



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Escola Tècnica Superior
d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica
y del Medio Natural

EFEECTO DE UTILIZAR UNA MATRIZ DE SOPORTE
GRASA SOBRE LA DIGESTIÓN GASTROINTESTINAL Y
LA FERMENTACIÓN COLÓNICA IN VITRO DE UN
POLVO OBTENIDO A PARTIR DE EXCEDENTES DE
CAQUI

Trabajo Fin de Grado

Grado en Biotecnología

AUTOR/A: Benito Sanchis, Lucía

Tutor/a: Betoret Valls, Noelia

Cotutor/a: Seguí Gil, Lucía

Cotutor/a externo: Gosalbes Soler, María José

CURSO ACADÉMICO: 2023/2024

TÍTULO:

Efecto de utilizar una matriz de soporte grasa sobre la digestión gastrointestinal y la fermentación colónica *in vitro* de un polvo obtenido a partir de excedentes de caqui.

RESUMEN:

Con la finalidad de disminuir la generación de residuos y añadir valor a la producción primaria de la Comunidad Valenciana se ha estudiado el proceso de obtención de polvos funcionales con interés para la industria alimentaria a partir de excedentes de caqui. Las propiedades funcionales de estos ingredientes estarán condicionadas en gran medida por la matriz alimentaria a la que se añadan. El objetivo del presente trabajo es determinar el efecto de utilizar una matriz de soporte grasa sobre la digestión gastrointestinal y la fermentación colónica *in vitro* de un polvo obtenido a partir de excedentes de caqui, evaluando las propiedades antioxidantes (fenoles totales, flavonoides y capacidad antirradical) además de los cambios en la microbiota tras la fermentación colónica.

Los resultados mostraron que la matriz grasa permite una mayor bioaccesibilidad de los compuestos bioactivos tras la digestión gastrointestinal. Una mayor concentración de aceite permite un incremento en la liberación de compuesto con capacidad antirradical. En cuanto a la microbiota intestinal, se ha determinado que una mezcla de polvo de caqui y aceite de oliva promueve el crecimiento de una microbiota con abundantes géneros bacterianos productores de compuestos beneficiosos, como los ácidos grasos de cadena corta.

PALABRAS CLAVE:

Sostenibilidad; Subproductos; Excedentes; Caqui; Digestión *in vitro*; Fermentación colónica; Matriz grasa; Aceite de oliva

AUTOR/A: Lucía Benito Sanchis

TUTOR/A: Noelia Betoret Valls y Lucía Seguí Gil

COTUTOR/A EXTERNO: María José Gosalbes Soler

TITLE:

Effect of the use of a fat-supporting matrix on the gastrointestinal digestion and in vitro colonic fermentation of a powder obtained from persimmon surpluses

ABSTRACT:

In order to reduce the generation of waste and add value to primary production in the Valencian Community, the process of obtaining functional powders of interest to the food industry from persimmon surpluses has been studied. The functional properties of these ingredients will be conditioned to a large extent by the food matrix to which they are added. The aim of the present work is to determine the effect of using a fat support matrix on gastrointestinal digestion and in vitro colonic fermentation of a powder obtained from persimmon surplus, evaluating the antioxidant properties (total phenols, flavonoids and antiradical capacity) as well as the changes in the microbiota after colonic fermentation.

The results showed that the fat matrix allows a higher bioaccessibility of bioactive compounds after gastrointestinal digestion. A higher concentration of oil allows an increased release of compounds with antiradical capacity. Regarding the intestinal microbiota, it has been determined that a mixture of persimmon powder and olive oil promotes the growth of a microbiota with abundant bacterial genera producing beneficial compounds, such as short-chain fatty acids.

KEY WORDS:

Sustainability; By-products; Surplus; Persimmon; *In-vitro* digestion; Colonic fermentation; Fat matrix; Olive oil.

AUTHOR: Lucía Benito Sanchis

TUTOR: Noelia Betoret Valls y Lucía Seguí Gil

EXTERNAL CO-TUTOR: María José Gosalbes Soler

ÍNDICE

1. Introducción	1
1.1. Aprovechamiento de subproductos alimentarios.	1
1.1.1. Caqui.	1
1.2. Matrices alimentarias de interés.	2
1.2.1. Aceite de oliva.	2
1.2.2. Aceite de girasol.	3
1.3. Digestión <i>in vitro</i> .	3
1.4. Bioaccesibilidad, biodisponibilidad y matriz alimentaria.	4
1.5. Microbiota humana y dieta.	5
2. Objetivos	8
3. Material y métodos	9
3.1. Materia prima	9
3.2. Determinaciones analíticas	9
3.2.1. Propiedades fisicoquímicas	9
3.2.2. Propiedades de interacción con el agua y con el aceite	10
3.2.3. Propiedades antirradicales	12
3.3. Digestión gastrointestinal <i>in vitro</i> y fermentación colónica	14
3.3.1. Fermentación colónica.	15
3.4. Extracción y cuantificación del DNA.	16
3.5. Preparación de librerías de secuenciación.	16
3.6. Análisis de secuencias.	17
4. Resultados y discusión	19
4.1. Propiedades del polvo de caqui	19
4.2. Efecto de la matriz alimentaria y la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i> sobre las propiedades antioxidantes.	20
4.3. Efecto de la fermentación colónica sobre las propiedades antioxidantes	23
4.4. Análisis de la composición de la microbiota fermentativa.	25
5. Conclusiones	28
6. Bibliografía	29
7. Anexos	38

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1:</i> Superficie y producción de caqui en la Comunidad Valenciana (Generalitat Valenciana, 2023)	2
<i>Figura 2:</i> Diagrama de flujo del protocolo de la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i>	15
<i>Figura 3:</i> Esquema de la amplificación por PCR de un fragmento del gen ribosomal 16S rRNA. (Illumina: 16S metagenomics sequencing library preparation, 2019)	17
<i>Figura 4:</i> Contenido en fenoles totales y flavonoides y capacidad antirradical determinada por los métodos DPPH y ABTS del polvo de caqui, el aceite de oliva, el aceite de girasol y las mezclas preparadas con el polvo de caqui y uno de los dos aceites, antes de la digestión y en las fases sólida y líquida resultantes tras las etapas gástrica e intestinal. PC: Polvo de caqui. AO: Aceite de oliva. AG: Aceite de girasol. PC-AO-1: Mezcla de 2,7 g de polvo de caqui/ g de aceite de oliva. PC-AO-2: Mezcla de 1,3 g de polvo de caqui/ g de aceite de oliva. PC-AG-1: Mezcla de 2,7 g de polvo de caqui/ g de aceite de girasol. PC-AG-2: Mezcla de 1,3 g de polvo de caqui/ g de aceite de girasol. Las barras representan los valores medios y las líneas situadas sobre ellas representan la desviación estándar. Se incluye el <i>p-value</i> asociado al efecto de los factores “naturaleza de la muestra” y “concentración” de polvo de caqui en las mezclas, resultante de un ANOVA múltiple	21
<i>Figura 5:</i> Porcentaje de bioaccesibilidad de los fenoles, flavonoides, y de la capacidad antirradical en el polvo de caqui, el aceite de oliva, el aceite de girasol y las diferentes mezclas. PC: Polvo de caqui. AO: Aceite de oliva. AG: Aceite de girasol. PC-AO-1: Mezcla de 2,7 g de polvo de caqui/ g de aceite de oliva. PC-AO-2: Mezcla de 1,3 g de polvo de caqui/ g de aceite de oliva. PC-AG-1: Mezcla de 2,7 g de polvo de caqui/ g de aceite de girasol. PC-AG-2: Mezcla de 1,3 g de polvo de caqui/ g de aceite de girasol. Las barras representan los valores medios y las líneas situadas sobre ellas representan la desviación estándar. Se incluye el <i>p-value</i> asociado al efecto de los factores “naturaleza de la muestra” y “concentración” de polvo de caqui en las mezclas, resultante de un ANOVA múltiple	22
<i>Figura 6:</i> Contenido en fenoles totales y flavonoides y capacidad antirradical determinada por los métodos DPPH y ABTS tras la etapa de fermentación colónica para el polvo de caqui. Las barras representan los valores medios y las líneas situadas sobre ellas representan la desviación estándar	24
<i>Figura 7:</i> Contenido en fenoles totales y flavonoides y capacidad antirradical determinada por los métodos DPPH y ABTS tras la etapa de fermentación colónica. PC: Polvo de caqui. AO: Aceite de oliva. AG: Aceite de girasol. PC-AO-1: Mezcla de 2,7 g de polvo de caqui/ g de aceite de oliva. PC-AO-2: Mezcla de 1,3 g de polvo de caqui/ g de aceite de oliva. PC-AG-1: Mezcla de 2,7 g de polvo de caqui/ g de aceite de girasol. PC-AG-2: Mezcla de 1,3 g de polvo de caqui/ g de aceite de girasol. Las barras representan los valores medios y las líneas situadas sobre ellas representan la desviación estándar. Se incluye el <i>p-value</i> asociado al efecto de los factores “naturaleza de la muestra” y “concentración” de polvo de caqui en las mezclas, resultante de un ANOVA múltiple.....	1
<i>Figura 8:</i> Análisis canónico de correspondencias (CCA) según abundancia y tipo de microorganismos de las microbiotas fermentativas de las muestras digeridas y fermentadas. Control_oliva (CO): Inóculo control de las muestras de aceite de oliva. Persimon_oliva (PO70): Polvo de caqui. MIX1_oliva (1MO): Mezcla de 2,7 g de polvo de caqui/ g de aceite de oliva. MIX2_oliva (2MO): Mezcla de 1,3 g de polvo de caqui/ g de aceite de oliva. Aceite_oliva (MO): Aceite de oliva. Control_girasol (CG): Inóculo control de las muestras de aceite de girasol. Persimon_girasol (PG70): Polvo de caqui. MIX1_girasol (1MG): Mezcla de 2,7 g de polvo de caqui/ g de aceite de girasol. MIX2_girasol (2MG): Mezcla de 1,3 g de polvo de caqui/ g de aceite de girasol. Aceite_girasol (MG): Aceite de girasol. Los números (1, 2, 3 o 4) de cada muestra indican el inóculo utilizado	25

Figura 9: Composición de la microbiota fermentativa de las muestras con aceite de oliva. PC: Polvo de caqui. AO: Aceite de oliva. PC-AO-1: Mezcla de 2,7 g de polvo de caqui/ g de aceite de oliva. PC-AO-2: Mezcla de 1,3 g de polvo de caqui/ g de aceite de oliva.....26

Figura 10: Composición de la microbiota fermentativa de las muestras con aceite de girasol. PC: Polvo de caqui. AG: Aceite de girasol. PC-AG-1: Mezcla de 2,7 g de polvo de caqui/ g de aceite de girasol. PC-AG-2: Mezcla de 1,3 g de polvo de caqui/ g de aceite de girasol26

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1:</i> Contenido de las diferentes sales en las fases que se utilizaron para la simulación de las etapas oral (SSF), gástrica (SGF) e intestinal (SIF)	14
<i>Tabla 2:</i> Composición del medio basal de cultivo	16
<i>Tabla 3:</i> Propiedades fisicoquímicas, de interacción con el agua y con el aceite del polvo de caqui. Media \pm desviación estándar de las medidas realizadas en tres muestras diferentes. Propiedades ópticas: Coordenadas de color (L*: Luminosidad, a*: componente rojo-verde, b*: componente amarillo-azul, C*: Cromo, y h*: Ángulo del tono). Distribución del tamaño de partícula: D [4,3] y D [3,2], que son el diámetro medio volumétrico y el diámetro medio superficial, respectivamente; así como los percentiles d10, d50 y d90. Letras distintas en una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas con un intervalo de confianza del 95%	19
<i>Tabla 4:</i> Relación del trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de la agenda 2030	38

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Aprovechamiento de subproductos alimentarios

Los procesos industriales generan más de un millón de toneladas de alimentos que se pierden o desperdician, tanto en la postcosecha, como durante el almacenamiento, el transporte, el procesado, la distribución o el consumo en los hogares (Preciado-Saldaña et al., 2022). La demanda global de alimentos crece anualmente debido al incremento constante de la población humana (Lau et al., 2021). Muchas de estas pérdidas podrían utilizarse para alimentar a aproximadamente 2 millones de personas (FAO, 2019). Además, este desperdicio de alimentos es considerado la segunda causa de emisión de gases de efecto invernadero (FAO, sf).

El deber del sector es garantizar un consumo y producción sostenibles, reduciendo, reutilizando o reciclando los residuos generados y contribuyendo a la economía circular, alineándose así con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de las Naciones Unidas (Lau et al., 2021).

La mayor parte de estas pérdidas corresponde al sector de las frutas y hortalizas, en el que se desperdicia entre un 40 y un 50% de la producción. Alimentos como el pescado, los cereales, la carne y los productos lácteos también son desechados en una gran proporción (35-20%) (Granados, 2020). Ciertos subproductos de la industria alimentaria presentan un alto valor nutricional y podrían ser una buena fuente de compuestos bioactivos, convirtiéndolos así en ingredientes funcionales para la industria alimentaria (Mamata, 2010).

1.1.1. Caqui

El caqui o *Diospyros kaki L.* pertenece a la familia *Ebenaceae* y es un fruto de color rojizo o amarillo con pulpa de color rojo anaranjado. Es una fruta muy popular en el continente asiático y en Europa. Su producción se limita a la proximidad del mar Mediterráneo (Izuchi et al., 2011) y se concentra en otoño y principios de invierno (Giordani, 2001).

Esta fruta tiene una concentración elevada de nutrientes y otros componentes funcionales, determinándose una mayor cantidad de estos en la piel que en la pulpa del fruto. Azúcares, almidón, ácidos grasos, carotenoides, flavonoides, proteínas o vitaminas A, B6, B12, C y D son algunos de ellos (Direito et al., 2021). Sin embargo, la piel del caqui suele ser desechada por el consumidor (Gorinstein et al., 2001).

Según el tipo de astringencia del caqui en la maduración se pueden dar diversas variedades de esta fruta. La astringencia está causada por la presencia de taninos solubles en el momento de la maduración. Los taninos solubles se pueden unir a las proteínas salivales y provocan su precipitación o agregación, generando una sensación entre sequedad intensa y amargor en la boca. Cuanto mayor es el grado de astringencia hay una mayor necesidad de aplicar un tratamiento posterior para eliminarla (Yamada et al., 2011).

En España, la principal variedad es la “Rojo Brillante”, que es agronómicamente superior al resto de variedades autóctonas. Es una variedad astringente que requiere de tratamiento posterior y presenta una piel delicada y una pulpa más dura que el resto de las variedades. El caqui “Rojo Brillante” es cultivado en la Comunidad Valenciana, más concretamente en la Ribera del Xúquer (Díaz et al., 2020).

En 2022, en España, se cultivaron 16.426 hectáreas de caqui, de las cuales un 89% pertenecieron a la Comunidad Valenciana. Un 93% de la producción de caqui en España corresponde a la Comunidad Valenciana igualmente (*Figura 1*) (Generalitat Valenciana, 2023).

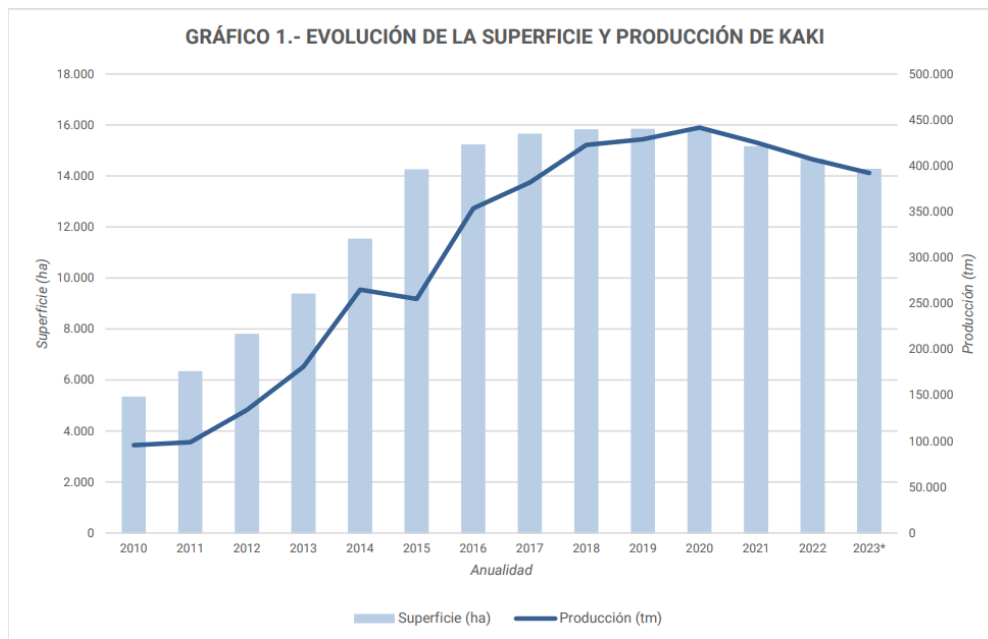


Figura 1: Superficie y producción de caqui en la Comunidad Valenciana (Generalitat Valenciana, 2023)

1.2. Matrices alimentarias de interés

La matriz alimentaria está constituida por el conjunto de todos los componentes organizados y estructurados en las distintas fases que forman un alimento. Las características de la matriz alimentaria condicionan la absorción de los nutrientes y compuestos bioactivos durante el tracto gastrointestinal. Por esta razón, es esencial conocer cómo evoluciona dicha matriz y los componentes que la conforman durante el proceso de digestión (Capuano & Janssen, 2021). En este trabajo se va a estudiar el efecto del aceite de oliva y del aceite de girasol en la absorción de los componentes bioactivos de los polvos de caqui.

