

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

**“Enriquecimiento de la capacidad antioxidante y protección  
antimicrobiana del mango fresco cortado aplicando  
compuestos fenólicos de sus subproductos”**

PRESENTADA POR:

**I.B.Q. Violeta Vega Vega**

TESIS APROBADA POR LA

**COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE ORIGEN  
VEGETAL**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS**

**Hermosillo, Sonora.**

**Agosto del 2011**

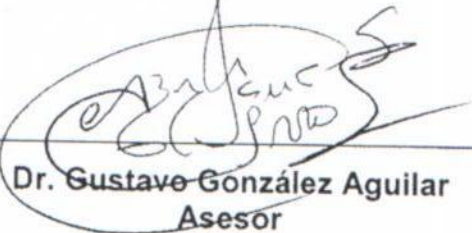
## APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para revisar la tesis de la Ing. Violeta Vega Vega, la han encontrado satisfactoria y recomiendan sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias.



---

**Dr. Jesús Fernando Ayala Zavala**  
Director de Tesis



---

**Dr. Gustavo González Aguilar**  
Asesor



---

**Dra. Irasema Vargas Arispuro**  
Asesor



---

**Dr. Saúl Ruíz Cruz**  
Asesor

## DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

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

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



**Dr. Ramón Pacheco Aguilar** <sup>§</sup>  
**Director General**

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C.

A la Coordinación de Ciencia y Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal

A mi asesor, Dr. Jesús Fernando Ayala Zavala

A los miembros de mi comité de tesis: Dr. Gustavo González Aguilar, Dra. Irasema Vargas Arispuro y Dr. Saúl Ruíz Cruz

A Brenda Silva, Reynaldo Cruz, Mónica Villegas, Mariana Rodríguez, Consuelo Corrales, Yazaric Calderón y Francisco Soto, por su apoyo técnico en las pruebas realizadas en este trabajo

A los maestros que me ayudaron en mi formación profesional

Y a todos los que de alguna u otra manera contribuyeron a la realización de este trabajo de tesis.

Muchas gracias!!!!

## DEDICATORIA

Mi tesis la dedico con todo mi amor y cariño:

A **Dios** por darme la oportunidad de estar aquí y regalarme la familia que tengo.

A mis padres **Eugenio Vega Vega** y **Marcela Vega Urias** que me dieron la vida y han estado conmigo en todo momento. Por guiarme en el transcurso de mi vida y hacer de mí, la persona que soy el día de hoy. Gracias por apoyarme y brindarme su cariño, los quiero mucho mucho.

A mi hermano mayor **Luis** por sus consejos, jalones de orejas, por estar siempre conmigo y consentirme, pero sobre todo por su apoyo incondicional. A **Gelasio** mi hermano menor, por brindarme su amistad, compañía y esos pleitos de niños que hoy me hacen reír. A los dos los quiero mucho y llevo en mi corazón.

En general a toda mi familia y angelitos, les agradezco por ser parte de mi vida y ayudar a la realización de este trabajo que también es suyo.

A **Brenda Silva** por apoyarme, aconsejarme y cuidarme durante estos dos años, que no en vano le decimos de cariño en el laboratorio “mamá Brenda”.

A mis viejas y nuevas amistades: Cindy, Beatriz, Yazaric, Brenda, Karina, Miriam, Dania, Eva, Fabiola, Johana, Joana, Rosela, Laura, Ana Elena, José Alberto, Juan Manuel, Julio, Luis, Hugo, Ivan, Jorge y demás compañeros de CIAD, gracias por su amistad, cariño y hacer más ameno el trabajo en el laboratorio, aunque me hicieron desatinar más de una vez!!!.

Gracias a todos, porque sin ustedes, el llegar a esta meta habría sido más difícil. Gracias por haber llegado a mi vida y compartir momentos agradables y tristes, por los momentos que me han hecho crecer y valorar lo que tengo.

*Gracias a Dios por no dármele todo, sino solo lo que necesito.....*

## ÍNDICE

	Página
LISTA DE CUADROS .....	ix
LISTA DE FIGURAS .....	x
RESUMEN .....	xi
1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN .....	3
2.1 Industria de las frutas y hortalizas frescas cortadas.....	3
2.2 El mango fresco cortado .....	4
2.2.1 Fuente de antioxidantes.....	5
2.2.2 Riesgo de contaminación microbiana .....	8
2.3 Subproductos en la industria de frutas y hortalizas frescas cortadas.....	9
2.4 Compuestos bioactivos en los subproductos del mango fresco cortado.....	11
2.4.1 Capacidad antioxidante .....	11
2.4.2 Potencial antimicrobiano.....	17
2.5 Estado del arte en la aplicación de extractos bioactivos para la conservación de frutos frescos cortados.....	18
3. HIPÓTESIS .....	20
4. OBJETIVOS .....	20
5. MATERIALES Y MÉTODOS .....	21
5.1 Selección de la materia prima .....	21
5.2 Caracterización fisicoquímica.....	21
5.3 Procesamiento de mango fresco cortado y cálculo de rendimiento .....	23
5.4 Etapa 1.....	23
5.4.1 Obtención de extractos ricos en compuestos fenólicos .....	23
5.4.2 Contenido de compuestos fenólicos .....	24
5.4.3 Prueba de inhibición del radical estable DPPH' .....	25
5.4.4 Prueba de capacidad de absorción del radical oxígeno.....	25

5.4.5 Capacidad antioxidante equivalente Trolox (TEAC) .....	26
5.4.6 Capacidad de inhibición de hemólisis causada por radicales peroxilo.....	26
5.4.7 Capacidad antifúngica .....	27
5.4.8 Capacidad antibacteriana .....	28
5.4.9 Análisis estadístico .....	28
5.5 Etapa 2.....	29
5.5.1 Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos en el extracto .....	29
5.5.2 Aplicación del extracto .....	30
5.5.3 Análisis estadístico .....	31
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32
6.1 Rendimiento de mango 'Haden' .....	32
6.2 Etapa 1: Obtención y caracterización de extractos .....	32
6.2.1 Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante.....	32
6.2.2 Capacidad antimicrobiana .....	38
6.3 Etapa 2: Aplicación del extracto FAE .....	42
6.3.1 Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos .....	42
6.3.2 Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante.....	44
6.3.3 Capacidad antimicrobiana .....	49
7. CONCLUSIONES.....	52
8. PRODUCCIÓN ACADÉMICA DERIVADA DEL TRABAJO DE TESIS.....	53
9. REFERENCIAS.....	55



