(FDI)	0,0202	1,0000								
FDS	-0,2884	0,0793	1,0000							
n-PAC_(FDS)	0,0246	0,465	0,3817	1,0000						
FC	0,778	-0,1012	-0,137	0,0628	1,0000					
n-PAC_(FC)	0,5183	0,4283	-0,2859	0,433	0,3376	1,0000				
FDA	0,3911	0,4689	0,3323	0,6383	0,2563	0,6486	1,0000			
n-PAC_(FDA)	-0,0447	0,4844	0,3292	0,695	-0,245	0,5498	0,792	1,0000		
FDN	0,8426	0,2992	-0,2748	0,1719	0,655	0,737	0,5686	0,2026	1,0000	
n-PAC_(FDN)	0,0242	0,5386	0,1793	0,5705	-0,2033	0,5679	0,7144	0,8248	0,3589	1,0000