1.2.1. *Aceite de oliva*

El aceite de oliva es un alimento fundamental en la dieta mediterránea (Kalogiouri et al., 2018). Presenta un alto contenido en ácidos grasos monoinsaturados, aproximadamente un 80% de su composición lipídica total. Sus propiedades beneficiosas se han atribuido tradicionalmente a estos componentes, sin embargo, se ha demostrado que otros compuestos también contribuyen a sus beneficios sobre la salud (Tripoli et al., 2005).

En cuanto a su perfil nutricional, el aceite de oliva está formado por una fracción saponificable correspondiente a su perfil de ácidos grasos, mayoritariamente compuesta por ácido oleico. Asimismo, contiene en un 2% componentes menores que se encuentran divididos en fracciones insaponificables y solubles (Covas et al., 2015). Más de 200 compuestos químicos diferentes se han encontrado en el aceite de oliva, entre ellos esteroides, carotenoides, alcoholes triterpénicos, vitamina E y compuestos fenólicos. Estos últimos representan la fuente principal de antioxidantes del aceite, conteniendo tanto fenoles hidrofílicos como lipofílicos (Angeloni et al., 2017).

Entre los compuestos fenólicos se encuentran los alcoholes fenólicos, los ácidos fenólicos, los flavonoides, los lignanos y los secoiridoides (Bendini et al., 2007). El principal fenol del aceite de oliva es el hidroxitirozol (HT), un compuesto con actividad antiinflamatoria y antiteratogénica, que mejora el perfil lipídico, reduce el estrés oxidativo y activa las células inflamatorias (Foscolou et al., 2018).

La calidad y las propiedades organolépticas del aceite de oliva dependen de diferentes factores tales como el origen geográfico, las condiciones climáticas, el cultivo o las técnicas agronómicas y de procesado. Estos factores condicionan la composición de ácidos grasos y la concentración de compuestos bioactivos (De Santis et al., 2019). Dependiendo de los métodos de procesado, existen diversas variedades de aceite de oliva: refinado, común, virgen (AOV) o virgen extra (AOVE). Los dos últimos son obtenidos por prensado directo o centrifugación de la oliva y presentan una alta concentración de compuestos fenólicos (Almanza-Aguilera et al., 2023). La composición de ácidos grasos y la alta concentración en antirradicales son responsables de la estabilidad del aceite al calentarse, contrarrestando la generación de moléculas procancerígenas derivadas de la oxidación (Allouche et al., 2007).

El consumo de AOVE se ha asociado con una mayor biodiversidad en la microbiota intestinal. Se ha demostrado que su composición lipídica influye en la relación entre *Firmicutes* y *Bacteroidetes* (Hidalgo et al., 2017). También se ha observado un incremento de uno de los principales grupos anaeróbicos estrictos del intestino, el género *Clostridium XIVa*, que es responsable de la producción de butirato, un ácido graso de cadena corta que reduce el colesterol total y promueve la actividad antiinflamatoria (Deiana et al., 2018).

En España, el sector del aceite de oliva es un pilar fundamental dentro del sector agroalimentario. El país presenta una gran tradición olivarera y una industria tecnológicamente avanzada y profesional que posiciona a España como líder mundial en superficie, producción y comercio exterior en el sector. Un 70% de la producción de aceite de oliva de la UE y un 45% de la producción mundial proviene del territorio español. Concretamente, en el territorio andaluz se produce el 80% del aceite de oliva de origen nacional (Aceite de Oliva, s. f.).

1.2.2. *Aceite de girasol*

El girasol (*Helianthus annuus*) es una planta que posee entre un 15% y un 21% de proteína y un 50% de contenido en aceite (Khan et al., 2015). El aceite de girasol presenta un alto valor nutricional y contiene aproximadamente un 69% de ácido linoleico, un 20% de ácido oleico y un 11% de ácidos grasos saturados (Nandha, 2014). Además, posee vitamina E que fortalece el sistema de defensa contra las especies reactivas del oxígeno (ROS) (Hamilton, 1995).

La alta concentración de ácidos grasos poliinsaturados contribuye a reducir el colesterol y el riesgo de enfermedades cardíacas. No obstante, estos ácidos grasos son objeto de rápidos procesos oxidativos, sobre todo en presencia de oxígeno y luz (Ghendov-Mosanu et al., 2023).

Las condiciones climáticas de crecimiento del cultivo tienen un gran impacto en la organización de los ácidos grasos del aceite de girasol. Unas condiciones más cálidas generan una mayor concentración de ácido oleico y menos ácido linoleico en comparación con las condiciones climáticas más frías (Hamilton, 1995).

En España se producen cerca de 700.000 toneladas de aceite de girasol al año, que no solo se consume directamente en hogares u hostelería, sino que se destinan grandes cantidades a la industria alimentaria. En cuanto a regiones españolas, el cultivo de girasol se ha centrado principalmente en Andalucía, Castilla La Mancha y Castilla y León (Marketinet, 2022).

1.3. Digestión in vitro

La digestión de los alimentos es un fenómeno complejo pero esencial para preservar la salud y el bienestar de los seres humanos. Los nutrientes son extraídos de la matriz alimentaria ingerida mediante transformaciones enzimáticas, químicas y mecánicas durante el proceso de digestión

(Singh et al., 2015). Los componentes nutricionales que son liberados durante la digestión están tan determinados por las propiedades iniciales de los alimentos como por las diversas transformaciones que sufren durante el tracto digestivo (Somaratne et al., 2020).

Conocer los diferentes mecanismos e identificar los parámetros clave que determinan la liberación de los nutrientes de los alimentos en este proceso es esencial para predecir con precisión el perfil de biodisponibilidad de los nutrientes. Durante las últimas décadas, se ha investigado en profundidad el sistema de desintegración de alimentos sólidos durante la digestión gastrointestinal, obteniendo varios modelos de digestión *in vitro* e *in vivo* para imitar las modificaciones fisicoquímicas de dicho proceso (Bornhorst & Singh, 2014).

El modelado estático de la digestión gástrica se utiliza para evaluar el efecto de la estructura y composición de los alimentos y valorar la influencia de los factores dietéticos, el procesado y las condiciones fisiológicas sobre la bioaccesibilidad de los nutrientes y compuestos bioactivos. Los resultados pueden contribuir a establecer el valor nutricional de los alimentos y así poder perfeccionar el diseño de estos (Alminger et al., 2014).

INFOGEST publicó un protocolo de digestión gastrointestinal estática *in vitro* que hace uso de proporciones constantes de comida y fluidos digestivos, además de un pH constante en cada paso del proceso (Brodkorb et al., 2019). Con este método, los alimentos se someten a una digestión oral, gástrica e intestinal secuencialmente. Los parámetros como los electrolitos, los enzimas, la bilis, el pH o el tiempo de digestión se basan en los datos fisiológicos que se encuentran disponibles. Sin embargo, aunque este procedimiento es sencillo de usar, no es completamente adecuado para simular la cinética de la digestión (Egger et al., 2017).

Los diversos modelos colónicos *in vitro* abarcan desde incubaciones fecales por lotes utilizando una microbiota fecal densa y anaerobia estricta hasta modelos continuos más complejos que simulan diferentes partes del colon humano (Gross et al., 2010). Los obstáculos de estos modelos *in vitro* incluyen la limitación de no poder representar completamente la microbiota presente en la luz y la mucosa del colon, y la ausencia de las tasas combinadas de catabolismo y absorción que suceden *in vivo* (Wojtunik-Kulesza et al., 2020).

1.4. Bioaccesibilidad, biodisponibilidad y matriz alimentaria

En la nutrición, la biodisponibilidad es definida como la fracción del compuesto bioactivo ingerido que se encuentra disponible ya sea para su uso o almacenamiento. En cambio, cuando se habla de bioaccesibilidad, se hace referencia a la fracción del compuesto que se libera de su matriz en el tracto gastrointestinal, permitiendo que se encuentre disponible para la absorción intestinal (Fernández-García et al., 2009). Una vez liberados de la matriz, los compuestos bioactivos pueden sufrir diversos cambios estructurales por la influencia de diferentes factores fisicoquímicos, como el pH, las actividades enzimáticas o la temperatura, y de factores mecánicos, tales como la trituración o la mezcla. Estos cambios causan efecto en la bioaccesibilidad. Dependiendo de la estructura química de los compuestos, estos pueden ser parcialmente absorbidos en el intestino delgado o incluso llegar sin ser absorbidos al colon con apenas modificaciones (Fernández Jalao, 2021).

Por otra parte, la bioaccesibilidad puede estar condicionada por otros factores como la matriz alimentaria en la que se encuentran los compuestos bioactivos o por el tipo de procesado al que ha estado sometido el alimento (Bohn, 2014). Por este motivo, conocer la bioaccesibilidad de los componentes de un alimento permite determinar el valor nutricional del mismo y relacionarlo con las condiciones de proceso. Modificando la matriz (características estructurales, propiedades fisicoquímicas o contenido en otros compuestos) se puede mejorar la bioaccesibilidad de los compuestos

bioactivos, aumentando el valor nutricional del alimento. Junto con todos estos factores, la influencia de la fisiopatología particular del consumidor es un aspecto importante a tener en cuenta (Fernández-García et al., 2009).

La matriz alimentaria tiene un gran efecto sobre la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de los polifenoles dándose interacciones directas entre estos compuestos y algunos componentes de los alimentos, como las proteínas y los polisacáridos. Este tipo de interacción podría afectar al proceso de absorción de los polifenoles (Manach et al., 2004). Determinados fenoles se encuentran fuertemente unidos a carbohidratos presentes en las paredes celulares como las pectinas, celulosas o fibra dietética, lo que hace el proceso de extracción más complejo durante la digestión (Quirós-Sauceda et al., 2014). La fibra dietética influye en el tiempo de tránsito intestinal y los compuestos unidos pueden llegar directamente al intestino grueso donde, mediante diferentes enzimas, los compuestos fenólicos son liberados y metabolizados por la microbiota intestinal (Bohn, 2014). Otros compuestos están presentes en las vacuolas de las células vegetales y solo interactúan con los carbohidratos durante el procesado o masticación (Jakobek, 2015). Asimismo, la presencia de determinados micronutrientes o agentes xenobióticos puede afectar a los enzimas o a las proteínas transportadoras que participan en la absorción y metabolismo de polifenoles (Manach et al., 2004).

La presencia de proteínas o grasas ya sea en la propia matriz alimentaria o en los alimentos que se ingieren en la dieta, puede influir también en la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos. Se ha detectado que los compuestos fenólicos con mayor peso molecular, con un elevado contenido en grupos hidroxilo, con alta capacidad de flexibilidad estructural y con una mayor concentración de prolina, disponen de una mayor capacidad para enlazarse con las proteínas, cuyas uniones son hidrófobas no covalentes (Ribas-Agustí et al., 2018). Estas interacciones tienden a romperse por la intervención de enzimas digestivas y del pH gástrico. En cambio, los lípidos influyen en menor medida en la absorción de los polifenoles, excepto si aparecen pequeñas gotas de grasa que atrapan estos compuestos favoreciendo su absorción (Jakobek, 2015).

La bioaccesibilidad parece mejorar gracias a una dosis fisiológica adecuada y al menor tamaño de las partículas y el calentamiento, que facilitan la liberación desde la matriz. La ingesta simultánea de micronutrientes antioxidantes como las vitaminas C y E puede reducir en cierta medida la degradación gastrointestinal de los polifenoles. Por último, la presencia de polifenoles adicionales puede aumentar su disponibilidad al influir en los transportadores de eflujo (Bohn, 2014).

1.5. Microbiota humana y dieta

La microbiota del colon humano está formada por más de 100 billones de microorganismos incluyendo bacterias, virus, hongos y parásitos de los cuales se han identificado aproximadamente 1000 especies bacterianas (Beam et al., 2021). Estos microorganismos participan en la salud humana aportando las enzimas que no están codificadas en el genoma humano y llevando a cabo la biosíntesis de vitaminas y aminoácidos esenciales. Así, permite la generación de importantes subproductos metabólicos a partir de componentes dietéticos que el intestino delgado no digiere (Bäckhed et al., 2005).

Los grupos bacterianos predominantes en la microbiota, generalmente, son *Firmicutes* gram positivos y *Bacteroidetes* gram negativos (Flint et al., 2007). Se ha demostrado que la microbiota humana puede dividirse en diferentes enterotipos con géneros bacterianos determinados. Sin embargo, existe una uniformidad funcional que es independiente de varias propiedades del huésped, tales como el sexo, la edad y el índice de masa corporal (Singh et al., 2017).

Diversos estudios han demostrado que la dieta participa en la configuración de la diversidad de la microbiota intestinal, lo que puede traducirse en importantes efectos sobre la salud (Singh et al., 2017). La composición del microbioma evoluciona a lo largo de la vida y cambia en función de factores genéticos, del entorno y de la dieta (Fernández Jalao, 2021). Los patrones dietéticos habituales del individuo son fundamentales en la composición de la microbiota, pero cambios significativos en la ingesta de macronutrientes y fibra también pueden inducir cambios rápidamente (Holscher, 2017).

Una dieta rica en proteína animal incrementa la presencia de *Bacteroides spp.*, *Alistipes spp.* y *Bilophila spp.*, sin embargo, disminuye el contenido de otras bacterias beneficiosas como *Lactobacillus spp.*, *Roseburia spp.* y *E. rectale*, modificando la diversidad bacteriana intestinal (Karl et al., 2017). Adicionalmente, lo que se conoce como dieta occidental, una dieta alta en grasas animales y saturadas, puede alterar también el microbioma al aumentar los niveles de lipopolisacáridos (LPS) y de N-óxido de trimetilamina (TMAO), y al reducir la concentración de ácidos grasos de cadena corta (SCFA) (Singh et al., 2017). Los LPS bacterianos permean a través de las paredes del intestino llegando al sistema linfático y el torrente sanguíneo, lo que puede desencadenar una inflamación de bajo grado, pero sistémica. No se conocen los mecanismos por los que se absorben los LPS, pero podrían relacionarse con la absorción de grasas, lo que aumenta la filtración de LPS plasmático en la linfa (Cani et al., 2007).

Los altos niveles de especies de *Prevotella* se han asociado con dietas basadas en plantas, sobre todo se ha observado un alto enriquecimiento de esta especie en personas vegetarianas (Tomova et al., 2019). Se trata de dietas bajas en grasas y ricas en fibra, que pueden alterar positivamente la composición de la microbiota promoviendo, además de *Prevotella*, otras bacterias beneficiosas como *Bacteroides* y reduciendo otras como *Firmicutes* (Matijašić et al., 2013).

La dieta mediterránea, que se centra en alimentos de origen vegetal, es rica en fibra y ácidos grasos omega-3, y baja en proteínas animales y grasas saturadas. Seguir esta dieta está asociada con mayores niveles de SCFA, de *Prevotella* y *Firmicutes*, los cuales degradan la fibra. En un estudio llevado a cabo por De Filippis et al. (2015), se encontró que la proporción de *Prevotella* a *Bacteroides* era mayor en aquellos sujetos con adherencia a la dieta mediterránea. Esto indica que una dieta rica en fibra natural y almidón resistente altera positivamente la composición bacteriana del intestino (De Filippis et al., 2015). Además, se descubrió que la microbiota de los sujetos con dieta mediterránea era significativamente más diversa en comparación con el microbioma de los que seguían una dieta occidental, incrementando en gran medida la concentración de bacterias como *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Faecalibacterium* y *Oscillospira* (Nagpal et al., 2018).

Cuando se habla de fibra dietética se hace referencia a los carbohidratos no digeribles y a la lignina que se encuentran intactos e intrínsecos en las plantas. La fibra difiere en estructura química, solubilidad en agua, viscosidad y fermentabilidad. Generalmente se trata de polímeros de carbohidratos que contienen tres o más unidades monoméricas que son resistentes a las enzimas digestivas, lo que impide que se hidrolicen y absorban en el intestino delgado. Existen fibras insolubles y solubles, y estas últimas son metabolizadas por las bacterias colónicas, mayoritariamente *Firmicutes* y *Actinobacteria*, produciendo SCFA (Makki et al., 2018).

Los polifenoles parecen tener también efectos positivos sobre la microbiota intestinal, aumentando la presencia de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* (Vendrame et al., 2011). En cuanto a los flavonoides, que se encuentran presentes en frutas, verduras, legumbres y semillas, se ha descubierto que pueden aumentar la producción de SCFA y reducir la concentración de LPS (Beam et al., 2021).