## LISTA DE CUADROS

	Página
1. Contenido de fenoles totales encontrados en diferentes partes de frutos .....	12
2. Caracterización fisicoquímica de mango 'Haden' .....	22
3. Rendimiento en el procesamiento mínimo de mango 'Haden', expresado como porcentaje en relación al peso total del fruto .....	33
4. Contenido de fenoles y flavonoides totales en extractos obtenidos de los subproductos de mango 'Haden' .....	34
5. Capacidad antioxidante de extractos obtenidos de los subproductos de mango 'Haden' .....	36
6. Porcentajes de inhibición de extractos obtenidos de los subproductos de mango 'Haden' sobre cepas bacterianas .....	41
7. Efecto del extracto FAE de la semilla de mango en la reducción de mesófilos aerobios y hongos-levaduras (UFC/g) en mango fresco cortado almacenado 15 días a 5 °C .....	50

## LISTA DE FIGURAS

	Página
1. Distribución de compuestos antioxidantes en el fruto .....	7
2. Contenido de fenoles totales de productos y subproductos derivados del procesamiento mínimo de frutas .....	13
3. Contenido de flavonoides totales de productos y subproductos derivados del procesamiento mínimo de frutas .....	14
4. Capacidad de inhibición del radical DPPH <sup>*</sup> de extractos metanólicos de productos y subproductos derivados del procesamiento mínimo de frutas .....	16
5. Actividad antifúngica contra <i>Alternaria alternata</i> de los extractos fenólicos obtenidos de los subproductos de mango fresco cortado .....	39
6. Compuestos fenólicos del extracto FAE de la semilla de mango 'Haden'. Cromatograma de fase reversa a 280 y 320 nm .....	43
7. Contenido de compuestos fenólicos en el mango fresco cortado tratado y sin tratar con el extracto FAE de la semilla de mango, almacenado a 5 °C durante 15 días .....	45
8. Capacidad antioxidante del mango fresco cortado tratado y sin tratar con el extracto FAE de la semilla de mango, almacenado a 5 °C durante 15 días .....	46

## RESUMEN

El mango fresco cortado es un producto de gran demanda, sin embargo, su procesamiento genera una gran cantidad de subproductos (cáscaras y semillas), lo cual representa un importante problema económico y ambiental. La semilla presenta una mayor capacidad antioxidante que la pulpa, lo cual es atribuido principalmente a la presencia de compuestos fenólicos, que adicionalmente pueden presentar actividad antimicrobiana. En este contexto, el objetivo del presente trabajo fue aumentar la capacidad antioxidante y la protección antimicrobiana de mango fresco cortado (var. 'Haden'), aplicando compuestos fenólicos aportados por sus subproductos (cáscara y semilla). Se utilizaron diferentes métodos de extracción (etanólica: fracción acuosa (FA) y fracción acetato de etilo (FAE); infusión) a partir de la cáscara y semilla de mango. A los extractos obtenidos se les evaluó el contenido de compuestos fenólicos, la capacidad antioxidante (DPPH<sup>\*</sup>, TEAC, ORAC e inhibición de hemólisis) y actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella choleraesuis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Alternaria alternata*. El extracto FAE obtenido de la semilla de mango presentó los valores más altos de los parámetros evaluados anteriormente, razón por la que se seleccionó este extracto para someterse a la identificación de los compuestos fenólicos, encontrándose al ácido gálico como el compuesto más abundante. Dicho extracto se aplicó como tratamiento al mango fresco cortado, para evaluar su efecto sobre la capacidad antioxidante y reducción de la población microbiana durante 15 días a 5 °C. Al finalizar el almacenamiento, el tratamiento presentó un mayor contenido de fenoles totales (7.4 veces), flavonoides totales (3.1 veces) y capacidad antioxidante evaluada por los métodos DPPH<sup>\*</sup>, TEAC y ORAC (2.9, 2.3 y 1.8 veces, respectivamente) comparando con el control. Además, el tratamiento inhibió en un 80 y 79% el crecimiento de mesófilos aerobios y hongos-levaduras, comparando con el control. Este estudio demuestra el potencial de los compuestos fenólicos derivados de la semilla de mango, como antioxidantes y antimicrobianos en la industria del mango fresco cortado.

## 1. INTRODUCCIÓN

El procesamiento y consumo de frutas y hortalizas frescas cortadas se ha incrementado en los últimos años (Rico y col., 2007). Esta demanda se debe a que se encuentran listas para consumir (Luo, 2007), tienen un bajo contenido calórico, aportan beneficios a la salud y presentan características sensoriales similares a las del producto fresco (Rico y col., 2007). Sin embargo, durante su procesamiento el daño causado a la célula incrementa sus procesos metabólicos (respiración, actividad enzimática) (Brecht, 2006). Asimismo, se liberan nutrientes favoreciendo el crecimiento de la población microbiana deteriorativa y patógena, lo cual trae consigo la reducción de su vida útil, comprometiendo también la seguridad del consumidor (Artés y col., 2007).

Por otro lado, el incremento en los riesgos potenciales para la salud asociados con el consumo de antioxidantes y antimicrobianos sintéticos, ha promovido el interés de muchos grupos de investigación por la búsqueda de compuestos antioxidantes y antimicrobianos de fuentes naturales y la evaluación de sus propiedades para preservar la calidad de los alimentos (Seneviratne y Kotuwegedara, 2009). En este contexto, se han evaluado compuestos naturales con potencial antioxidante y antimicrobiano como el ácido ascórbico, compuestos fenólicos y carotenos (Kaur y Kapoor, 2001).

Se han identificado compuestos con propiedades antioxidantes y antimicrobianas en los subproductos cáscaras y semillas del mango (*Mangifera indica* L.) (Larrauri y col., 1996; Rincon y col., 2005; Soong y Barlow, 2004). Larrauri y col. (1996), observaron que la cáscara de mango contiene 70 mg/g de compuestos fenólicos. Así también, Kabuki y col. (2000), encontraron que el extracto etanólico de la semilla de mango presenta propiedades antimicrobianas contra bacterias patógenas contaminantes de alimentos. Sin embargo, este tipo de subproductos no

ha recibido mucha atención, a pesar de estas propiedades, dejando de lado su utilización.

Es considerable la cantidad de subproductos como cáscaras y semillas que la industria procesadora de frutas y hortalizas genera al elaborar sus productos, lo cual representa un problema económico y ambiental (Soong y Barlow, 2004). Como ejemplo en la India, el procesamiento industrial de mango genera anualmente  $3 \times 10^5$  ton de semilla aproximadamente (Soong y Barlow, 2004). Por ello, es necesario plantear alternativas de uso de dichos subproductos (Cerezal y Duarte, 2005), evitando así trastornos medioambientales y creando nuevas fuentes de ingresos que aporten una mayor rentabilidad económica a la empresa (Fernández-Ginés y *col.*, 2008).