Este trabajo se centra en el estudio del grupo poblacional de mujeres postmenopáusicas. En el contexto del esfuerzo global para promover la salud de la mujer en cada una de las etapas de la vida, y con el envejecimiento de la población, la mujer postmenopáusica representa un importante grupo a tener en cuenta en las estrategias de salud. La menopausia se asocia con una serie de cambios físicos atribuibles a la pérdida de estrógenos, como sofocos, desmineralización ósea, sequedad vaginal e inflamación crónica. Además, se han detectado perfiles composicionales y funcionales alterados de la microbiota intestinal en mujeres postmenopáusicas (Mayneris-Perxachs et al., 2020; Zhao et al., 2019).

Recientemente, estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado que la suplementación dietética con isoflavonas de soja modula la microbiota de la mujer menopáusica, aumentando las bacterias involucradas en la producción de ácidos grasos de cadena corta (SCFA) (Guadamuro et al., 2017, 2021). En un trabajo reciente, se ha determinado mediante un sistema de digestión/fermentación *in vitro* que una combinación de polifenoles, como los taninos, y alimentos ricos en fibra favorece el crecimiento de bacterias beneficiosas para la salud como los géneros *Akkermansia*, *Bifidobacterium* o *Faecalibacterium* además de inducir la síntesis de SCFA como el ácido butírico (Molino et al., 2021).

En definitiva, promover el uso de subproductos agrarios en forma de polvo puede ayudar tanto a reducir las pérdidas de la industria agroalimentaria como a generar productos de alto valor nutricional al combinarlos con una matriz alimentaria que fomente la absorción de sus compuestos bioactivos. Además, la relación que existe entre la ingesta dietética y la diversidad de la microbiota intestinal, hay que tenerla en cuenta a la hora de investigar sobre su efecto en la salud humana y concretamente sobre las alteraciones asociadas a un periodo importante de la vida de la mujer como la postmenopausia.

2. OBJETIVOS

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de utilizar una matriz de soporte grasa sobre las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes de un polvo obtenido a partir de excedentes de caqui, de las matrices grasas ensayadas, y de mezclas polvo-matriz grasa, antes y durante la digestión gastrointestinal simulada *in vitro*. Asimismo, se plantea evaluar los cambios producidos en la microbiota intestinal tras la fermentación colónica *in vitro* de las muestras digeridas.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Materia prima

Como materias primas se utilizaron polvo de caqui, aceite de oliva virgen extra y aceite de girasol.

Para la preparación del polvo de caqui, se trabajó con excedentes de caqui procedentes de agricultura ecológica y proporcionados por la cooperativa “La Vall de la Casella Coop. V” (Alzira, València). Las frutas enteras se trituraron en un procesador domestico (Thermomix®, Vorwerk, Spain) a 10,000 rpm durante 5 s incluyendo piel y pedúnculo. El puré resultante se secó con aire a 70 °C y una velocidad de 10 m/s en un secador de bandejas (Poleko Aparatura, Katowice, Poland). Las muestras secas se trituraron de nuevo en un procesador domestico (Thermomix®, Vorwerk, Spain) a 10,000 rpm durante 40 s en intervalos de 20 s. El polvo obtenido se almacenó a temperatura ambiente en botes de vidrio protegidos de la luz.

El aceite de oliva virgen extra (AOVE), de producción ecológica y obtenido a partir de las variedades Oliana y Koroneiki, fue suministrado por la cooperativa “Campoenguera” (Enguera, València). El aceite de girasol fue adquirido en un supermercado local de la ciudad de València.

Se prepararon cuatro suspensiones de polvo de caqui en aceite, dos de ellas utilizando como matriz de soporte grasa el AOVE y las otras dos con el aceite de girasol. Una de las suspensiones preparada con cada aceite, incluyó el polvo de caqui en la proporción de 2,7 g de polvo de caqui/g de aceite y la otra en la proporción de 1,3 g de polvo/g de aceite. Las suspensiones se prepararon en el momento en el que iban a ser utilizadas.

3.2. Determinaciones analíticas

3.2.1. Propiedades fisicoquímicas

En los polvos del caqui se determinaron la humedad, los sólidos solubles, la actividad del agua, el color y el tamaño de partícula.

- Humedad (x_w)

Se determinó la humedad mediante secado en estufa de vacío a 60 °C a -0,4 ba siguiendo el método recomendado por la AOAC (AOAC, 1996).

Debido a que el método de secado en estufa puede resultar impreciso en muestras con muy bajo contenido en agua, se determinó también el contenido en agua utilizando una estufa automática de infrarrojos (KERN DBS 60-3). La lámpara de la estufa emite radiación infrarroja de entre 3000 y 3500 nm, radiación que es absorbida por los enlaces de las moléculas de agua que se calientan y evaporan. La estufa calienta y pesa la muestra de forma sucesiva y automática hasta que ya no se produzca variación de peso. La diferencia de peso inicial y final corresponde al agua eliminada.

- Sólidos solubles (x_{ss})

Los sólidos solubles totales del polvo de caqui se determinaron a partir de los grados Brix, medidos con un refractómetro termostatado a 20 °C (ABBE ATAGO 3-T, Japón). Para ello se realizó la extracción de los sólidos solubles con agua y polvo de caqui en una proporción 2:15 (m/v).

A partir de los grados Brix de la disolución, se calculó la fracción másica de sólidos solubles del polvo (x_{ss}) utilizando la ecuación:

$${}^{\circ}Brix = \frac{x_{ss}}{x_{ss} + x_w + \left(\frac{m_w}{m}\right)} \times 100 \quad (1)$$

Donde x_w representa la fracción másica de agua o humedad del polvo considerado, y m_w corresponde a la masa de agua añadida en la preparación de la extracción.

- Actividad del agua (a_w)

La actividad de agua se determinó en el polvo de caqui utilizando un higrómetro de punto de rocío (Aqualab 4TE; Decagon Devices Inc., Pullman WA, USA) con una precisión de $\pm 0,003$ a una temperatura de 25 °C.

- Color

El color se midió del caqui en polvo con un espectrocolorímetro (MINOLTA, CM-3600D). Se obtuvieron las coordenadas de color en el espacio de color CIEL*a*b*, donde L* representa la luminosidad, a* la componente rojo-verde y b* la componente amarillo-azul. La saturación y el croma se calcularon con las ecuaciones (2) y (3).

$$C_{ab} = \sqrt{a^2 + b^2} \quad (2)$$

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2} \quad (3)$$

- Tamaño de partícula

El tamaño de partícula se determinó utilizando un equipo de difracción láser (Malvern Mastersizer-modelo 2000, Malvern Instruments Kimited Worcestershire, Reino Unido), tanto por vía seca como por vía húmeda. Este dispositivo puede medir partículas en un rango de tamaño de 0,2 a 200 μm . Se emplearon índices de refracción de 1,53 para la muestra y 1,35 para la fase dispersa. Para la medición por vía seca, se utilizó aire seco como agente dispersante a una presión de 2,5 bares y una agitación del 60%; mientras que para la medición por vía húmeda se usó agua desionizada como agente dispersante, con un índice de absorción de 0,1.

Los parámetros utilizados para determinar el tamaño de partícula incluyen D[4,3], D[3,2], d10, d50 y d90. EL D[4,3] es el diámetro medio volumétrico o diámetro volumen equivalente, es decir, el diámetro de la esfera con el mismo volumen que la partícula, siguiendo la ecuación (4). Mientras que el D[3,2] es el diámetro medio superficial o diámetro superficie equivalente, es decir el diámetro de la esfera con una superficie equivalente a la partícula, siguiendo la relación descrita en la ecuación (5). Por otro lado, d10, d50 y d90 representan los tamaños de partícula por debajo de los cuales se encuentra el 10%, 50% y 90% de la distribución, respectivamente.

$$D[4,3] = \frac{\sum_i n_i d_i^4}{\sum_i n_i d_i^3} \quad (4)$$

$$D[3,2] = \frac{\sum_i n_i d_i^3}{\sum_i n_i d_i^2} \quad (5)$$

3.2.2. *Propiedades de interacción con el agua y con el aceite.*

Se realizaron las determinaciones de las propiedades de interacción con el agua y el aceite del caqui en polvo. Concretamente, se determinaron la solubilidad, la higroscopicidad, capacidad de absorción de agua (WHC), capacidad de retención de agua (WRC), la capacidad de hinchamiento, la capacidad de retención del aceite y la capacidad y estabilidad emulsionante.

- Solubilidad

La solubilidad (%) se calculó a partir del cociente entre los sólidos solubles (SS) y los sólidos totales (TS).

Para medir los SS y TS, se preparó una disolución madre con 3 g de muestra en 150 mL de agua destilada, la cual se agitó hasta su total homogeneización. Después, para SS, se agregaron 20 mL de esta solución a un tubo graduado y se centrifugó a 10,000 rpm durante 10 minutos a 4 °C. A continuación, el líquido sobrenadante se transfirió a otro recipiente y se secó a 60 °C durante 24 horas a presión atmosférica, seguido de 48 horas adicionales a presión de vacío. En cuanto a TS, la masa seca se midió directamente en 20 mL de la solución madre (Mimouni et al., 2009).

- Higroscopicidad

Se introdujeron 0.5 g de muestra en polvo junto a una disolución saturada de Na₂SO₄ durante 7 días en una cámara hermética a 20 °C. Se determinó el aumento de peso experimentado por el polvo, y la higroscopicidad se expresó como gramos de agua ganados por cada 100 g de muestra (Cai & Corke, 2000).

- Capacidad de absorción de agua (WHC)

Esta propiedad se define como la cantidad de agua que es capaz de retener una muestra sin aplicar ninguna fuerza externa, salvo la presión atmosférica y la gravedad. Para su determinación, se pesaron 0.2 g del polvo de caqui en un tubo cónico graduado. Luego, se agregaron 10 mL de agua destilada y se dejó reposar durante 18 horas a 25 °C. Después, se extrajo el sobrenadante con una pipeta Pasteur, obteniendo así el residuo sedimentado. Finalmente, este residuo se liofilizó para obtener el peso seco de la muestra (RL). La capacidad de retención de agua se calculó utilizando la ecuación, donde RH (g) es el peso del residuo húmedo y RL (g) es el peso del residuo seco (Raghavendra et al., 2006).

$$WHC = \frac{(RH - RL)}{RL} \quad (6)$$

- Capacidad de retención de agua (WRC)

Para determinar esta propiedad, se midió la capacidad de la muestra para retener agua tras ser sometida a una fuerza externa, como la presión o la centrifugación (Pomar Martínez et al., 2021).

Para ello, se introdujo 1 g de polvo de caqui en un tubo cónico graduado y se le agregaron 10 mL de agua destilada. Tras un periodo de reposo de 18 h a una temperatura de 25 °C, se procedió a centrifugar a 2,000 rpm durante 30 min. Seguidamente, se retiró el líquido sobrenadante y se obtuvo el residuo sedimentado. Posteriormente, este residuo se sometió a liofilización para obtener el peso seco de la muestra. La capacidad de retención de agua se determinó como la cantidad de agua retenida en relación con el residuo seco.

- Capacidad de hinchamiento

Para medir la capacidad de hinchamiento de las muestras, se colocó 1 g de la muestra en un cilindro graduado con 10 mL de agua destilada, dejándola reposar durante 18 horas a temperatura ambiente. Al término de este periodo, se midió el volumen y se determinó la capacidad de hinchamiento como el volumen que ocupa la muestra en relación con el peso introducido inicialmente (Robertson et al., 2000).

- Capacidad de retención del aceite

Esta propiedad se evaluó siguiendo la metodología propuesta por Garau et al., (2007). Se mezclaron 0,2 g de la muestra con 1,5 g de aceite de girasol y se dejaron reposar durante toda la noche a temperatura ambiente. Luego, las muestras se centrifugaron a 1,500 g durante 5 minutos. Después de separar el sobrenadante, se pesó el residuo. La capacidad de retención de grasa se calculó como el aumento de peso de la muestra y se expresó en gramos de aceite absorbido por gramo de muestra inicial.

- Actividad y estabilidad emulsionante

Estos dos parámetros se determinaron siguiendo la metodología propuesta por (Yasumatsu et al., 1972).

Para determinar la actividad emulsionante, se preparó una solución al 2% (p/v) con el polvo y agua destilada. Después, se mezclaron 7 mL de esta disolución con 7 mL de aceite de girasol y se homogeneizó durante 5 min en un vórtex a 2,400 rpm. Luego, la mezcla se centrifugó durante 5 min a 10,000 rpm. La actividad emulsionante se expresó como el volumen de la emulsión formada en relación con el volumen total y se expresó en porcentaje.

Para la estabilidad emulsionante, se siguió la misma metodología. Tras la homogeneización con vórtex, la mezcla se calentó a 80 °C durante 30 min. Después de enfriar, se centrifugó a 2,000 rpm durante 5 min. La estabilidad emulsionante se expresó como el volumen de la emulsión final en relación con el volumen total y se expresó en porcentaje.

3.2.3. Propiedades antirradicales

Se determinaron las propiedades antioxidantes del polvo de caquí y de las suspensiones con los aceites antes del proceso de digestión gastrointestinal *in vitro* y después las etapas gástrica, intestinal y colónica. Las muestras digeridas después de cada etapa fueron centrifugadas durante 10 min a 10.000 rpm y se realizaron las mediciones tanto en el sobrenadante como en el precipitado. Para ello, se determinó el contenido en fenoles y flavonoides totales, así como la capacidad antioxidante medida por los métodos DPPH y ABTS.

Las determinaciones se realizaron sobre el extracto obtenido a partir de cada muestra. Para la preparación del extracto, la muestra se diluyó en la proporción 1:10 (w/v) con una disolución de CH₃OH:H₂O en la relación 80:20. La muestra diluida se mantuvo en agitación durante 1 hora y posteriormente se centrifugó 5 min a 10.000 rpm. El sobrenadante obtenido se consideró como extracto.

Para cada muestra y cada técnica se realizaron las diluciones necesarias.

- Fenoles totales

Los fenoles totales se determinaron utilizando el método colorimétrico modificado de Folin-Ciocalteu (Wolfe et al., 2003). Se mezclaron 0,125 mL del extracto, 0,125 mL del reactivo de Folin-

Ciocalteu y 0,5 mL de agua bidestilada, en una cubeta de espectrofotómetro y se dejó reaccionar durante 6 min en oscuridad. Tras ese tiempo se agregaron 1,25 mL de una disolución de carbonato de sodio al 7% y 1 mL de agua bidestilada.

Transcurridos 90 min, se midió la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro (Thermo Scientific, Helio Zeta U/Vis). La lectura obtenida se comparó con una curva patrón de disoluciones preparadas de ácido gálico (pureza $\geq 98\%$, Sigma-Aldrich) en un rango de concentración entre 0 y 500 mg/L. El contenido de fenoles totales se expresó como miligramos equivalentes de ácido gálico (EAG) por gramo de muestra (mg EAG/g).

- Flavonoides totales

Para la determinación de los flavonoides, los cuales tienen la capacidad de neutralizar los radicales libres al donar átomos de hidrógeno, se llevó a cabo el método colorimétrico del AlCl_3 publicado por Luximon- Ramma et al. (2002).

Se agregaron a una cubeta 1,5 mL de extracto y 1,5 mL de AlCl_3 al 2% en metanol (CH_3OH). La mezcla se dejó reaccionar durante 10 min y se midió la absorbancia en el espectrofotómetro (Thermo Scientific, Helio Zeta U/Vis) a 368 nm.

Los resultados obtenidos se compararon con una recta de calibrado de quercetina (pureza $\geq 95\%$, Sigma-Aldrich) con un rango de concentración entre 0 y 300 mg/L. Las mediciones se expresaron como miligramos equivalentes de quercetina (EQ) por gramo de muestra (mg EQ/g).

- Capacidad antioxidante por el método DPPH

El método DPPH se basa en la capacidad de los antioxidantes presentes en la muestra de reducir el radical DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Este método se basa en el cambio de color morado a amarillo debido a la reducción del radical DPPH.

Se siguió el protocolo de Stratil et al. (2006) para determinar la presencia de antioxidantes. Inicialmente se preparó una disolución con 3,9 mg del radical DPPH y 100 mL de metanol. Posteriormente se preparó una mezcla con 0,1 mL del extracto y 2,9 mL de la disolución DPPH-metanol. Pasados 60 minutos se midió la absorbancia a 515 nm en un espectrofotómetro (Thermo Scientific, Helio Zeta U/Vis).

Los resultados se compararon con los obtenidos en una recta patrón de trólox ($\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_4$, pureza $\geq 97\%$) obtenida para un rango de concentración entre 0 y 200 mg/L. Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de trólox (TE) por gramo de muestra (mg TE/ g), partiendo de una recta de calibrado con este compuesto y del porcentaje de inhibición, calcula como:

$$\text{Inhibición (\%)} = \frac{\text{Absorbancia blanco} - \text{Absorbancia muestra}}{\text{Absorbancia blanco}} \times 100 \quad (7)$$

- Capacidad antioxidante por el método ABTS

El método ABTS se basa en la decoloración del catión ABTS^+ que reacciona con los compuestos antioxidantes de la muestra, transformándose de un color azul a incoloro. Para determinar las propiedades antioxidantes se usó el método propuesto por Re et al. (1999).