Por las razones mencionadas anteriormente, el presente estudio tiene como objetivo aumentar la capacidad antioxidante y la protección antimicrobiana de mango fresco cortado (var. Haden), aplicando compuestos fenólicos obtenidos de sus subproductos (cáscara y semilla), de esta manera se haría un aprovechamiento integral del fruto.

## 2. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

### 2.1 Industria de las Frutas y Hortalizas Frescas Cortadas

Las frutas y hortalizas frescas cortadas, son productos que están parcialmente preparados, de tal forma que no se necesita una preparación adicional para su consumo (Watada y Qi, 1999). También son llamados mínimamente procesados, listos para consumir o de la cuarta gama. Son productos que combinan los atributos de conveniencia con la calidad de los frescos (Rivera-López y *col.*, 2005).

La demanda de frutas y hortalizas frescas cortadas de alta calidad y vida útil prolongada se ha incrementado en el mundo (González-Aguilar y *col.*, 2007). La fuerza que ha impulsado el desarrollo de esta industria es el crecimiento del sector de restaurantes y servicio de comida rápida. Estos productos reducen la cantidad de mano de obra, así como los problemas de acumulación de basura y espacio para depositarla. Así mismo, proporcionan una calidad uniforme y estándar, de acuerdo a los requerimientos de cada restaurante, por las grandes cadenas, franquicias o instituciones (Kerbel, 1993). Otra ventaja es que los precios de los frutos frescos cortados son mucho menos sensibles a las fluctuaciones en el mercado de productos frescos y por el ahorro en espacio, se pueden reducir considerablemente los costos de transporte y almacenamiento (Montero-Calderón, 2004).

Los avances tecnológicos en la producción y manejo de las frutas y hortalizas frescas cortadas permiten conservar su calidad por un mayor tiempo (Ohlsson, 1994). Esto es posible a través de canales de distribución cada día más ágiles y eficientes, que ofrecen al consumidor en muchos puntos de venta, una amplia gama de productos a precios accesibles y con los atributos de calidad requeridos (Montero-Calderón, 2004). En los países desarrollados se han logrado estos avances, con mejores desarrollos tecnológicos y la mayor expansión comercial (González-Aguilar y *col.*, 2004).

A pesar de que los países de Latinoamérica son de los principales productores de frutas y hortalizas frescas, es muy poca la presencia de productos en su forma de frutas y hortalizas frescas cortadas. Sin embargo, se ha visto un gran interés de algunos sectores de estos países por comercializar algunos productos frescos cortados, principalmente ensaladas o mezclas de hortalizas (González-Aguilar y col., 2004).

En México, la industria de los productos frescos cortados, está surgiendo y aunque ahora representa solo el 0.6% del mercado total de frutas y hortalizas, se espera un incremento notable en los próximos años. El éxito radicará en el buen uso de las tecnologías que se han desarrollado para lograr presentaciones más atractivas, con garantía de su inocuidad, en el mercado nacional (González-Aguilar y col., 2004).

## 2.2 El Mango Fresco Cortado

El mango es un fruto rico en compuestos antioxidantes (Kim y col., 2007) y es uno de los cultivos comerciales más importantes del mundo en términos de producción, comercialización y consumo (FAOSTAT, 2008). México ocupó en el 2007, el tercer lugar en producción mundial (FAOSTAT, 2007). Algunos de los compuestos antioxidantes presentes en este fruto son los compuestos fenólicos, ácido ascórbico y carotenoides (Schieber y col., 2000).

Los compuestos antioxidantes presentes en el mango pueden afectarse durante su manejo (Busta y col., 2003). El procesamiento mínimo incluye operaciones como el pelado y cortado, lo cual causa lesiones en el producto, la liberación de líquidos celulares y como consecuencia se incrementa el crecimiento microbiano (Brecht, 2006). Esta situación crea la necesidad de aplicar compuestos que enriquezcan el contenido antioxidante del mango fresco cortado y al mismo tiempo lo protejan de la contaminación microbiana.

### 2.2.1 Fuente de antioxidantes

El consumo de frutas y hortalizas frescas, es esencial para una buena salud y como tal se ha consolidado en el estilo actual de vida (Avello y Suwalsky, 2006). Estudios epidemiológicos han establecido una correlación positiva entre el consumo de frutas y hortalizas y la prevención de enfermedades como la aterosclerosis (Vinson y *col.*, 1995), el cáncer (Hashimoto y *col.*, 2002), la diabetes, la artritis y el envejecimiento. Se cree que estos efectos protectores están parcialmente asociados con varios compuestos antioxidantes (Kaur y Kapoor, 2001). Entre éstos, se encuentran compuestos fenólicos, vitaminas y carotenos, sustancias que inhiben la oxidación de biomoléculas (Avello y Suwalsky, 2006).

El consumo de frutas y hortalizas frescas a nivel mundial, es todavía muy bajo con respecto a lo recomendado para tener una dieta adecuada y variada. La introducción en los mercados de productos frescos cortados es una forma de promover el incremento en el consumo de frutas y hortalizas, debido a su atractiva presentación, apariencia y sabor (Martín-Belloso y *col.*, 2007).

Los programas implementados por las organizaciones internacionales de salud pública, como “cinco al día” y la creciente demanda de alimentos listos para consumir, han favorecido el continuo aumento de las ventas de frutas frescas cortadas (Hodge, 2003). Otro factor importante que ha influido en la demanda de estos productos es la incorporación de la mayoría de los miembros de la familia al mercado laboral. Este último factor ha provocado un aumento en las comidas fuera del hogar y la búsqueda de alimentos listos para consumir que ahorren tiempo y esfuerzo, pero que al mismo tiempo sean nutricios. Por esta razón, esta industria ha experimentado un rápido crecimiento durante las últimas dos décadas, lo que contribuye al 25% de las ventas del mercado internacional de alimentos (Ruíz-Cruz y *col.*, 2006).



Los frutos frescos cortados más comunes en el mercado internacional son piña, melón, sandía, manzana, pera y uva (Robles-Sánchez y *col.*, 2007). Las frutas tropicales como mango y papaya, se han ido incorporando a este mercado dada su alta preferencia por los consumidores y su disponibilidad. Además de su atractivo color y aroma, las frutas tropicales como el mango tienen grandes cantidades de compuestos bioactivos con capacidad antioxidante, su distribución en el fruto se puede ver en la **Figura 1** (Robles-Sánchez y *col.*, 2007).

La capacidad antioxidante en el mango ha sido atribuida principalmente a los compuestos fenólicos (Soong y Barlow, 2004). En la pulpa de mango var. Ataulfo, se encontró que el contenido de fenoles totales fue de 160 mg/100 g de muestra (Robles-Sánchez y *col.*, 2009). Este valor fue superior al encontrado, en otros frutos como la piña (21.7 mg/100 g), guayaba (83 mg/100 g), uva (117.1 mg/100 g) y fresa (132.1 mg/100 g) (Kuskoski y *col.*, 2005).

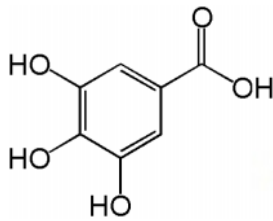
La actividad antioxidante equivalente a vitamina C en la pulpa de mango var. Ataulfo determinada por el método de inhibición del radical libre DPPH<sup>\*</sup> (2,2-difenil-1-picril-hidracilo) fue de 179 mg/100 g (Robles-Sánchez y *col.*, 2009). Este valor también resultó superior a los reportados en la piña (41.1 mg/100 g), guayaba (100.7 mg/100 g), uva (105.9 mg/100 g) y fresa (132.8 mg/100 g) (Kuskoski y *col.*, 2005).

Ribeiro y *col.* (2008), encontraron que los extractos metanólicos de pulpa de cuatro variedades de mango: Tommy Atkins, Haden, Palmer y Ubá, mostraron valores de inhibición del radical DPPH<sup>\*</sup> entre 94.2 y 39.6%. El extracto de la variedad “Ubá” a una concentración de 0.05 mg/mL mostró un porcentaje de inhibición mayor al 94%. Este valor fue 1.8, 2.1 y 2.4 veces mayor al de los extractos obtenidos de las variedades Tommy Atkins, Haden y Palmer, respectivamente.

Por otra parte, Corral-Aguayo y *col.* (2008), evaluaron el contenido de vitamina E,  $\beta$ -caroteno y carotenoides totales (CT) presentes en varios frutos. El contenido de vitamina E en el mango var. Ataulfo fue de 442 g/100 g de peso fresco, en fresas de

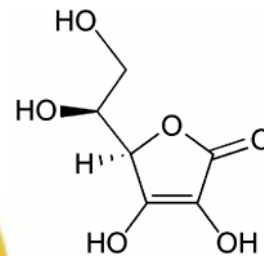
### Compuestos Fenólicos

Mangiferina principalmente en cáscara; taninos en semilla; ácido gálico en pulpa.



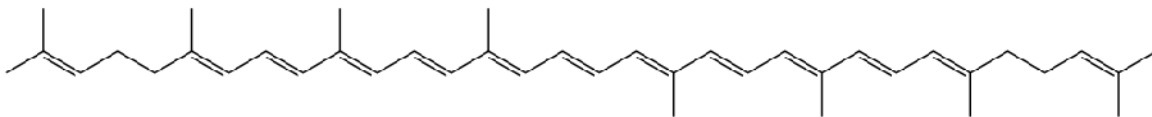
### Vitamina C

Su distribución probablemente puede ser asumida como uniforme en toda la estructura del fruto.



### Carotenoides

Algunos compuestos como la violaxantina están principalmente en la cáscara.



**Figura 1.** Distribución de compuestos antioxidantes en el fruto (Ayala-Zavala y col., 2010).

388 g/100 g de peso fresco y papaya 229 g/100 g de peso fresco. El contenido de  $\beta$ -caroteno fue mayor en mango var. Ataulfo, y no fue detectado en fresas. El mango "Ataulfo" también presentó el mayor contenido de CT, mientras que la fresa mostró el menor contenido. Estos estudios indican que el mango presenta un potencial antioxidante superior al de otros frutos.

### **2.2.2 Riesgo de contaminación microbiana**

La calidad microbiológica del mango fresco cortado es especialmente crítica dada la exposición del tejido cortado hacia el medio ambiente, lo que puede favorecer la contaminación con bacterias, hongos y levaduras (Raybaudi-Massilia y col., 2009). La microflora comúnmente encontrada en este fruto ha estado compuesta por: *Pseudomonas* spp., *Erwinia herbicola*, *Enterobacter agglomerans*, bacterias ácido lácticas, hongos y levaduras (Busta y col., 2003). De la microflora deteriorativa, los hongos son los principales microorganismos causantes de la descomposición de la fruta fresca cortada, donde las condiciones relativamente ácidas tienden a suprimir el crecimiento bacteriano (Frazier y Westhoff, 1993). Sin embargo, la mayoría de los brotes de enfermedades gastrointestinales registrados se han asociado a la contaminación bacteriana, particularmente a los miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, otros brotes vinculados a protozoos (por ejemplo: *Cryptosporidium*, *Cyclospora* y *Giardia*) se han asociado con el mango (Busta y col., 2003). Algunos virus (Norwalk y Hepatitis A), a menudo son asociados con el agua o manipuladores de alimentos, y pueden ser transmitidos al producto final fresco cortado, a través del manejo en el cultivo, cosecha y procesamiento mínimo, comprometiendo la salud del consumidor (Garrett y col., 2003). Con esto en mente, los riesgos microbiológicos son uno de los principales factores que afectan a la seguridad del mango fresco cortado (Ayala-Zavala y col., 2009).

El mango es susceptible a la contaminación microbiana durante todas las etapas de su desarrollo y consumo (Khazada y col., 2004). En Estados Unidos, se informó de un brote de *Salmonella entérica* serotipo Newport por el consumo de mangos contaminados por aguas de lavado, importados de Brasil. De 78 personas infectadas en 13 estados distintos, 15 fueron hospitalizadas y 2 murieron (Sivapalasingam y col., 2003). En marzo del 2001, los departamentos de salud pública en Massachusetts y Conneticut (E.U.A) reportaron 19 pacientes con infección por *Salmonella saintpaul* provenientes de mango. Mientras que para el 31 de marzo de ese mismo año se reportaron otros 7 casos adicionales, incluyendo residentes de California, Delaware, New Jersey, New York y Rhode Island (Beatty y col., 2004). Por ello, es necesario el uso de tecnologías que aseguren la inocuidad del mango fresco cortado (Lanciotti y col., 2004).

Compuestos bioactivos obtenidos de frutas y hortalizas están desempeñando un papel muy importante en la salud del consumidor a pesar de que sólo constituyen una parte muy pequeña de los alimentos que se consumen cada día (Martín-Belloso y col., 2007). Dietas que no contienen las cantidades adecuadas de estos compuestos podrían dar lugar a un mayor riesgo de enfermedades crónico-degenerativas (Avello y Suwalsky, 2006). Es de especial relevancia el estudio de dichos compuestos bioactivos con la posibilidad de ser aplicados en productos frescos cortados como aditivos antioxidantes y antimicrobianos, por lo que se considera de alto impacto el que estos aditivos puedan ser obtenidos de los subproductos del mango fresco cortado.