Primeramente, se prepara la disolución ABTS a partir de 0,0331 g de peróxido de potasio, 0,192 g del radical ABTS y 50 mL de agua bidestilada. Esta disolución se dejó incubar durante 16 horas en oscuridad para liberar el radical. Pasado ese tiempo se mezcló la disolución ABTS con la cantidad

de tampón fosfato necesario para conseguir una absorbancia de $0,7 \pm 0,02$ a 734 nm. A continuación, se mezclaron 2,3 mL de la disolución obtenida con 0,1 mL de extracto, y se dejaron reaccionar durante 7 min. Transcurrido ese tiempo se midió la absorbancia de la muestra en un espectrofotómetro (Thermo Scientific, Helio Zeta U/Vis) a 734 nm.

Los datos obtenidos fueron comparados con una recta patrón de trólox ($C_{14}H_{18}O_4$, pureza $\geq 97\%$) preparada para el intervalo de concentración entre 0 y 200 mg/L. Las absorbancias se expresaron como miligramos equivalentes de trólox (TE) por gramo de muestra (mg TE/ g), partiendo de una recta de calibrado con este compuesto y del porcentaje de inhibición.

3.3 Digestión gastrointestinal *in vitro* y fermentación colónica

Para llevar a cabo la simulación de las etapas oral, gástrica e intestinal, se utilizó el método estandarizado de digestión estática según INFOGEST (Brodkorb et al., 2019; Minekus et al., 2014). El protocolo exige mantener una relación 1:1 (v/v) entre las fases que se mezclan en las etapas consecutivas. Inicialmente se añadieron 5 g de la muestra, 5 mL de la fase oral, 10 mL de la fase gástrica y 20 mL de la fase intestinal. La simulación se llevó a cabo en agitación dentro de una cámara termostataada a 37 °C. Posteriormente se realizó la fermentación colónica con los inóculos obtenidos a partir de muestras de heces de 4 mujeres postmenopáusicas.

Para la simulación de las diferentes etapas se preparó un stock de sales que se combinaron en las cantidades indicadas en la *Tabla 1* para la preparación de la fase oral (SSF), la fase gástrica (SGF) y la fase intestinal (SIF). Las SSF, SGF y SIF se mezclaron con la muestra inicial o los digeridos procedentes de las etapas anteriores y con los correspondientes enzimas digestivos en las cantidades y condiciones indicadas en el diagrama de flujo de la *Figura 2*.

Tabla 1. Contenido de las diferentes sales en las fases que se utilizaron para la simulación de las etapas oral (SSF), gástrica (SGF) e intestinal (SIF).

	Concentración sales (g/L)	SSF (mL/L)	SGF (mL/L)	SIF (mL/L)
KCl (0,5M)	37,3	30,2	13,8	13,6
KH₂PO₄ (0,5M)	68	7,4	1,8	1,6
NaHCO₃ (1M)	84	13,6	25	85
NaCl (2M)	117	-	23,6	19,2
MgCl₂(H₂O)₆ (0,15M)	30,5	1	0,8	2,2
(NH₄)₂CO₃ (0,5M)	48	0,12	1	-
CaCl₂(H₂O)₂ (0,3M)	44,1	0,05	0,01	0,08

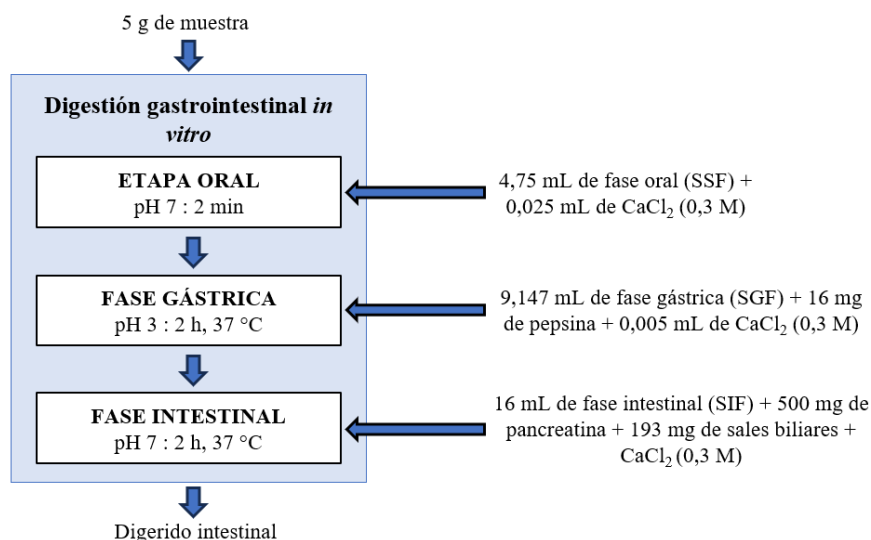


Figura 2: Diagrama de flujo del protocolo de la digestión gastrointestinal *in vitro*.

Las muestras se centrifugaron a 10.000 rpm durante 10 min para separar el sobrenadante del precipitado, que representan respectivamente la fase líquida potencialmente absorbible en el intestino delgado y la fase sólida sin digerir que llega al colon. Se almacenaron congelados a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ para realizar las determinaciones necesarias posteriormente y continuar con la fermentación *in vitro*.

3.3.1. Fermentación colónica

▪ Preparación del inóculo

El inóculo se preparó a partir de muestras fecales pertenecientes a cuatro mujeres posmenopáusicas con una buena adherencia a la dieta mediterránea. Estas muestras fueron transportadas al laboratorio en un contenedor con un generador de gas. El inóculo se preparó al 20% o 30% (w/v) en tampón fosfato de sodio 0,1 M estéril a pH 7 que incluía 0,4 g/L de clorhidrato de cisteína, que actúa como agente reductor, y 15% de glicerol como agente crioprotector. Las preparaciones de los inóculos fueron centrifugadas a 2000 rpm durante 2 min a 4°C para eliminar los residuos sólidos.

Para conocer la concentración celular de los inóculos se cuantificó la densidad óptica a 600 nm de dos diluciones 1:50 y 1:100 de cada uno de ellos. Mediante una curva patrón ($\text{células/ml} = -78888,34 + 1112413,04 \text{ DO}_{600}$) se determinó el volumen necesario para inocular del orden de 10^{10} células/mL.

▪ Fermentación colónica *in vitro*

La fermentación colónica se realizó con el medio basal (Tabla 2), sustrato digerido (fase sólida) que se añade al 5% (w/v) e inóculo al 20% (v/v) correspondiendo a una concentración celular del orden de 10^{10} células/mL. Además, se añade un 10% (v/v) del sobrenadante correspondiente al 5% del sustrato digerido añadido, representando la fracción potencialmente absorbible que llega al colon.

También se preparó una fermentación control sin sustrato para cada inóculo ya que las propias heces pueden aportar nutrientes a las bacterias.

Tabla 2: Composición del medio basal de cultivo.

	g/L
Peptonated water	2
Yeast extract	2
NaCl	0,1
K₂HPO₄	0,04
KH₂PO₄	0,04
MgSO₄·7H₂O	0,01
CaCl₂·2H₂O	0,01
NaHCO₃	2
Cysteine HCl	0,5
Bile salts	0,5
Tween 80	0,2 (mL/L)
Phylloquinone	10 (µL/L)
Haemin	50

Los tubos fueron incubados en una jarra de anaerobios a 37°C durante 24 horas a 150 rpm. A continuación, se tomaron alícuotas de 2 mL que se criopreservaron con glicerol al 80%. También se guardaron 4 mL de muestra para realizar las determinaciones analíticas posteriores. Los 2 mL restantes se conservaron a -80°C para la posterior extracción y cuantificación del DNA.

3.4. Extracción y cuantificación del DNA

Se procesaron las fermentaciones colónicas para eliminar los residuos sólidos y poder extraer el DNA en el extractor automático Maxwell RSC48 (Promega) siguiendo el método descrito por Loeffler et al. (2002).

Se introdujeron 500 µL de muestra en tubos Eppendorfs y se centrifugaron a 13.000 rpm durante 5 min a 4 °C, descartando el sobrenadante. Para romper la pared celular de las bacterias, se resuspendió el pellet en 207 µL de buffer de lisis del kit del extractor y 10 µL de lisozima (10 mg/mL), se homogenizó y se incubó a 37 °C durante 30 min. A continuación, se añadió 1,2 mL de proteinasa K del kit del extractor y se incubó la muestra a 70 °C durante 10 min. Transcurrido ese tiempo, se inactivó los enzimas incrementando la temperatura a 95 °C durante 5 min. Tras la lisis externa se llevó a cabo la extracción del DNA en el extractor automático.

Para la cuantificación del DNA se utilizó el fluorómetro Qubit 4 Fluorometer, Thermo Fisher Scientific y el kit de reactivos (Qubit™ dsDNA HS Assay). Se preparó un mix con 199 µL de buffer y 1 µL de fluoróforo. A partir del mix, se preparó una disolución con 198 µL del mix y 2 µL de la muestra de DNA extraído. La lectura obtenida de la concentración de DNA se expresó en µg/µL.

3.5. Preparación de librerías de secuenciación

Para determinar la composición de la comunidad bacteriana que ha crecido en las diferentes fermentaciones colónicas, se amplifica y secuencia el gen del RNA ribosomal 16S que es el marcador filogenético por excelencia. Este gen tiene 1500 pb y contiene nueve regiones variables intercaladas entre regiones conservadas, las cuales van a ser utilizadas para clasificar las poblaciones microbianas.

El protocolo utilizado (Illumina: 16S metagenomics sequencing library preparation, 2019) permite preparar las muestras para secuenciar las regiones variables V3 y V4 del gen, formadas por 450 pb.

A partir de primers específicos de la región V3-V4 y adaptadores se llevó a cabo la amplificación por PCR siguiendo el diagrama de la *Figura 3*.

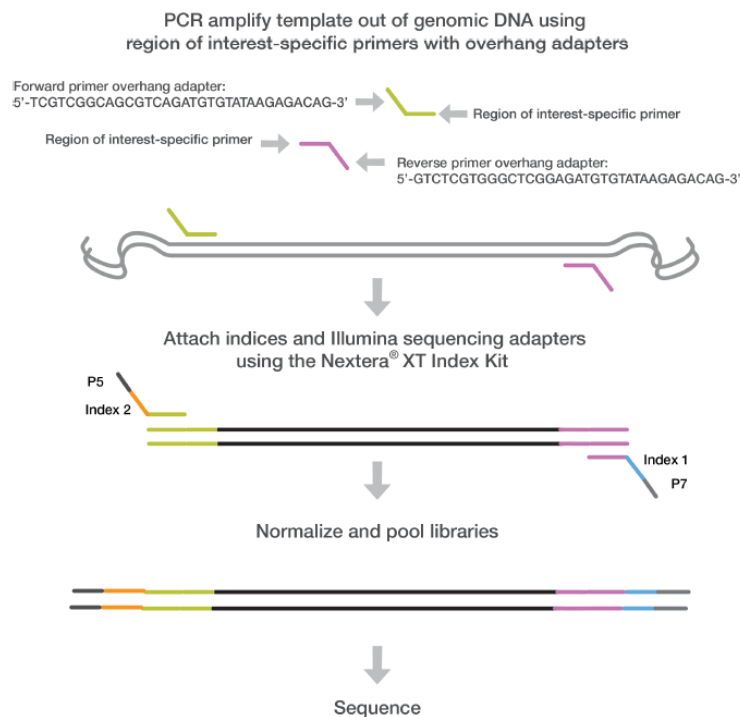


Figura 3: Esquema de la amplificación por PCR de un fragmento del gen ribosomal 16S rRNA. (Illumina: 16S metagenomics sequencing library preparation, 2019)

Tras realizar la PCR de la región V3-V4, se añadió, mediante otra PCR, un par específico y único de índices complementarios a los adaptadores utilizados previamente. Estos índices, compuestos por 10 pb, permiten identificar a qué muestra pertenecen las secuencias resultantes ya que se secuencian todas las muestras simultáneamente. Estos fragmentos contienen en sus extremos una región P7 o P5 que permiten la secuenciación a partir de ambos extremos. Después de cada una de las PCRs se llevó a cabo un lavado. Tanto los adaptadores como los índices proceden del kit de preparación de librerías Nextera XT. A continuación, se procedió a la cuantificación y normalización de las librerías mediante el uso de un fluorómetro tal como se explicó previamente.

Se preparó un pool con todas las muestras y se llevó a cabo una secuenciación con el secuenciador NextSeq2000 y el kit P1 (600c) de Illumina que genera lecturas de 300 pb. Al iniciar desde ambos extremos del amplicón, se produce el solapamiento de las secuencias durante su procesado, lo que permite obtener la secuencia completa del amplicón (450 pb).

3.6. Análisis de secuencias

Aplicando el paquete de software DADA2 V.1.8.3, el departamento de bioinformática del área de Genómica y Salud de FISABIO procesaron las secuencias brutas. Se encargaron de filtrar las lecturas por longitud y calidad, además de eliminar los primers. A continuación, se combinaron las lecturas para obtener las secuencias definitivas, a través de la fusión de las lecturas forward y reverse y deduciendo ASVs (variantes de secuencias de amplicón) (Callahan et al., 2016).

Estas secuencias fueron alineadas con el genoma humano (GRCh38.p13) empleando Bowtie2 (v2.3.5.1) y las coincidencias obtenidas fueron eliminadas. Comparando con la base de datos SILVA (v.138) y mediante el algoritmo BLAST, se realizó la clasificación taxonómica de las secuencias del gen del rRNA 16S.

Para comparar la composición de las comunidades bacterianas crecidas en las distintas fermentaciones se realizó un Análisis de Correspondencia Canónica (Canonical Correspondence Analysis, CCA) empleando el paquete informático R y teniendo en cuenta en el análisis de permanova (test de Adonis) la variabilidad interindividual existente en la composición de la microbiota. Se aplicó el paquete “Analysis of compositions of microbiomes with bias correction” (ANCOMBC2) para identificar taxones diferencialmente abundante entre las fermentaciones de los distintos sustratos y la fermentación control.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Propiedades del polvo de caqui

En la *Tabla 3* se muestran los resultados correspondientes a las propiedades fisicoquímicas, de interacción con el agua y con el aceite del polvo de caqui. Como podemos observar el polvo de caqui presenta una elevada estabilidad microbiológica ya que la actividad de agua es inferior a 0,3 y su humedad menor al 5%. Presenta un elevado contenido en sólidos solubles, que son sobre todo azúcares presentes en la pulpa.

Tabla 3. Propiedades fisicoquímicas, de interacción con el agua y con el aceite del polvo de caqui. Media \pm desviación estándar de las medidas realizadas en tres muestras diferentes. Propiedades ópticas: Coordenadas de color (L*: Luminosidad, a*: componente rojo-verde, b*: componente amarillo-azul, C*: Cromo, y h*: Ángulo del tono). Distribución del tamaño de partícula: D [4,3] y D [3,2], que son el diámetro medio volumétrico y el diámetro medio superficial, respectivamente; así como los percentiles d₁₀, d₅₀ y d₉₀. Letras distintas en una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas con un intervalo de confianza del 95%.

X _{ss} (g ss/g)		a _w		X _w (g agua/g)	
0,72 \pm 0,03		0,218 \pm 0,003		0,011 \pm 0,003	
<i>Propiedades ópticas</i>					
L*	a*	b*	C*	h*	
58,4 \pm 0,9	12,4 \pm 0,6	27,8 \pm 0,6	30,4 \pm 0,8	65,8 \pm 0,6	
<i>Distribución del tamaño de partícula</i>					
	D [4, 3]	D [3, 2]	d ₁₀	d ₅₀	d ₉₀
Vía seca	496 \pm 14 ^a	102 \pm 3 ^a	48 \pm 2 ^a	392 \pm 16 ^a	1115 \pm 27 ^a
Vía húmeda	423 \pm 42 ^a	82 \pm 6 ^a	42 \pm 3 ^a	312 \pm 40 ^a	984 \pm 89 ^a
<i>Propiedades de interacción con el agua</i>					
Solubilidad	Higroscopicidad	Capacidad de hinchamiento	Capacidad de atrapar agua	Capacidad de retener agua	
67,5 \pm 1,5	0,483 \pm 0,011	0,483 \pm 0,010	1,87 \pm 0,05	19,4 \pm 0,4	
<i>Propiedades de interacción con el aceite</i>					
Capacidad de retener aceite	Actividad emulsionante		Estabilidad emulsionante		
1,517 \pm 0,001 ^d	-		-		

Los parámetros de color son los típicos de un producto rojizo-pardo en el que algunos de los compuestos han sufrido procesos de oxidación.