### 2.3 Subproductos en la Industria de Frutas y Hortalizas Frescas Cortadas

Los subproductos del mango fresco cortado representan una fuente de compuestos bioactivos, debido a que presentan propiedades antioxidantes y antimicrobianas.

Esto es un indicador del uso que se les puede dar a los subproductos para generar nuevos productos destinados a la alimentación humana o animal.

El aprovechamiento integral de los productos hortícolas es un requerimiento y a la vez una demanda que deben cumplir los países que desean implementar las denominadas “tecnologías sin residuos”, reduciendo la contaminación y optimizando los procesos agroindustriales (Cerezal y Duarte, 2005). En los últimos años, el sector hortícola ha tenido un crecimiento tanto en superficie como en producción para cumplir con los requerimientos de la demanda mundial de alimentos. Esta intensidad productiva genera una gran cantidad de subproductos vegetales, que se estima alrededor de 800,000 ton/año de materia vegetal fresca, lo que representa un problema ambiental importante (Fernández-Ginés y *col.*, 2008).

Según la Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO), las pérdidas de cosecha y postcosecha de frutas y hortalizas son alrededor de un 50% de la producción total (FAO, 1993). A esto se le suma que los productos hortofrutícolas poseen porciones que no son bien aprovechadas para el consumo humano o animal (Cerezal y *col.*, 1995). Materiales no comestibles de las frutas y hortalizas se componen de cáscaras y semillas (60% del peso del fruto) de diferentes formas y tamaños que normalmente no tienen ningún uso posterior (Cerezal y Duarte, 2005; Cerezal y *col.*, 1995; Larrauri, 1994; Larrauri y Cerezal, 1993). La explotación integral del tejido entero del fruto podría traer beneficios económicos a los productores y reducir el impacto negativo para el medio ambiente, dando lugar a mayor diversidad de productos destinados al uso humano (Cerezal y Duarte, 2005).

Los subproductos resultantes del procesamiento mínimo de manzana, mandarina, papaya, piña y mango, representan del 10-60% del peso del fruto (Flores-Gorosquera y *col.*, 2004). Ayala-Zavala y *col.* (2010), realizaron estudios de rendimiento con diversos frutos cortados, obteniendo porcentajes de subproductos también variables. De la manzana Golden (*Malus domestica*) en rodajas, quedó un 10.9% de subproductos de pulpa y semillas (corazón). La mandarina (*Citrus reticulata*) en gajos, arrojó un residual de 16.1% de cáscara; mientras que de la

papaya Maradol (*Carica papaya*) en cubos, quedó un 6.5% de semillas, 8.5% de cáscara y 32.1% de pulpa no utilizada. La piña Premium Cayena (*Ananas comosus*) en rodajas arrojó subproductos por 9.1% de corazón, 13.5% de cáscara, 14.5% de pulpa y 14.9% de corona. Del mango Kent (*Mangifera indica*) cortado en cubos, hubo residuos de 13.5% de semilla, 11% de cáscara y 17.9% de pulpa no utilizada. Estos subproductos representan una fuente natural de compuestos que pueden ser recuperados para un uso posterior.

## 2.4 Compuestos Bioactivos en los Subproductos del Mango Fresco Cortado

Las dos porciones no comestibles del mango fresco cortado son la cáscara y la semilla, las cuales presentan compuestos bioactivos con potencial antioxidante y antimicrobiano (Cerezal y Duarte, 2005). Por tal motivo, estos subproductos podrían utilizarse en el desarrollo y enriquecimiento de alimentos funcionales.

### **2.4.1 Capacidad antioxidante**

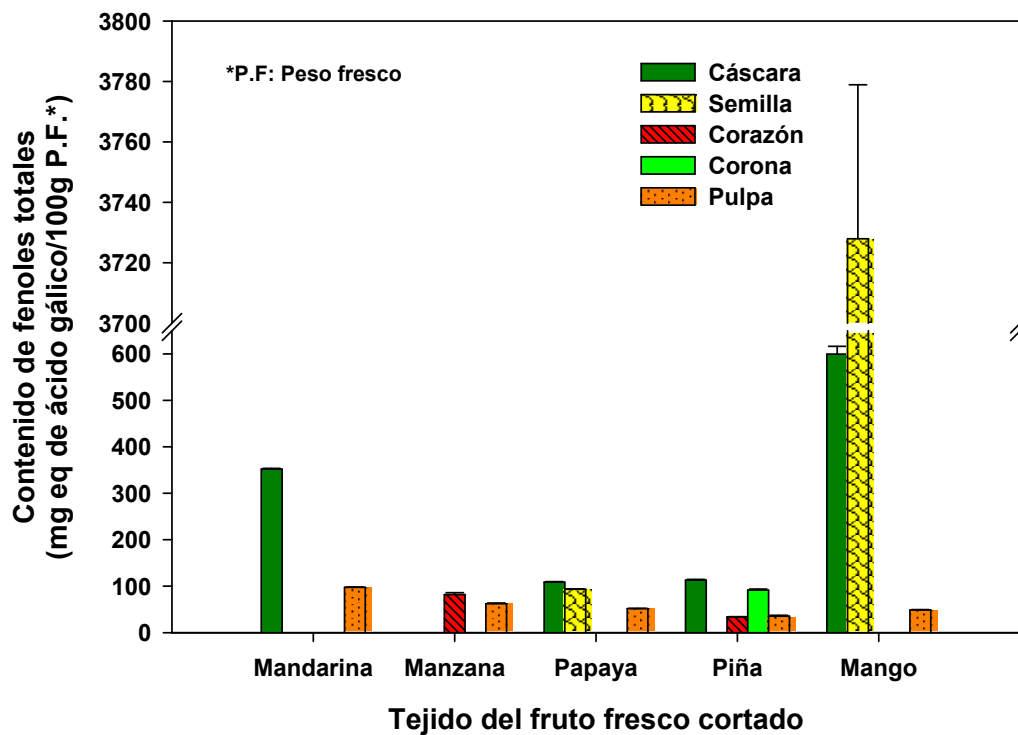
El contenido de antioxidantes en los subproductos depende del producto evaluado (Kunradi-Vieira y *col.*, 2009). La cáscara de algunas frutas ha presentado mayor contenido de compuestos fenólicos que las partes comestibles. Como ejemplo, la cáscara de la granada presenta mayor contenido de compuestos fenólicos, seguida por la mandarina y el mango, como se muestra en el **Cuadro 1**.