El tamaño de las partículas del polvo puede influir en algunas propiedades de interacción con el agua o aceite. En términos generales, la disminución del tamaño de partícula está directamente relacionado con un aumento de las propiedades de hidratación (hinchamiento, capacidad de retención del agua...) debido fundamentalmente al aumento del área superficie y al volumen de poros (Raghavendra et al., 2006). Se determinó la distribución del tamaño de partícula tanto por vía húmeda como por vía seca. El análisis estadístico no reveló diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los

parámetros característicos de la distribución obtenidos por vía seca o por vía húmeda, si bien los parámetros obtenidos por vía húmeda presentaron valores ligeramente menores debido a la disolución de la mayor parte de los sólidos solubles.

Las propiedades de interacción con el agua están condicionadas en gran medida por el elevado contenido en sólidos solubles, fundamentalmente azúcares simples que confieren al producto una elevada solubilidad y capacidad de retención de agua. Este hecho es el responsable de que, a los pocos días de haber sido obtenido, el polvo se vuelve un poco pegajoso y se apelmaza. En relación con las propiedades de interacción con el aceite, el polvo presentó una ligera capacidad de retener aceite, pero no presentó actividad ni estabilidad emulsionante.

4.2. Efecto de la matriz alimentaria y la digestión gastrointestinal *in vitro* sobre las propiedades antioxidantes.

La capacidad antioxidante de un alimento viene determinada en gran medida por la presencia de moléculas con capacidad antirradical. Se trata de moléculas capaces de reaccionar con los radicales libres impidiendo de esta forma el daño que estos pueden ocasionar al reaccionar con otras moléculas que desempeñan funciones biológicas importantes en el organismo humano. Los compuestos fenólicos y dentro de ellos los flavonoides y otros compuestos bioactivos como los carotenoides, la vitamina C y la vitamina E son los principales compuestos con capacidad antirradical presentes frutas como el caqui. Tanto las frutas como los aceites derivados de ellos o de semillas son alimentos con elevado poder antioxidante (Halliwell, 1995).

Para que los compuestos con capacidad antirradical presentes en los alimentos puedan ejercer su acción a nivel fisiológico deben ser liberados durante el proceso de digestión, llegar al intestino delgado y ser absorbidos, pasando a ser bioaccesibles. De esta forma serán transferidos al torrente sanguíneo que los distribuirá por los diferentes órganos y tejidos donde podrán ejercer su acción, siendo entonces biodisponibles. Adicionalmente, aquellos compuestos que no sean absorbidos a nivel intestinal pasarán al colon donde podrán ser utilizados y metabolizados por la microbiota intestinal determinando su diversidad y efecto sobre la salud (Seiquer et al., 2015).

Sin embargo, los cambios de pH y la acción enzimática asociados al proceso de digestión gastrointestinal junto con la presencia de otras macromoléculas presentes en los alimentos pueden inducir cambios físicos y químicos en las moléculas antioxidantes que afecten su capacidad antirradical y su bioaccesibilidad. Las moléculas de cadena larga pueden romperse liberando moléculas más pequeñas que dejen grupos funcionales reactivos disponibles; pueden establecerse interacciones entre macromoléculas más complejas y los compuestos bioactivos; o estos pueden sufrir reacciones químicas que los transformen en otras moléculas con menor capacidad antirradical. En cualquier caso, resulta necesario evaluar tanto el efecto de la matriz estructural en la que se encuentran los compuestos bioactivos como el efecto de la digestión gastrointestinal *in vitro* sobre la capacidad antirradical de los alimentos (Koziolek et al., 2019).

En la *Figura 4* se muestra el contenido en fenoles totales y flavonoides y la capacidad antirradical determinada por los métodos DPPH y ABTS del polvo de caqui, el aceite de oliva, el aceite de girasol y las mezclas preparadas con el polvo de caqui y uno de los dos aceites. Además, se ha determinado cómo han cambiado estas propiedades tras las etapas gástrica e intestinal. Con la finalidad de poder determinar la bioaccesibilidad a nivel intestinal y tener una idea de la capacidad antirradical que será transferida al colon, se han hecho las determinaciones tanto en la fase líquida como en la fase sólida resultantes de la digestión en cada una de las etapas.

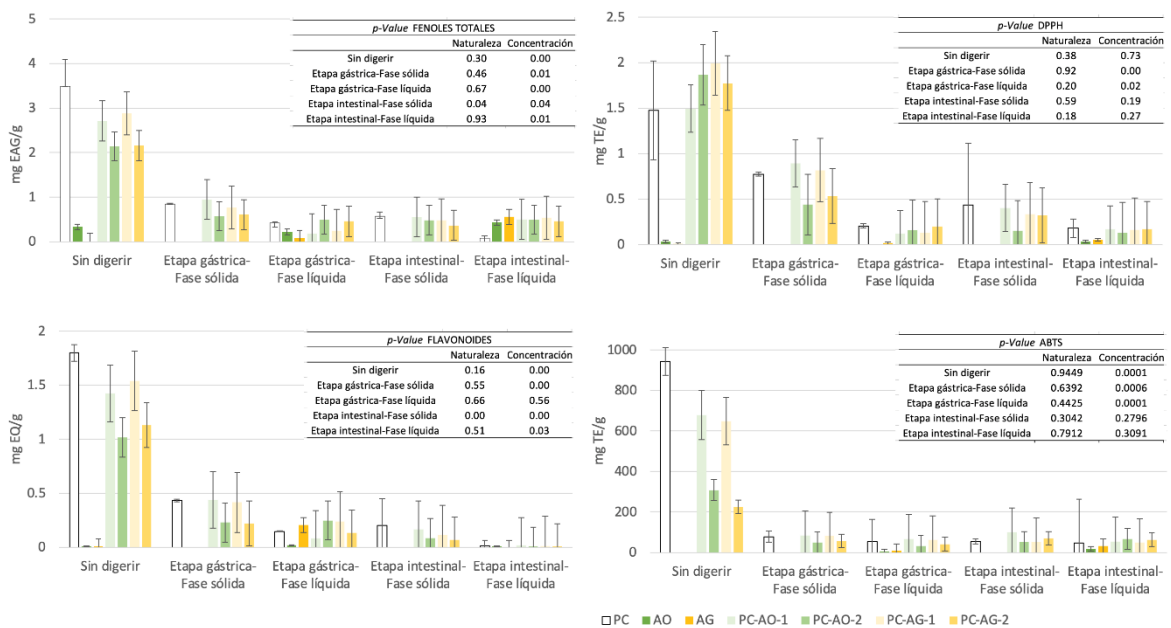


Figura 4: Contenido en fenoles totales y flavonoides y capacidad antirradical determinada por los métodos DPPH y ABTS del polvo de caqui, el aceite de oliva, el aceite de girasol y las mezclas preparadas con el polvo de caqui y uno de los dos aceites, antes de la digestión y en las fases sólida y líquida resultantes tras las etapas gástrica e intestinal, expresados en mg de ácido gálico equivalente (GAE), mg de quercetina equivalente (QE), y mg de trólox equivalente (TE) por gramo de muestra, respectivamente. PC: Polvo de caqui. AO: Aceite de oliva. AG: Aceite de girasol. PC-AO-1: Mezcla de 2,7 g de polvo de caqui/ g de aceite de oliva. PC-AO-2: Mezcla de 1,3 g de polvo de caqui/ g de aceite de oliva. PC-AG-1: Mezcla de 2,7 g de polvo de caqui/ g de aceite de girasol. PC-AG-2: Mezcla de 1,3 g de polvo de caqui/ g de aceite de girasol. Las barras representan los valores medios y las líneas situadas sobre ellas representan la desviación estándar. Se incluye el *p-value* asociado al efecto de los factores “naturaleza de la muestra” y “concentración” de polvo de caqui en las mezclas, resultante de un ANOVA múltiple.

Puede observarse que tanto el contenido en fenoles totales y flavonoides como la capacidad antirradical en el aceite de oliva y el aceite de girasol sin digerir, son significativamente menores que en el polvo de caqui y en las mezclas de este con los aceites. Solo la capacidad antirradical determinada por el método del DPPH resulta superior en las mezclas que en el polvo de caqui. En el caso de los dos aceites, las determinaciones proporcionaron valores superiores para el aceite de oliva.

Según Borges et al., (2015), el aceite de oliva virgen extra contiene, en promedio, entre 0,4 y 0,5 mg/g de compuestos fenólicos, entre los cuales destacan el tirosol, el hidroxitirosol, la oleuropeína, el oleocantal y varios flavonoides. Aunque muchos de ellos son compuestos polifenólicos, una parte importante son (mono)fenoles con poca o nula actividad antioxidante (Vissers et al., 2004). La composición y concentración de estos compuestos dependen de diversos factores, sin embargo, el aspecto determinante es la variedad de aceituna, que genera distintos perfiles fenólicos del aceite de oliva (Quintero-Flórez et al., 2017).

En cuanto al aceite de girasol, el contenido fenólico total se encuentra alrededor de 10 mg/kg y varía con la ubicación de la semilla en la cabeza del girasol, la temperatura de almacenamiento y la variedad de la planta de girasol (Lužaić et al., 2023; Zhang et al., 2022).

Según Bas-Bellver et al. (2020), el polvo de caqui secado con aire caliente presenta un contenido fenólico total de 3,3 mg EAG/g aproximadamente, que es muy similar al obtenido en este trabajo. Sin embargo, la cantidad de antioxidantes que son bioaccesibles varía con el proceso de digestión, ya que solo los compuestos liberados de la matriz alimentaria por la acción de enzimas digestivas y la comunidad bacteriana son bioaccesibles en el intestino delgado (Palafox-Carlos et al., 2011).

Conviene tener en cuenta que, aunque los aceites tengan una cantidad significativa de compuestos polifenólicos y vitaminas, están compuestos principalmente por ácidos grasos saturados (17% en el aceite de oliva), monoinsaturados (71% en el aceite de oliva) y poliinsaturados (11% en el aceite de oliva) cuya naturaleza lipofílica dificulta las determinaciones por los métodos empleados. Además, se trata de métodos bastante inespecíficos, principalmente los métodos de ABTS y DPPH. Estos métodos presentan diversas limitaciones debido a que la extinción de radicales no es una reacción única, sino que abarca múltiples mecanismos como la transferencia de átomos de hidrógeno, la transferencia de electrones y la quelación de metales, entre otros, por lo que estos ensayos no son muy precisos (Tian & Schaich, 2013).

El proceso de digestión es esencial para liberar grandes cantidades de compuestos fenólicos y antioxidantes de los alimentos, ya que durante este proceso los compuestos podrían transformarse en diferentes formas estructurales con diferentes propiedades químicas, principalmente en la fase intestinal donde las condiciones son alcalinas. Los mecanismos de hidrólisis y de conjugación sobre los componentes pueden aumentar su reactividad afectando a la racemización de las moléculas, creando enantiómeros con diferente reactividad biológica (Soler et al., 2010; Wootton-Beard et al., 2011).

Determinar la bioaccesibilidad es crucial ya que nos informa sobre la cantidad de compuestos bioactivos que se encuentran disponibles para ser absorbidos a nivel intestinal. Por cuanto que la absorción se llevará a cabo a nivel de la pared intestinal es necesario que estos compuestos estén presentes en la fase líquida. Teniendo en cuenta esto, se calculó la bioaccesibilidad de los fenoles totales, flavonoides y capacidad antirradical como el cociente entre la cantidad de componente en la fase líquida tras la digestión intestinal y la cantidad de componente bioactivo presente en el alimento sin digerir. Los resultados finales se han expresado en porcentaje y se han representado en la *Figura 5*.

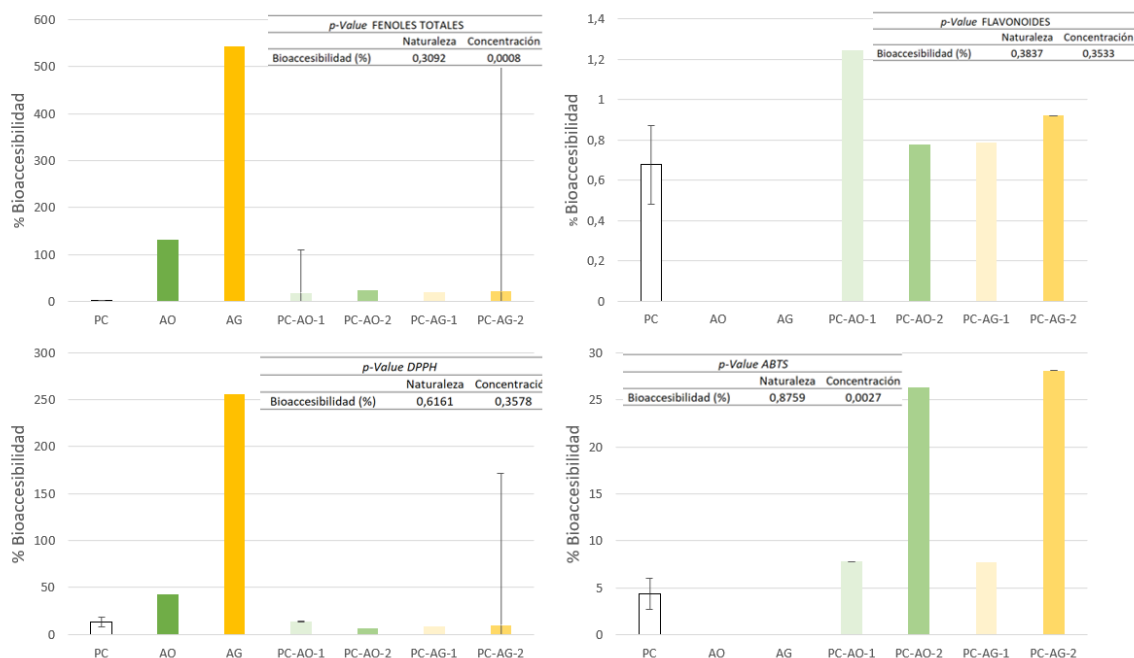


Figura 5: Porcentaje de bioaccesibilidad de los fenoles, flavonoides, y de la capacidad antirradical en el polvo de caqui, el aceite de oliva, el aceite de girasol y las diferentes mezclas. PC: Polvo de caqui. AO: Aceite de oliva. AG: Aceite de girasol. PC-AO-1: Mezcla de 2,7 g de polvo de caqui/ g de aceite de oliva. PC-AO-2: Mezcla de 1,3 g de polvo de caqui/ g de aceite de oliva. PC-AG-1: Mezcla de 2,7 g de polvo de caqui/ g de aceite de girasol. PC-AG-2: Mezcla de 1,3 g de polvo de caqui/ g de aceite de girasol. Las barras representan los valores medios y las líneas situadas sobre ellas representan la desviación estándar. Se incluye

el *p-value* asociado al efecto de los factores “naturaleza de la muestra” y “concentración” de polvo de caqui en las mezclas, resultante de un ANOVA múltiple.

Al comparar la bioaccesibilidad de los componentes bioactivos del polvo de caqui con la de los componentes de las mezclas, se puede observar que mejora para el caso del contenido en fenoles totales y para la capacidad antirradical determinada por el método del radical ABTS. Este aumento en la fracción bioaccesible puede ser debido a una mayor liberación de los compuestos bioactivos presentes en la estructura vegetal del caqui en un medio lipofílico como el aceite de oliva y el aceite de girasol (Deiana et al., 2018). Se puede apreciar que las mezclas con más concentración de aceite, PC-AO-2 y PC-AG-2, presentan una mejor bioaccesibilidad, sin embargo, en el caso de los fenoles, los valores son bastante más bajos que los obtenidos para el aceite de oliva y el aceite de girasol. Esto podría estar asociado a las interacciones entre los polifenoles del aceite y los componentes del polvo de caqui, principalmente el hidroxitirosol que presenta una mayor recuperación durante el proceso digestivo, según expone García-González et al. (2010).

En relación con la bioaccesibilidad de los flavonoides y la capacidad antirradical determinada por el método del DPPH, se obtienen valores similares en las mezclas y en el polvo de caqui. Cabe destacar que, a pesar de que la bioaccesibilidad de la capacidad antirradical determinada por el método del DPPH en los dos aceites es muy alta, esta capacidad deja de ser bioaccesible en las mezclas. Posiblemente, la interacción de las macromoléculas que constituyen la fibra insoluble del caqui (18 g/ 100 g) con los compuestos bioactivos de los aceites estaría limitando en gran medida la bioaccesibilidad de estos (Bas-Bellver et al., 2020).

4.3. Efecto de fermentación colónica sobre las propiedades antioxidantes.

La fase sólida obtenida tras la etapa intestinal de la digestión gastrointestinal *in vitro* del polvo de caqui, de los aceites y de las diferentes mezclas no se considera en el cálculo de la bioaccesibilidad. Sin embargo, como se puede observar en la figura 4 esta fase puede retener compuestos bioactivos en una proporción incluso mayor a la de la fase líquida. Además, parte de la fase líquida puede quedar retenida en la fase sólida. Los compuestos retenidos en esta fase no estarán disponibles para su absorción en el intestino delgado y pasarán al colon. Ya en el colon, estos compuestos pueden ejercer efectos beneficiosos al interactuar con la microbiota y las células de la mucosa (Martin & Bolling, 2015). La mayoría de estos compuestos podrán ser utilizados por los microorganismos intestinales como sustratos o para producir otros de bajo peso molecular (Cardona et al., 2013). Saura-Calixto et al. (2007) estudiaron la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos de una dieta completa diaria y demostraron que aproximadamente un 10% de estos compuestos estaban asociados con los residuos y permanecieron en las matrices alimentarias después de la digestión gastrointestinal.

Las fermentaciones colónicas se llevaron a cabo utilizando como inóculo la microbiota fecal de 4 mujeres postmenopáusicas y se utilizó como sustrato la fase sólida obtenida tras la etapa intestinal de la digestión gastrointestinal *in vitro* de cada uno de ellos.

En paralelo a las fermentaciones se realizó un control para cada uno de los 4 inóculos que consistía en el medio de fermentación más inóculo y sin sustrato. Este control era necesario ya que las heces por si solas proporcionan nutrientes a la microbiota.

Con la finalidad de poder evaluar exactamente el efecto del sustrato sobre las propiedades antioxidantes tras el proceso de fermentación colónica, a los resultados de las determinaciones de fenoles totales, flavonoides y capacidad antirradical se les restó el obtenido en los controles. Los resultados obtenidos para el caso del polvo de caqui se muestran en la *Figura 6*. En la figura se puede observar una variabilidad significativa entre los individuos, y se aprecia que el individuo 3 tiene una microbiota con mayor capacidad de liberación de compuestos bioactivos en comparación con el resto de los individuos. Además, se destaca una alta capacidad antirradical con el método de ABTS en todos los individuos.

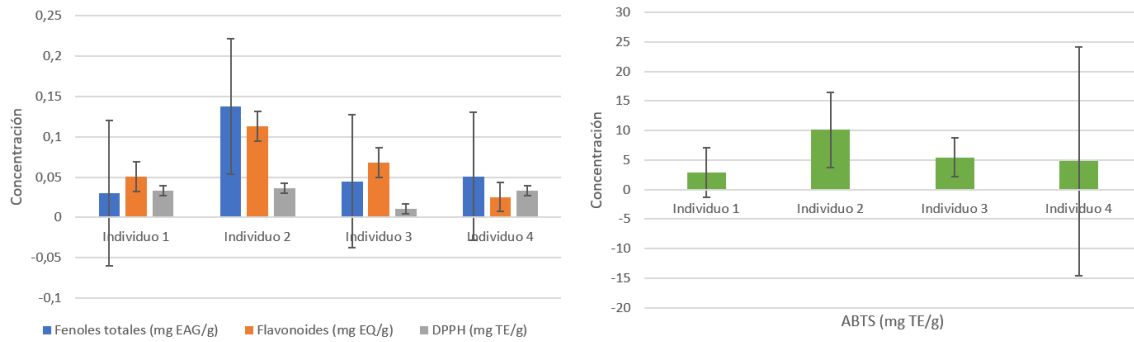


Figura 6: Contenido en fenoles totales y flavonoides y capacidad antirradical determinada por los métodos DPPH y ABTS tras la etapa de fermentación colónica para el polvo de caqui, expresados en mg de ácido gálico equivalente (GAE), mg de quercetina equivalente (QE), y mg de trólox equivalente (TE) por gramo de muestra, respectivamente. Las barras representan los valores medios y las líneas situadas sobre ellas representan la desviación estándar.

En la **Figura 7** se ha representado el cociente de los valores obtenidos entre los obtenidos para el caso del polvo de caqui.

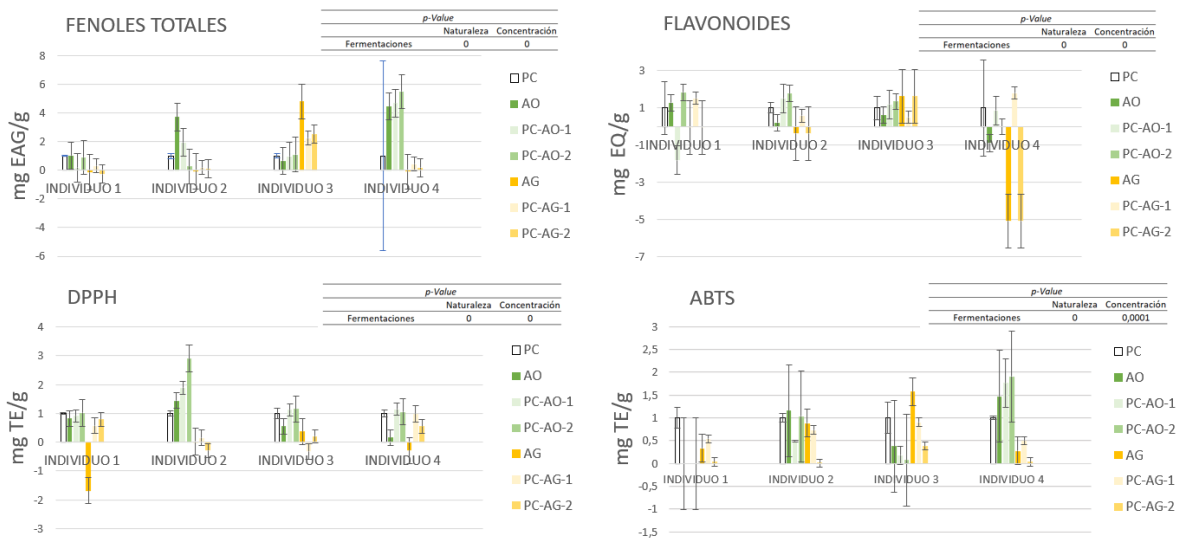


Figura 7: Contenido en fenoles totales, flavonoides totales y capacidad antirradical determinada por los métodos DPPH y ABTS tras la etapa de fermentación colónica, expresados en mg de ácido gálico equivalente (GAE), mg de quercetina equivalente (QE), y mg de trólox equivalente (TE) por gramo de muestra, respectivamente. PC: Polvo de caqui. AO: Aceite de oliva. AG: Aceite de girasol. PC-AO-1: Mezcla de 2,7 g de polvo de caqui/ g de aceite de oliva. PC-AO-2: Mezcla de 1,3 g de polvo de caqui/ g de aceite de oliva. PC-AG-1: Mezcla de 2,7 g de polvo de caqui/ g de aceite de girasol. PC-AG-2: Mezcla de 1,3 g de polvo de caqui/ g de aceite de girasol. Las barras representan los valores medios y las líneas situadas sobre ellas representan la desviación estándar. Se incluye el *p-value* asociado al efecto de los factores “naturaleza de la muestra” y “concentración” de polvo de caqui en las mezclas, resultante de un ANOVA múltiple.

Puede observarse que existe una gran variabilidad dependiendo del inóculo utilizado. El efecto de cada uno de los sustratos depende en gran medida del individuo considerado.

Se puede apreciar que la microbiota del individuo 3 genera una mayor cantidad de compuestos bioactivos a partir de las mezclas con aceite de girasol o el aceite solo, siendo superiores a los producidos por el polvo de caqui. Sin embargo, los individuos 2 y 4 presentan una microbiota que fomenta en mayor medida la generación de compuestos a partir de las mezclas con el aceite de oliva o del aceite solo.

No se puede determinar qué tipo de aceite promueve una mayor producción de compuestos bioactivos, ya que la influencia de la microbiota individual es muy importante. Sin embargo, podemos decir que las mezclas del polvo de caqui con el aceite estimulan más la liberación de compuestos con capacidad antirradical que el polvo de caqui.

4.4. Análisis de la composición de la microbiota fermentativa

Tras la fermentación colónica se tomó una alícuota para realizar un análisis metataxonómico de la comunidad bacteriana que había crecido sobre cada sustrato.

En la *Figura 8* se representa el análisis canónico de correspondencias (CCA) de la microbiota fermentativa de las muestras del polvo de caqui y de las mezclas con aceite de oliva y con aceite de girasol digeridas. Además, está representado el control de la microbiota.

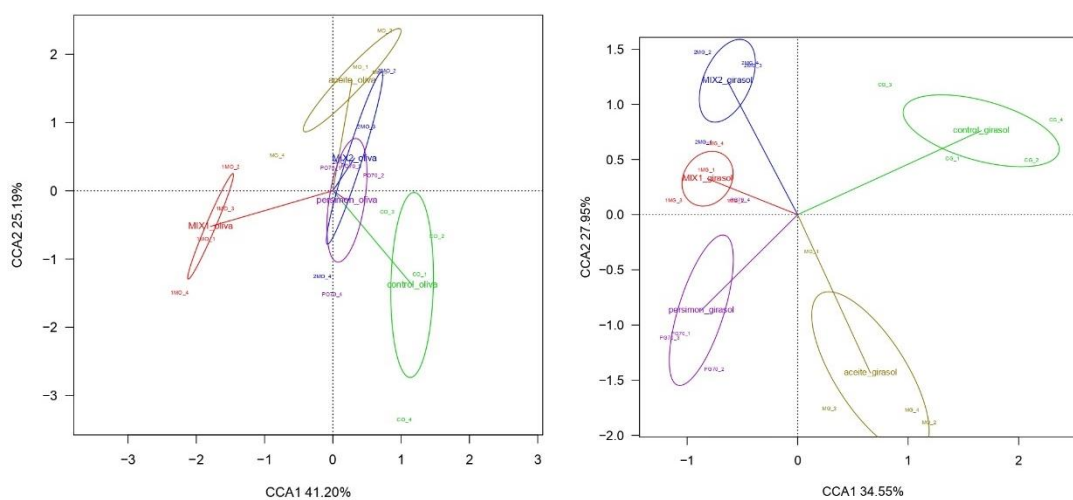


Figura 8: Análisis canónico de correspondencias (CCA) según abundancia y tipo de microorganismos de las microbiotas fermentativas de las muestras digeridas y fermentadas. Control_oliva (CO): Inóculo control de las muestras de aceite de oliva. Persimon_oliva (PO70): Polvo de caqui. MIX1_oliva (1MO): Mezcla de 2,7 g de polvo de caqui/ g de aceite de oliva. MIX2_oliva (2MO): Mezcla de 1,3 g de polvo de caqui/ g de aceite de oliva. Aceite_oliva (MO): Aceite de oliva. Control_girasol (CG): Inóculo control de las muestras de aceite de girasol. Persimon_girasol (PG70): Polvo de caqui. MIX1_girasol (1MG): Mezcla de 2,7 g de polvo de caqui/ g de aceite de girasol. MIX2_girasol (2MG): Mezcla de 1,3 g de polvo de caqui/ g de aceite de girasol. Aceite_girasol (MG): Aceite de girasol. Los números (1, 2, 3 o 4) de cada muestra indican el inóculo utilizado.

El Análisis Canónico de Correspondencias (Canonical Correspondence Analysis, CCA) de la microbiota de las fermentaciones del aceite de oliva mostró, que el eje principal, que explica un 41.20% de la variabilidad observada en la composición de la microbiota, separa la microbiota que crece sobre la PC-AO-1 del resto de fermentaciones, indicando una composición específica de la microbiota fermentativa de esta fermentación.

El CCA del grupo de fermentaciones del aceite de girasol muestra que el eje secundario separa la microbiota crecida sobre el caqui y la crecida sobre las mezclas. Además, se observa que la comunidad bacteriana que crece sobre las mezclas de aceite de girasol y caqui es similar en cuanto abundancia y composición.

Para calcular el test de Adonis (permanova) de las fermentaciones del grupo del aceite de oliva y las del aceite de girasol se ha tenido en cuenta la variabilidad introducida por el individuo, rindiendo un p-valor = 0.00444 y p-valor = 0.00222, respectivamente. Este resultado sugiere que cada sustrato ejerce un efecto diferencial sobre la composición de la microbiota.

Para estudiar qué bacterias crecían preferentemente en las fermentaciones de los distintos sustratos se realizaron comparaciones por pares con las fermentaciones controles utilizando el paquete ANCOMBC2 teniendo en cuenta al individuo como variable de confusión. En las Figuras 9 y 10 se representa aquellos taxones bacterianos que son más abundantes en las fermentaciones de cada sustrato que en las del control.

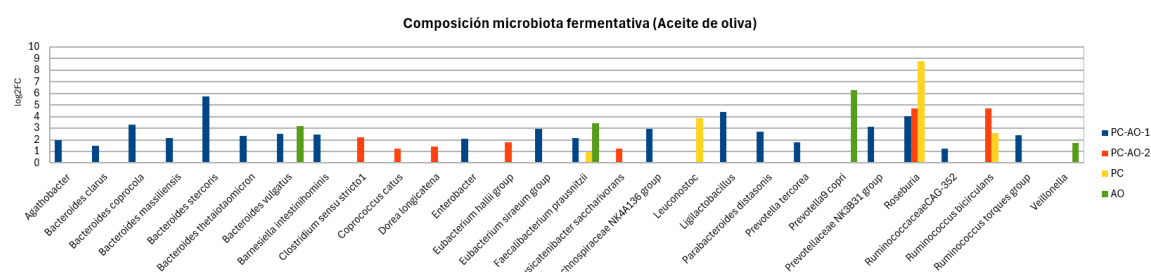


Figura 9: Composición de la microbiota fermentativa de las muestras con aceite de oliva. PC: Polvo de caqui. AO: Aceite de oliva. PC-AO-1: Mezcla de 2,7 g de polvo de caqui/ g de aceite de oliva. PC-AO-2: Mezcla de 1,3 g de polvo de caqui/ g de aceite de oliva.

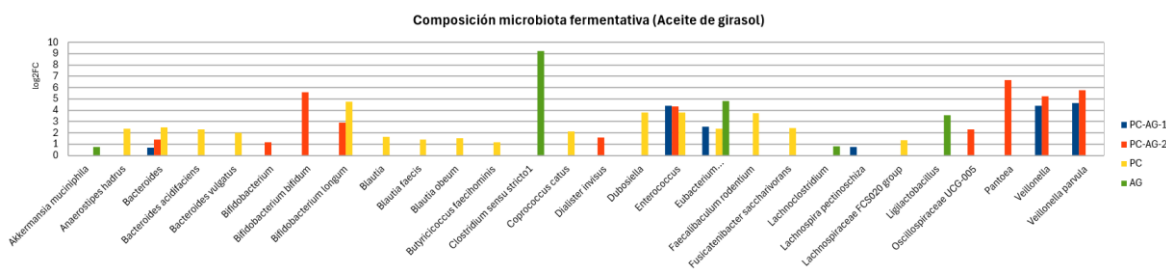


Figura 10: Composición de la microbiota fermentativa de las muestras con aceite de girasol. PC: Polvo de caqui. AG: Aceite de girasol. PC-AG-1: Mezcla de 2,7 g de polvo de caqui/ g de aceite de girasol. PC-AG-2: Mezcla de 1,3 g de polvo de caqui/ g de aceite de girasol.

En la Figura 9 (grupo de fermentaciones de aceite de oliva) se observa que la PC-AO-1 da lugar a un mayor número de taxones bacterianos que tienen un mayor crecimiento respecto a los controles. Además, la PC-AO-1 promueve el crecimiento de bacterias descritas como capaces de producir ácidos grasos de cadena corta, metabolitos bacterianos con efectos antiinflamatorios y antioxidantes, como *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia* o *Agathobacter*.

En la Figura 10 (grupo de fermentaciones de aceite de girasol) se observa que son el caqui, seguido por la PC-AG-2, los sustratos que favorecían el crecimiento de un mayor número de géneros bacterianos diferenciales respecto al control. Ambos sustratos presentan una abundancia relativa mayor de bacterias pertenecientes al género *Bifidobacterium*, descrito como beneficioso para la salud. Por otra parte, el aceite de girasol no promueve un gran número de taxones diferenciales respecto al control.

Faecalibacterium prausnitzii pertenece al *Firmicutes* de bajo contenido de G+C, grampositivo, no formador de esporas, estrictamente anaeróbico y no móvil. Se estima que *Faecalibacterium prausnitzii* representa alrededor del 5% del total de las bacterias detectables en muestras de heces de sujeto humanos adultos sanos (Ferreira-Halder et al., 2017).

Esta bacteria es uno de los principales productores de butirato que se encuentran en el intestino. Este compuesto tiene un papel crucial en la fisiología intestinal y en el bienestar del huésped, actuando como la principal fuente de energía para los colonocitos y ofreciendo propiedades protectoras contra

el cáncer colorrectal (CCR) y las enfermedades inflamatorias del intestino. El butirato reduce la inflamación de la mucosa intestinal al inhibir la activación del factor de transcripción NF- κ B, regular positivamente PPAR γ e inhibir el interferón gamma (Lopez-Siles et al., 2017).

Roseburia intestinalis es una bacteria flagelada anaeróbica, grampositiva, con forma de bastón ligeramente curvado que produce butirato en el colon. Se ha demostrado que *R. intestinalis* previene la inflamación intestinal y mantiene la homeostasis energética mediante la producción de metabolitos.