El contenido de fenoles totales, flavonoides totales y capacidad antioxidante de subproductos de frutos cortados, fueron analizados con anterioridad (Ayala-Zavala y *col.*, 2010). El contenido de fenoles totales obtenido por el método de Singleton y Rossi (1965), se presenta en la **Figura 2**. El resultado de flavonoides totales que arrojó el método de Zhishen y *col.* (1999), se muestra en la **Figura 3**.

**Cuadro 1.** Contenido de fenoles totales encontrados en diferentes partes de frutos.

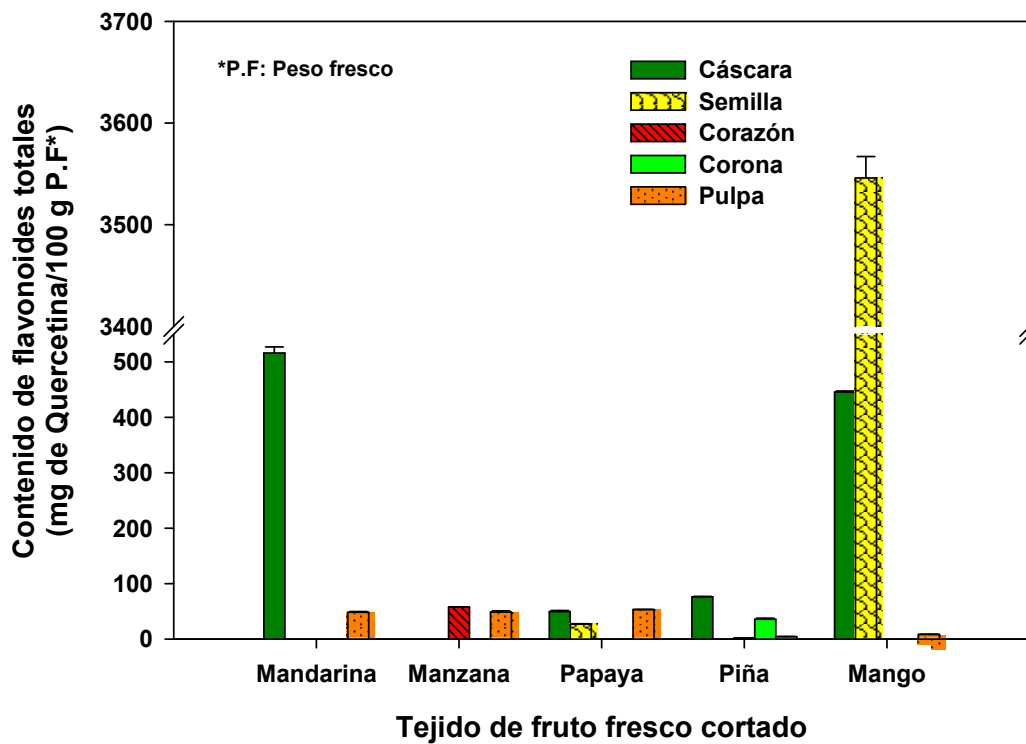
<i>Fruto</i>	<i>Parte del fruto</i>	<i>Compuestos Fenólicos</i> (mg/g peso fresco)	<i>Referencia</i>
Manzana	Cáscara	33.0*	(Wolfe y Liu, 2003)
	Pulpa	118.0*	(Schieber y col., 2003)
Plátano	Cáscara	9.28*	(Someya y col., 2002)
	Pulpa	2.32*	
Uva	Cáscara	52.2	(Bravo y col., 1994)
Guayaba	Cáscara	58.7	(Jimenez-Escrig y col., 2001)
Mandarina	Cáscara	76.4	(Rincon y col., 2005)
Mango	Cáscara	70.0	(Larrauri y col., 1996)
Granada	Cáscara	249.9	(Li y col., 2006)
	Pulpa	24.4	

\* Peso seco



**Figura 2.** Contenido de fenoles totales de productos y subproductos derivados del procesamiento mínimo de frutas.



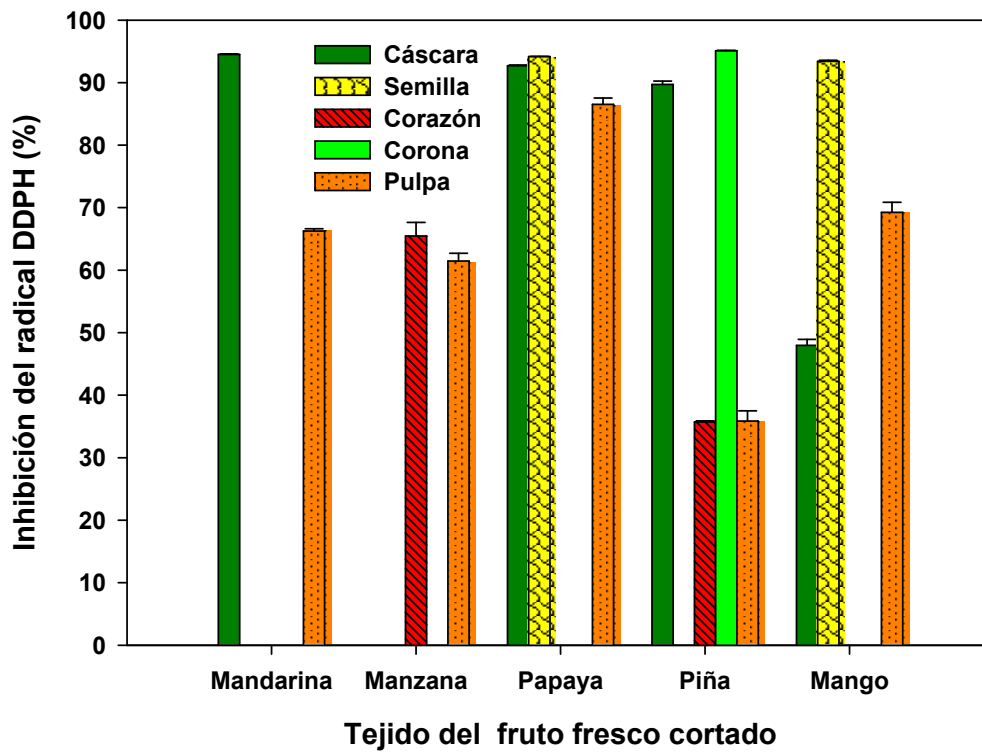


**Figura 3.** Contenido de flavonoides totales de productos y subproductos derivados del procesamiento mínimo de frutas.

En la **Figura 4** se presenta la capacidad antioxidante, aplicando la técnica de inhibición del radical DPPH<sup>•</sup> propuesta por González-Aguilar y *col.* (2007). Los subproductos de la mandarina, manzana, papaya, piña y mango presentaron el mayor contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, siendo más evidente en la cáscara y semilla de mango, debido a que presentaron los valores más altos de los parámetros evaluados. Los fenoles y flavonoides son los principales responsables de la capacidad antioxidante, además de que se les atribuye actividad antimicrobiana (Chen y *col.*, 2008). De ahí que estos subproductos son una fuente potencial de compuestos bioactivos.

Ribeiro y *col.* (2008), realizaron un estudio para determinar el contenido de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu y la capacidad antioxidante por el método de inhibición del radical DPPH<sup>•</sup>, en la cáscara y semilla de mango var. "Ubá". La cáscara presentó un contenido de fenoles totales de 57.24 mg/kg de materia seca y la semilla de 82.54 mg/kg de materia seca, siendo estos valores 4.6 y 7.3 veces mayores que el presente en la pulpa. Además, se encontró que el contenido fenólico en la cáscara de esta variedad de mango fue 3.3 veces mayor que la encontrada en la cáscara de manzana. La cáscara de mango mostró un valor de inhibición del radical DPPH<sup>•</sup> mayor (53.3%) al de la semilla (24.2%). Esta mayor actividad antioxidante en la cáscara se puede atribuir a un contenido más elevado de compuestos antioxidantes que en las otras partes del fruto .

Soong y Barlow (2004), evaluaron la capacidad antioxidante y el contenido fenólico de las semillas de mango, aguacate y tamarindo, usando los métodos ABTS (ácido 2, 2'-azino-bis 3-etilbenzo-tiazolina- 6-sulfónico), FRAP (ensayo del poder antioxidante reductor del ion fierro) y FCR (ensayo de Folin-Ciocalteu). En dicho estudio se encontró que la semilla de mango presenta mayor capacidad antioxidante y contenido fenólico que la semilla de tamarindo y aguacate. Los valores para ABTS fueron de 762, 698 y 236.1  $\mu\text{mol/g}$  de equivalentes de ácido ascórbico, valores de FRAP de 2572, 2486 y 1484  $\mu\text{mol/g}$  y valores de FCR de 117, 94.5 y 88.2 mg/g de equivalentes de ácido gálico para mango, aguacate y tamarindo, respectivamente.



**Figura 4.** Capacidad de inhibición del radical DPPH' de extractos metanólicos de productos y subproductos derivados del procesamiento mínimo de frutas.

Los frutos frescos cortados enriquecidos con compuestos antioxidantes naturales representan una buena opción para desarrollar alimentos funcionales y proporcionar oportunidades para el incremento en el consumo de estos productos nutraceuticos.

#### **2.4.2 Potencial antimicrobiano**

Las infecciones bacterianas y fúngicas representan una amenaza para la salud pública, de ahí la necesidad de encontrar agentes naturales y eficaces contra los microorganismos (Abdalla y col., 2007). El uso de antimicrobianos naturales puede ser una alternativa importante para preservar la calidad microbiológica de los alimentos y garantizar la seguridad del consumidor (Abdalla y col., 2007).

La actividad antimicrobiana de una gran variedad de compuestos fenolicos de ocurrencia natural a partir de diferentes plantas han sido estudiados en detalle (Burt, 2004). Estos compuestos desempeñan un papel importante en la protección contra agentes patógenos, ya que pueden retardar el crecimiento de microorganismos, debido a las cambiantes condiciones ambientales o causar su inhibición al penetrar a la membrana celular de los microorganismos causando lisis (Brul y Coote, 1999; Ejechi y Akpomedaye, 2005). Por ejemplo, algunos compuestos fenolicos presentes en especias, como gingeron, zingerona y capsaicina, presentan capacidad para inhibir la germinación de esporas bacterianas (Burt, 2004). Flavonoides como naringenina, acicloguanosina y el tamoxifeno han sido reportados por mejorar las actividades antibacterianas, antivirales y anti-cancerígenas (Bracke y col., 1999). La ventaja de este efecto sinérgico no es sólo la fuerte actividad, sino también una reducción de estos agentes y menos efectos secundarios.

Algunos compuestos bioactivos presentan además de capacidad antioxidante, actividad antimicrobiana, entre los cuales están los polifenoles del té verde (*Camelia sinensis*), que ejercen una actividad en contra de *Vibrio cholerae* O1, *Streptococcus*

*mutans*, *Shigella*, entre otros. La alicina presente en el ajo actúa contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y otros patógenos (Domingo y López-Brea, 2003). Extractos etanólicos de la semilla de mango han mostrado mayor efectividad contra bacterias Gram-positivas, tales como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus* spp., *Clostridium* spp. y *Listeria monocytogenes*, que contra bacterias Gram-negativas. Esta efectividad se debe a la presencia de compuestos de tipo fenólico (Kabuki y col., 2000). Esto indica el uso potencial en alimentos que se le puede dar a este tipo de compuestos.

Los ingredientes funcionales obtenidos a partir de subproductos de frutos frescos cortados, representan una oportunidad para incrementar la disponibilidad y la comercialización potencial de compuestos con capacidad antioxidante y antimicrobiana. En este contexto, por razones nutricionales, tecnológicas, ecológicas y económicas, se deben utilizar todas las fuentes de alimentos disponibles.

## 2.5 Estado del Arte en la Aplicación de Extractos Bioactivos para la Conservación de Frutos Frescos Cortados

El uso de extractos de plantas para conservar la frescura y calidad de las frutas y hortalizas cortadas, se destacan como una alternativa a los conservadores de síntesis química. Asimismo su utilización en productos frescos cortados podría satisfacer la demanda de los consumidores al obtener frutas y hortalizas frescas, nutritivas y libres de conservadores sintéticos.

Los extractos bioactivos han demostrado ser antioxidantes efectivos. Martín-Diana y col. (2008), evaluaron el extracto de té verde (GT), en sustitución del cloro, como un tratamiento de conservación para la lechuga fresca cortada. Encontrando que concentraciones de 0.5 g/100 mL y 1.0 g/100 mL de GT previenen la pérdida de ácido ascórbico y de carotenoides, retardando el oscurecimiento. Actualmente la industria de procesamiento mínimo está constantemente buscando nuevos

tratamientos para evitar el uso de cloro, que es un estándar hasta el momento. Esto debido a que son bien conocidos sus efectos a la salud humana y contaminación ambiental, de allí la importancia de la búsqueda de alternativas.