R. intestinalis desempeña su papel en la regulación de la homeostasis de la barrera intestinal, las células inmunes y la liberación de citocinas a través del butirato y otros compuestos. La enzima clave en la producción de butirato en bacterias productoras de este metabolito es la butiril-CoA:acetato-CoA transferasa, que se ha detectado en *R. intestinalis*, otorgándole la capacidad de utilizar acetato para producir butirato (Pryde et al., 2002).

Agathobacter es un género de bacterias anaerobias, móviles y grampositivas de la familia *Lachnospiraceae*, descrito por primera vez en 2016. Su nombre hace referencia a "bacterias beneficiosas". La especie tipo del género es *Agathobacter rectalis*, anteriormente conocida como *Eubacterium rectale*, y es una bacteria productora de butirato que se encuentra en el intestino humano. Esta bacteria es crucial para mantener la salud intestinal, ya que el butirato es una fuente de energía preferida para las células epiteliales intestinales y posee propiedades antiinflamatorias (Rosero et al., 2016).

El género *Bifidobacterium* se encuentra dentro del filo *Actinobacteria*. Se caracterizan por ser microorganismos Gram-positivos con un alto contenido de ADN G+C y son habitantes comensales del tracto gastrointestinal de mamíferos, aves y ciertos animales de sangre fría. Estos organismos son sacarolíticos y producen ácidos acético y láctico sin generación de CO₂, excepto durante la degradación del gluconato (Turróni et al., 2011). Experimentos realizados en modelos animales han demostrado que algunas cepas de *Bifidobacterium spp.* son capaces de reducir los niveles de enzimas responsables de la activación de ciertos procarcinógenos, disminuyendo así el riesgo de desarrollo de tumores (Gomes & Malcata, 1999).

5. CONCLUSIONES

En las muestras sin digerir el caqui (PC) libera una mayor concentración de compuestos bioactivos en comparación con los aceites y sus mezclas. Sin embargo, es esencial determinar la capacidad antirradical tras la digestión gastrointestinal, ya que los aceites presentan una gran cantidad de componentes de naturaleza lipofílica que dificultan las determinaciones.

Las mezclas con una mayor concentración de aceite (PC-AO-2 y PC-AG-2) presentan mayor bioaccesibilidad de los compuestos con capacidad antirradical que el polvo de caqui o el resto de las mezclas, lo que podría deberse a una mayor concentración de hidroxitirosol que presenta una mayor recuperación durante el proceso digestivo.

La influencia de la microbiota individual es muy importante a la hora de determinar los compuestos bioactivos liberados tras la fermentación colónica. Sin embargo, se puede establecer que las mezclas del polvo de caqui con el aceite promueven una mayor liberación de compuestos con capacidad antirradical que el polvo de caqui.

PC-AO-1 promueve el crecimiento de una microbiota característica en la que son abundantes los géneros bacterianos productores de ácidos grasos de cadena corta.

El caqui (PC) tiene un mayor efecto sobre la microbiota que el aceite de girasol y sus mezclas. Tanto el caqui (PC) como PC-AG-2 favorecen el crecimiento de bacterias comensales descritas como beneficiosas.

6. BIBLIOGRAFÍA

Aceite de oliva. (s. f.). <https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/producciones-agricolas/aceite-oliva-y-aceituna-mesa/aceite.aspx>

Allouche, Y., Jiménez, A., Gaforio, J. J., Uceda, M., & Beltrán, G. (2007). How Heating Affects Extra Virgin Olive Oil Quality Indexes and Chemical Composition. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 55(23), 9646-9654. <https://doi.org/10.1021/jf070628u>

Almanza-Aguilera, E., Cano, A., Gil-Lespinard, M., Burguera, N., Zamora-Ros, R., Agudo, A., & Farràs, M. (2023). Mediterranean diet and olive oil, microbiota, and obesity-related cancers. From mechanisms to prevention. *Seminars In Cancer Biology*, 95, 103-119. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2023.08.001>

Alminger, M., Aura, A., Bohn, T., Dufour, C., El, S., Gomes, A., Karakaya, S., Martinez-Cuesta, M., McDougall, G., Requena, T., & Santos, C. (2014). In Vitro Models for Studying Secondary Plant Metabolite Digestion and Bioaccessibility. *Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety*, 13(4), 413-436. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12081>

Angeloni, C., Malaguti, M., Barbalace, M. C., & Hrelia, S. (2017). Bioactivity of Olive Oil Phenols in Neuroprotection. *International Journal Of Molecular Sciences*, 18(11), 2230. <https://doi.org/10.3390/ijms18112230>

AOAC 934.06-1934(1996), Loss on Drying (Moisture) in Dried Fruit : AOAC Official Method Available online: http://www.aocofficialmethod.org/index.php?main_page=product_info&products_id=695 (accessed on 11 February 2023).

Bäckhed, F., Ley, R. E., Sonnenburg, J. L., Peterson, D. A., & Gordon, J. I. (2005). Host-Bacterial Mutualism in the Human Intestine. *Science*, 307(5717), 1915-1920. <https://doi.org/10.1126/science.1104816>

Bas-Bellver, C., Andrés, C., Seguí, L., Barrera, C., Jiménez-Hernández, N., Artacho, A., Betoret, N., & Gosalbes, M. J. (2020). Valorization of Persimmon and Blueberry Byproducts to Obtain Functional Powders: In Vitro Digestion and Fermentation by Gut Microbiota. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 68(30), 8080-8090. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c02088>

Beam, A., Clinger, E., & Hao, L. (2021). Effect of Diet and Dietary Components on the Composition of the Gut Microbiota. *Nutrients*, 13(8), 2795. <https://doi.org/10.3390/nu13082795>

Bendini, A., Cerretani, L., Carrasco-Pancorbo, A., Gómez-Caravaca, A. M., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., & Lercker, G. (2007). Phenolic Molecules in Virgin Olive Oils: a Survey of Their Sensory Properties, Health Effects, Antioxidant Activity and Analytical Methods. An Overview of the Last Decade Alessandra. *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*, 12(8), 1679-1719. <https://doi.org/10.3390/12081679>

Bohn, T. (2014). Dietary factors affecting polyphenol bioavailability. *Nutrition Reviews*, 72(7), 429-452. <https://doi.org/10.1111/nure.12114>

Borges, T. H., Cabrera-Vique, C., & Seiquer, I. (2015). Antioxidant properties of chemical extracts and bioaccessible fractions obtained from six Spanish monovarietal extra virgin olive oils: Assays in Caco-2 cells. *Food & Function*, 6(7), 2375-2383. <https://doi.org/10.1039/c5fo00529a>

- Bornhorst, G. M., & Singh, R. P. (2014). Gastric Digestion In Vivo and In Vitro: How the Structural Aspects of Food Influence the Digestion Process. *Annual Review Of Food Science And Technology*, 5(1), 111-132. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030713-092346>
- Brenes, M., García, A., García, P., Rios, J. J., & Garrido, A. (1999). Phenolic Compounds in Spanish Olive Oils. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 47(9), 3535-3540. <https://doi.org/10.1021/jf990009o>
- Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Feunteun, S. L., . . . Recio, I. (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols*, 14(4), 991-1014. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>
- Cai, Y., & Corke, H. (2000). Production and Properties of Spray-dried Amaranthus Betacyanin Pigments. *Journal Of Food Science*, 65(7), 1248-1252. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb10273.x>
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 581-583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- Cani, P. D., Amar, J., Iglesias, M. A., Poggi, M., Knauf, C., Bastelica, D., Neyrinck, A. M., Fava, F., Tuohy, K. M., Chabo, C., Waget, A., DelmÉ, E., Cousin, B., Sulpice, T., Chamontin, B., Ferrière, J., Tanti, J., Gibson, G. R., Casteilla, L., . . . Burcelin, R. (2007). Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and Insulin Resistance. *Diabetes*, 56(7), 1761-1772. <https://doi.org/10.2337/db06-1491>
- Capuano, E., & Janssen, A. E. (2021). Food Matrix and Macronutrient Digestion. *Annual Review Of Food Science And Technology*, 12(1), 193-212. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032519-051646>
- Cardona, F., Andrés-Lacueva, C., Tulipani, S., Tinahones, F. J., & Queipo-Ortuño, M. I. (2013). Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. *The Journal Of Nutritional Biochemistry*, 24(8), 1415-1422. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2013.05.001>
- Covas, M., De la Torre, R., & Fitó, M. (2015). Virgin olive oil: a key food for cardiovascular risk protection. *British Journal Of Nutrition*, 113(S2), S19-S28. <https://doi.org/10.1017/s0007114515000136>
- De Filippis, F., Pellegrini, N., Vannini, L., Jeffery, I. B., La Storia, A., Laghi, L., Serrazanetti, D. I., Di Cagno, R., Ferrocino, I., Lazzi, C., Turrone, S., Coccolin, L., Brigidi, P., Neviani, E., Gobbetti, M., O'Toole, P. W., & Ercolini, D. (2015). High-level adherence to a Mediterranean diet beneficially impacts the gut microbiota and associated metabolome. *Gut*, 65(11), 1812-1821. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-309957>
- De Santis, S., Cariello, M., Piccinin, E., Sabbà, C., & Moschetta, A. (2019). Extra Virgin Olive Oil: Lesson from Nutrigenomics. *Nutrients*, 11(9), 2085. <https://doi.org/10.3390/nu11092085>
- Deiana, M., Serra, G., & Corona, G. (2018). Modulation of intestinal epithelium homeostasis by extra virgin olive oil phenolic compounds. *Food & Function*, 9(8), 4085-4099. <https://doi.org/10.1039/c8fo00354h>

- Díaz, L. D., Dorta, E., Maher, S., Morales, P., Fernández-Ruiz, V., Cámara, M., & Sánchez-Mata, M. (2020). Potential Nutrition and Health Claims in Deastringed Persimmon Fruits (*Diospyros kaki* L.), Variety 'Rojo Brillante', PDO 'Ribera del Xúquer'. *Nutrients*, *12*(5), 1397. <https://doi.org/10.3390/nu12051397>
- Direito, R., Rocha, J., Sepodes, B., & Eduardo-Figueira, M. (2021). From *Diospyros kaki* L. (Persimmon) Phytochemical Profile and Health Impact to New Product Perspectives and Waste Valorization. *Nutrients*, *13*(9), 3283. <https://doi.org/10.3390/nu13093283>
- Egger, L., Schlegel, P., Baumann, C., Stoffers, H., Guggisberg, D., Brügger, C., Dürr, D., Stoll, P., Vergères, G., & Portmann, R. (2017). Physiological comparability of the harmonized INFOGEST in vitro digestion method to in vivo pig digestion. *Food Research International*, *102*, 567-574. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.047>
- Fernández Jalao, I. (2021, 4 junio). *Influencia de la matriz alimentaria y el procesado en la estabilidad, bioaccesibilidad y metabolismo de compuestos fenólicos naturales en un modelo dinámico de digestión gastrointestinal y fermentación colónica*. <https://hdl.handle.net/20.500.14352/11688>
- Fernández-García, E., Carvajal-Lérida, I., & Pérez-Gálvez, A. (2009). In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. *Nutrition Research*, *29*(11), 751-760. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2009.09.016>
- Ferreira-Halder, C. V., De Sousa Faria, A. V., & Andrade, S. S. (2017). Action and function of *Faecalibacterium prausnitzii* in health and disease. *Baillière's Best Practice & Research. Clinical Gastroenterology/Baillière's Best Practice And Research In Clinical Gastroenterology*, *31*(6), 643-648. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2017.09.011>
- Flint, H. J., Duncan, S. H., Scott, K. P., & Louis, P. (2007). Interactions and competition within the microbial community of the human colon: links between diet and health. *Environmental Microbiology*, *9*(5), 1101-1111. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2007.01281.x>
- Foscolou, A., Critselis, E., & Panagiotakos, D. (2018). Olive oil consumption and human health: A narrative review. *Maturitas*, *118*, 60-66. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2018.10.013>
- García-González, D. L., Tena, N., & Aparicio, R. (2010). Quality Characterization of the New Virgin Olive Oil Var. Sikitita by Phenols and Volatile Compounds. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, *58*(14), 8357-8364. <https://doi.org/10.1021/jf101316d>
- Generalitat Valenciana. (2023). EL SECTOR DEL KAKI 2023 Diciembre 2023 Comunitat Valenciana. En *Conselleria de Agricultura, Ganaderia y Pesca*. <https://portalagrari.gva.es/documents/366567370/377602968/Sector+Kaki+12+2023.pdf/964c125a-c0ba-6a1d-719e-d4d9f4e3833b?t=1702993297066#:~:text=%3E%20En%202022%20se%20cultivaron%20en,toneladas%2C%20m%C3%A1s%20del%2093%25>
- Ghendov-Mosan, A., Popovici, V., Constantinescu, C. G., Deseatnicova, O., Siminiuc, R., Subotin, I., Druta, R., Pintea, A., Socaciu, C., & Sturza, R. (2023). Stabilization of Sunflower Oil with Biologically Active Compounds from Berries. *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*, *28*(8), 3596. <https://doi.org/10.3390/molecules28083596>

- Giordani, E. (2001). *Options Méditerranéennes en ligne - Collection numérique - Varietal assortment of persimmon in the countries of the Mediterranean area and genetic improvement*. <http://om.ciheam.org/article.php?IDPDF=2600060>
- Gomes, A. M., & Malcata, F. (1999). Bifidobacterium spp. and Lactobacillus acidophilus: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends In Food Science & Technology*, 10(4-5), 139-157. [https://doi.org/10.1016/s0924-2244\(99\)00033-3](https://doi.org/10.1016/s0924-2244(99)00033-3)
- Gorinstein, S., Zachwieja, Z., Folta, M., Barton, H., Piotrowicz, J., Zemser, M., Weisz, M., Trakhtenberg, S., & Martín-Belloso, O. (2001). Comparative Contents of Dietary Fiber, Total Phenolics, and Minerals in Persimmons and Apples. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 49(2), 952-957. <https://doi.org/10.1021/jf000947k>
- Granados, S., 2020. PASANDO DE PÉRDIDAS A SOLUCIONES EN AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE, Latin American Parliament. Panama. Retrieved from <https://policycommons.net/artifacts/1584825/pasando-de-perdidas-a-soluciones-en-america-latina-y-el-caribe/2274594/> on 13 Jun 2024. CID: 20.500.12592/gxwtz5.
- Gross, G., Jacobs, D. M., Peters, S., Possemiers, S., Van Duynhoven, J., Vaughan, E. E., & Van de Wiele, T. (2010). In Vitro Bioconversion of Polyphenols from Black Tea and Red Wine/Grape Juice by Human Intestinal Microbiota Displays Strong Interindividual Variability. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 58(18), 10236-10246. <https://doi.org/10.1021/jf101475m>
- Guadamuro, L., Azcárate-Peril, M. A., Tojo, R., Mayo, B., & Delgado, S. (2021). Impact of Dietary Isoflavone Supplementation on the Fecal Microbiota and Its Metabolites in Postmenopausal Women. *International Journal Of Environmental Research And Public Health/International Journal Of Environmental Research And Public Health*, 18(15), 7939. <https://doi.org/10.3390/ijerph18157939>
- Guadamuro, L., Dohrmann, A. B., Tebbe, C. C., Mayo, B., & Delgado, S. (2017). Bacterial communities and metabolic activity of faecal cultures from equol producer and non-producer menopausal women under treatment with soy isoflavones. *BMC Microbiology*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-017-1001-y>
- Halliwel, B. (1995). Antioxidant characterization. *Biochemical Pharmacology*, 49(10), 1341-1348. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(95\)00088-h](https://doi.org/10.1016/0006-2952(95)00088-h)
- Hamilton, R. J. (1995). Developments in Oils and Fats. En *Springer eBooks*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2183-9>
- Hidalgo, M., Prieto, I., Abriouel, H., Villarejo, A. B., Ramírez-Sánchez, M., Cobo, A., Benomar, N., Gálvez, A., & Martínez-Cañamero, M. (2017). Changes in Gut Microbiota Linked to a Reduction in Systolic Blood Pressure in Spontaneously Hypertensive Rats Fed an Extra Virgin Olive Oil-Enriched Diet. *Plant Foods For Human Nutrition*, 73(1), 1-6. <https://doi.org/10.1007/s11130-017-0650-1>
- Holscher, H. D. (2017). Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota. *Gut Microbes*, 8(2), 172-184. <https://doi.org/10.1080/19490976.2017.1290756>
- Izuchi, R., Nakai, Y., Takahashi, H., Ushiyama, S., Okada, S., Misaka, T., & Abe, K. (2011). Hepatic Gene Expression of the Insulin Signaling Pathway Is Altered by Administration of Persimmon Peel Extract: A DNA Microarray Study Using Type 2 Diabetic Goto-Kakizaki Rats. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 59(7), 3320-3329. <https://doi.org/10.1021/jf102422z>

- Jakobek, L. (2015). Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. *Food Chemistry*, 175, 556-567. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.013>
- Kalogiouri, N. P., Aalizadeh, R., & Thomaidis, N. S. (2018). Application of an advanced and wide scope non-target screening workflow with LC-ESI-QTOF-MS and chemometrics for the classification of the Greek olive oil varieties. *Food Chemistry*, 256, 53-61. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.101>
- Karl, J. P., Margolis, L. M., Madslie, E. H., Murphy, N. E., Castellani, J. W., Gundersen, Y., Hoke, A. V., Levangie, M. W., Kumar, R., Chakraborty, N., Gautam, A., Hammamieh, R., Martini, S., Montain, S. J., & Pasiakos, S. M. (2017). Changes in intestinal microbiota composition and metabolism coincide with increased intestinal permeability in young adults under prolonged physiological stress. *American Journal Of Physiology: Gastrointestinal And Liver Physiology/American Journal Of Physiology: Gastrointestinal And Liver Physiology*, 312(6), G559-G571. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00066.2017>
- Khan, S., Choudhary, S., Pandey, A., Khan, M. K., & Thomas, G. (2015, 1 junio). *Sunflower Oil: Efficient Oil Source for Human Consumption*. https://www.emergentresearch.org/article_html.php?did=1768&issueno=0
- Khan, S., Choudhary, S., Pandey, A., & Thomas, G. (2015). Sunflower oil: Efficient oil source for human consumption. *ResearchGate*. https://www.researchgate.net/publication/308032797_Sunflower_oil_Efficient_oil_source_for_human_consumption
- Koziol, M., Alcaro, S., Augustijns, P., Basit, A. W., Grimm, M., Hens, B., Hoad, C. L., Jedamzik, P., Madla, C. M., Maliepaard, M., Marciani, L., Maruca, A., Parrott, N., Pávek, P., Porter, C. J., Reppas, C., Van Riet-Nales, D., Rubbens, J., Stelova, M., . . . Corsetti, M. (2019). The mechanisms of pharmacokinetic food-drug interactions – A perspective from the UNGAP group. *European Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 134, 31-59. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.04.003>
- Lau, K. Q., Sabran, M. R., & Shafie, S. R. (2021). Utilization of Vegetable and Fruit By-products as Functional Ingredient and Food. *Frontiers In Nutrition*, 8. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.661693>
- Loeffler, J., Schmidt, K., Hebart, H., Schumacher, U. & Einsele, H. (2002). Automated extraction of genomic DNA from medically important yeast species and filamentous fungi by using the MagNA Pure LC system. *Journal of clinical microbiology*, 40(6), 2240-2243.
- Lopez-Siles, M., Duncan, S. H., Garcia-Gil, L. J., & Martinez-Medina, M. (2017). Faecalibacterium prausnitzii: from microbiology to diagnostics and prognostics. *The ISME Journal*, 11(4), 841-852. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.176>
- Luximon-Ramma, A., Bahorun, T., Soobrattee, M. A. & Aruoma, O. I. (2002). Antioxidant activities of phenolic, proanthocyanidin, and flavonoid components in extracts of Cassia fistula. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(18), 5042-5047.
- Lužaić, T., Kravić, S., Stojanović, Z., Grahovac, N., Jocić, S., Cvejić, S., Pezo, L., & Romanić, R. (2023). Investigation of oxidative characteristics, fatty acid composition and bioactive compounds content in cold pressed oils of sunflower grown in Serbia and Argentina. *Heliyon*, 9(7), e18201. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e18201>

- Makki, K., Deehan, E. C., Walter, J., & Bäckhed, F. (2018). The Impact of Dietary Fiber on Gut Microbiota in Host Health and Disease. *Cell Host & Microbe*, 23(6), 705-715. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.05.012>
- Mamata, M. (2010, 10 julio). *PROCESSING AND UTILIZATION OF LEGUME SEED COAT FIBRE FOR FUNCTIONAL FOOD FORMULATIONS*. <https://krishikosh.egranth.ac.in/items/7b2e053d-ac43-405c-bdc5-38bbbe6264c4>
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal Of Clinical Nutrition*, 79(5), 727-747. <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727>
- Marketinet. (2022, 21 abril). *¿Cómo es la producción de aceite de girasol en España? - Coosol*. Coosol. <https://coosol.es/como-es-la-produccion-aceite-girasol-espana/#:~:text=%C2%BFCu%C3%A1nto%20aceite%20de%20girasol%20se,sectores%20de%20a%20industria%20alimentaria>
- Martin, D. A., & Bolling, B. W. (2015). A review of the efficacy of dietary polyphenols in experimental models of inflammatory bowel diseases. *Food & Function*, 6(6), 1773-1786. <https://doi.org/10.1039/c5fo00202h>
- Matijašić, B. B., Obermajer, T., Lipoglavšek, L., Grabnar, I., Avguštin, G., & Rogelj, I. (2013). Association of dietary type with fecal microbiota in vegetarians and omnivores in Slovenia. *European Journal Of Nutrition*, 53(4), 1051-1064. <https://doi.org/10.1007/s00394-013-0607-6>
- Mayneris-Perxachs, J., Arnoriaga-Rodríguez, M., Luque-Córdoba, D., Priego-Capote, F., Pérez-Brocal, V., Moya, A., Burokas, A., Maldonado, R., & Fernández-Real, J. M. (2020). Gut microbiota steroid sexual dimorphism and its impact on gonadal steroids: influences of obesity and menopausal status. *Microbiome*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00913-x>
- Mimouni, A., Deeth, H. C., Whittaker, A. K., Gidley, M. J., & Bhandari, B. R. (2009). Rehydration process of milk protein concentrate powder monitored by static light scattering. *Food Hydrocolloids*, 23(7), 1958-1965. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.01.010>
- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carriere, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Feunteun, S. L., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., . . . Brodkorb, A. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. *Food & Function*, 5(6), 1113-1124. <https://doi.org/10.1039/c3fo60702j>
- Molino, S., Lerma-Aguilera, A., Jiménez-Hernández, N., Gosalbes, M. J., Rufián-Henares, J. Á., & Francino, M. P. (2021). Enrichment of Food With Tannin Extracts Promotes Healthy Changes in the Human Gut Microbiota. *Frontiers In Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.625782>
- Nagpal, R., Shively, C. A., Appt, S. A., Register, T. C., Michalson, K. T., Vitols, M. Z., & Yadav, H. (2018). Gut Microbiome Composition in Non-human Primates Consuming a Western or Mediterranean Diet. *Frontiers In Nutrition*, 5. <https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00028>
- Nandha, R. (2014). THERAPEUTIC POTENTIAL OF SUNFLOWER SEEDS: AN OVERVIEW. *ResearchGate*. https://www.researchgate.net/publication/275653985_THERAPEUTIC_POTENTIAL_OF_SUNFLOWER_SEEDS_AN_OVERVIEW

Nie, K., Ma, K., Luo, W., Shen, Z., Yang, Z., Xiao, M., Tong, T., Yang, Y., & Wang, X. (2021). Roseburia intestinalis: A Beneficial Gut Organism From the Discoveries in Genus and Species. *Frontiers In Cellular And Infection Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.757718>

Palafox-Carlos, H., Ayala-Zavala, J. F., & González-Aguilar, G. A. (2011). The Role of Dietary Fiber in the Bioaccessibility and Bioavailability of Fruit and Vegetable Antioxidants. *Journal Of Food Science*, 76(1). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01957.x>

Pérdida y desperdicio de alimentos | Portal de apoyo a las políticas y la gobernanza | Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura | Policy Support and Governance | Food and Agriculture Organization of the United Nations. (s. f.). <https://www.fao.org/policy-support/policy-themes/food-loss-food-waste/es/>

Pomar Martínez, D., Betoret Valls, B. V., Seguí Gil, S. G., De València Departamento de Tecnología de Alimentos - Departament de Tecnologia D'Aliments, U. P., & De València Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural - Escola Tècnica Superior D'Enginyeria Agronòmica I del Medi Natural, U. P. (2021, 18 mayo). *Estudio de la deshidratación de subproductos de caqui para la obtención de un producto en polvo. Propuesta de diseño de un secador continuo.* <http://hdl.handle.net/10251/166428>

Preciado-Saldaña, A. M., Ruiz-Canizales, J., Villegas-Ochoa, M. A., Domínguez-Avila, J. A., & González-Aguilar, G. A. (2022). *Aprovechamiento de subproductos de la industria agroalimentaria. Un acercamiento a la economía circular.* https://www.redalyc.org/journal/813/81373798002/html/#redalyc_81373798002_ref13

Pryde, S. E., Duncan, S. H., Hold, G. L., Stewart, C. S., & Flint, H. J. (2002). The microbiology of butyrate formation in the human colon. *FEMS Microbiology Letters*, 217(2), 133-139. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2002.tb11467.x>

Quintero-Flórez, A., Pereira-Caro, G., Sánchez-Quezada, C., Moreno-Rojas, J. M., Gaforio, J. J., Jimenez, A., & Beltrán, G. (2017). Effect of olive cultivar on bioaccessibility and antioxidant activity of phenolic fraction of virgin olive oil. *European Journal Of Nutrition*, 57(5), 1925-1946. <https://doi.org/10.1007/s00394-017-1475-2>

Quirós-Sauceda, A. E., Palafox-Carlos, H., Sáyago-Ayerdi, S. G., Ayala-Zavala, J. F., Bello-Perez, L. A., Álvarez-Parrilla, E., De la Rosa, L. A., González-Córdova, A. F., & González-Aguilar, G. A. (2014). Dietary fiber and phenolic compounds as functional ingredients: interaction and possible effect after ingestion. *Food & Function*, 5(6), 1063-1072. <https://doi.org/10.1039/c4fo00073k>

Raghavendra, S., Swamy, S. R., Rastogi, N., Raghavarao, K., Kumar, S., & Tharanathan, R. (2006). Grinding characteristics and hydration properties of coconut residue: A source of dietary fiber. *Journal Of Food Engineering*, 72(3), 281-286. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.12.008>

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26(9-10), 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3)

Ribas-Agustí, A., Martín-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R., & Elez-Martínez, P. (2017). Food processing strategies to enhance phenolic compounds bioaccessibility and bioavailability in plant-based foods. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 58(15), 2531-2548. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1331200>

- Robertson, J. A., De Monredon, F. D., Dysseler, P., Guillon, F., Amado, R., & Thibault, J. (2000). Hydration Properties of Dietary Fibre and Resistant Starch: a European Collaborative Study. *Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie/Food Science & Technology*, 33(2), 72-79. <https://doi.org/10.1006/fstl.1999.0595>
- Rosero, J. A., Killer, J., Sechovcová, H., Mrázek, J., Benada, O., Fliegerová, K., Havlík, J., & Kopečný, J. (2016). Reclassification of *Eubacterium rectale* (Hauduroy et al. 1937) Prévot 1938 in a new genus *Agathobacter* gen. nov. as *Agathobacter rectalis* comb. nov., and description of *Agathobacter ruminis* sp. nov., isolated from the rumen contents of sheep and cows. *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology*, 66(2), 768-773. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000788>
- Saura-Calixto, F., Serrano, J., & Goñi, I. (2007). Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chemistry*, 101(2), 492-501. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.006>
- Seiquer, I., Rueda, A., Olalla, M., & Cabrera-Vique, C. (2015). Assessing the bioavailability of polyphenols and antioxidant properties of extra virgin argan oil by simulated digestion and Caco-2 cell assays. Comparative study with extra virgin olive oil. *Food Chemistry*, 188, 496-503. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.006>
- Singh, H., Ye, A., & Ferrua, M. J. (2015). Aspects of food structures in the digestive tract. *Current Opinion In Food Science*, 3, 85-93. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.06.007>
- Singh, R. K., Chang, H., Yan, D., Lee, K. M., Ucmak, D., Wong, K., Abrouk, M., Farahnik, B., Nakamura, M., Zhu, T. H., Bhutani, T., & Liao, W. (2017). Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. *Journal Of Translational Medicine*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/s12967-017-1175-y>
- Soler, A., Romero, M. P., Macià, A., Saha, S., Furniss, C. S., Kroon, P. A., & Motilva, M. J. (2010). Digestion stability and evaluation of the metabolism and transport of olive oil phenols in the human small-intestinal epithelial Caco-2/TC7 cell line. *Food Chemistry*, 119(2), 703-714. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.017>
- Somaratne, G., Ferrua, M. J., Ye, A., Nau, F., Floury, J., Dupont, D., & Singh, J. (2020). Food material properties as determining factors in nutrient release during human gastric digestion: a review. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 60(22), 3753-3769. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1707770>
- State of Food and Agriculture 2019. Moving forward on food loss and waste reduction |Policy Support and Governance| Food and Agriculture Organization of the United Nations.* (s. f.). <https://www.fao.org/policy-support/tools-and-publications/resources-details/en/c/1242090/>
- Stratil, P., Kubáň, V., & Fojtová, J. (2008). Comparison of the phenolic content and total antioxidant activity in wines as determined by spectrophotometric methods. *Czech Journal of Food Sciences*, 26(4), 242–253. <https://doi.org/10.17221/1119-cjfs>
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal Of Food Composition And Analysis*, 19(6-7), 669-675. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003>

- Tian, X., & Schaich, K. M. (2013). Effects of Molecular Structure on Kinetics and Dynamics of the Trolox Equivalent Antioxidant Capacity Assay with ABTS+•. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 61(23), 5511-5519. <https://doi.org/10.1021/jf4010725>
- Tomova, A., Bukovsky, I., Rembert, E., Yonas, W., Alwarith, J., Barnard, N. D., & Kahleova, H. (2019). The Effects of Vegetarian and Vegan Diets on Gut Microbiota. *Frontiers In Nutrition*, 6. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00047>
- Tripoli, E., Giammanco, M., Tabacchi, G., Di Majo, D., Giammanco, S., & La Guardia, M. (2005). The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutrition Research Reviews*, 18(1), 98-112. <https://doi.org/10.1079/nrr200495>
- Turroni, F., Van Sinderen, D., & Ventura, M. (2011). Genomics and ecological overview of the genus Bifidobacterium. *International Journal Of Food Microbiology*, 149(1), 37-44. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.12.010>
- Vendrame, S., Guglielmetti, S., Riso, P., Arioli, S., Klimis-Zacas, D., & Porrini, M. (2011). Six-Week Consumption of a Wild Blueberry Powder Drink Increases Bifidobacteria in the Human Gut. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 59(24), 12815-12820. <https://doi.org/10.1021/jf2028686>
- Vissers, M. N., Zock, P. L., & Katan, M. B. (2004). Bioavailability and antioxidant effects of olive oil phenols in humans: a review. *European Journal Of Clinical Nutrition*, 58(6), 955-965. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601917>
- Wojtunik-Kulesza, K., Oniszczyk, A., Oniszczyk, T., Combrzyński, M., Nowakowska, D., & Matwijczuk, A. (2020). Influence of In Vitro Digestion on Composition, Bioaccessibility and Antioxidant Activity of Food Polyphenols—A Non-Systematic Review. *Nutrients*, 12(5), 1401. <https://doi.org/10.3390/nu12051401>
- Wolfe, K., Wu, X., & Liu, R. H. (2003). Antioxidant activity of apple peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3), 609–614. <https://doi.org/10.1021/jf020782a>
- Wootton-Beard, P. C., Moran, A., & Ryan, L. (2011). Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin–Ciocalteu methods. *Food Research International*, 44(1), 217-224. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.033>
- Yamada, M., Giordani, E., & Yonemori, K. (2011). Persimmon. En *Springer eBooks* (pp. 663-693). https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0763-9_17
- Zhang, Y., Xiao, H., Lv, X., Wang, D., Chen, H., & Wei, F. (2022). Comprehensive review of composition distribution and advances in profiling of phenolic compounds in oilseeds. *Frontiers In Nutrition*, 9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1044871>
- Zhao, H., Chen, J., Li, X., Sun, Q., Qin, P., & Wang, Q. (2019). Compositional and functional features of the female premenopausal and postmenopausal gut microbiota. *FEBS Letters*, 593(18), 2655-2664. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.13527>

7. ANEXOS

Tabla 4: Relación del trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de la agenda 2030.

	Alto	Medio	Bajo	No procede
ODS 1. Fin de la pobreza				X
ODS 2. Hambre cero			X	
ODS 3. Salud y bienestar		X		
ODS 4. Educación de calidad				X
ODS 5. Igualdad de género				X
ODS 6. Agua limpia y saneamiento				X
ODS 7. Energía asequible y no contaminante				X
ODS 8. Trabajo decente y crecimiento económico				X
ODS 9. Industria, innovación e infraestructuras				X
ODS 10. Reducción de las desigualdades				X
ODS 11. Ciudades y comunidades sostenibles				X
ODS 12. Producción y consumo responsables	X			
ODS 13. Acción por el clima		X		
ODS 14. Vida submarina				X
ODS 15. Vida de ecosistemas terrestres				X
ODS 16. Paz, justicia e instituciones sólidas				X
ODS 17. Alianzas para lograr objetivos.				X

Este trabajo está alineado con el objetivo 12: Producción y consumo responsables, en concreto con la meta 3, que busca reducir el desperdicio de alimentos. El objetivo del trabajo es disminuir la generación de residuos mediante de la obtención de polvos funcionales a partir de excedentes de caqui.