Algunos compuestos bioactivos presentan capacidad antimicrobiana. Por ejemplo: la eficacia de recubrimientos comestibles de alginato y gellan han sido combinados con el efecto antimicrobiano de aceites esenciales de plantas (EOs), (limón, orégano, y vainillina) para prolongar la vida útil de manzanas frescas cortadas (Rojas-Graü y col., 2007). Los aceites esenciales poseen fuertes propiedades antibacterianas. Algunos de éstos están conformados por compuestos fenólicos, como el eugenol (clavo, canela), ácido cinámico (guindilla, canela), carvacrol (orégano) y timol (tomillo), lo que hace razonable que su mecanismo de acción y eficacia antimicrobiana sea similar (Burt, 2004; Holley y Patel, 2005). Rojas-Graü y col. (2007), reportaron una reducción de 4 log UFC/g de *Listeria innocua* inoculada en manzana fresca cortada cuando se incorporaron aceites esenciales de limón y orégano en un recubrimiento comestible de alginato. Así, con esta tecnología segura y sencilla, la calidad global (sensorial e inocuidad) de los frutos frescos cortados podría mejorar de manera significativa (Guillen y col., 2007).

Sin embargo, es importante mencionar que son pocos los estudios realizados con los subproductos de mango, especialmente con la var. Haden, para la obtención de extractos ricos en compuestos bioactivos y su aplicación al fruto fresco cortado para mejorar sus propiedades antioxidantes e inocuidad.

### 3. HIPÓTESIS

La capacidad antioxidante e inocuidad del mango fresco cortado (*Mangifera indica* var. Haden), pueden ser mejoradas mediante la aplicación de compuestos fenólicos obtenidos a partir de sus subproductos (cáscara y semilla).

### 4. OBJETIVOS

#### **Objetivo general**

Aumentar la capacidad antioxidante y la protección antimicrobiana de mango fresco cortado (var. Haden), aplicando compuestos fenólicos obtenidos de sus subproductos (cáscara y semilla).

#### **Objetivos específicos**

- ✓ Obtener extractos ricos en compuestos fenólicos con capacidad antioxidante y antimicrobiana, de los subproductos de cáscara y semilla de mango fresco cortado.
- ✓ Identificar y cuantificar los compuestos fenólicos en el extracto con mejores propiedades antioxidantes y antimicrobianas.
- ✓ Evaluar el efecto de la aplicación de los compuestos fenólicos sobre la capacidad antioxidante y población microbiana de mango fresco cortado, almacenado 15 días a 5°C.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 Selección de la Materia Prima

Los mangos var. "Haden" se obtuvieron de un centro comercial de la ciudad de Hermosillo, Sonora. Se seleccionaron por color y libres de defectos físicos, en estado de madurez comercial. Se lavaron con agua clorada (250 ppm) durante 3 min y se secaron a temperatura ambiente. Inicialmente se tomaron muestras al azar para la caracterización fisicoquímica de los frutos (pH, acidez titulable (AT), sólidos solubles totales (SST), firmeza y color).

### 5.2 Caracterización Fisicoquímica

Se realizaron pruebas fisicoquímicas de color ( $L$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), firmeza, AT, pH y SST en los mangos seleccionados al azar, de acuerdo a las técnicas propuestas por la A.O.A.C. (1990) (**Cuadro 2**). Los parámetros de color ( $L$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) fueron medidos en la cáscara y pulpa del fruto utilizando un colorímetro Minolta CR-300 (Sapers y Douglas, 2006). La firmeza (Nw) se midió con un texturómetro Chatillon Mod. DMFM50 con un punzón de 8 mm de diámetro. La AT (% de ácido cítrico) y el pH se determinaron a partir de 10 g de muestra homogenizada en 50 mL de agua destilada, utilizando un titulador automático Mettler (Modelo DL21). Los SST fueron medidos con un refractómetro digital Abbé y los resultados se expresaron en °Brix.



**Cuadro 2.** Caracterización fisicoquímica de mango 'Haden'.

<b>Parámetros evaluados</b>	<b>Valores</b>
SST (%)	12.37± 0.23*
Firmeza (N)	97.66± 0.29
pH	3.42± 0.02
Acidez (% ácido cítrico)	0.77± 0.03
Color cáscara	
L	52.20± 2.27
°Hue	110.74± 5.52
Chroma	44.08± 3.38
Color pulpa	
L	72.42± 1.36
°Hue	94.52± 1.39
Chroma	72.78± 2.79

\*Medias de tres determinaciones ± error estándar (P≤ 0.05).

### 5.3 Procesamiento de Mango Fresco Cortado y Cálculo de Rendimiento

A una muestra de mangos previamente pesados, se les retiró la cáscara y semilla, la pulpa se cortó en cubos de 2 x 2 cm. Para el cálculo de rendimiento se pesó la cantidad de cáscara y semilla, así como la de producto terminado (cubos de pulpa). Los subproductos se utilizaron para la obtención de extractos fenólicos con capacidad antioxidante y antimicrobiana.

#### 5.4 Etapa 1

La etapa 1 consistió en la obtención de extractos ricos en compuestos fenólicos con capacidad antioxidante y antimicrobiana, de los subproductos de cáscara y semilla de mango fresco cortado.

##### **5.4.1 Obtención de extractos ricos en compuestos fenólicos**

Las muestras de subproductos (cáscaras y semillas) y pulpa de mango se pesaron (10 g) y colocaron en recipientes conteniendo 100 mL de etanol:agua (7:3 v/v). Las muestras se dejaron macerar en la oscuridad por 10 días a 25 °C. Después de este tiempo, los extractos se filtraron y el etanol del filtrado se retiró usando un rotavapor a presión reducida y una T de 45 °C. La fracción acuosa se liofilizó, formando el extracto seco, el cual se sometió a una hidrólisis alcalina (10 mL de NaOH 4 M) por 4 h en ausencia de luz. Posteriormente, se realizó una hidrólisis ácida con HCl 4 M hasta alcanzar un pH de 2. En la siguiente etapa, el extracto hidrolizado se sometió a separación de fases mediante 2 lavados con 20 mL de acetato de etilo, obteniéndose dos fracciones: una acuosa (FA) y otra con acetato de etilo (FAE) (Oboh y Rocha, 2007). Se evaporó el acetato de etilo a 35 °C y los extractos se re-suspendieron en

agua deionizada. Se obtuvieron dos extractos de cada subproducto (FA y FAE) con concentración de 25 mg de tejido por mL de agua. El uso de estos solventes para la obtención de los extractos y su uso en alimentos está permitido por la directiva 88/344/EEC de la Unión Europea.

Se utilizó infusión acuosa como un método de extracción alternativo. 1 g de las muestras de subproductos y pulpa liofilizados se mezclaron con 40 mL de agua destilada, la mezcla se llevó a baño maría (100 °C) por 30 min. El extracto crudo se centrifugó a 2,348 x g y 4 °C durante 8 min. Posteriormente se filtró a través de organza, el filtrado obtenido (concentración de 25 mg/mL) se almacenó a -35 °C hasta su uso (Muthuswamy y *col.*, 2008). A los extractos elaborados se les evaluó el contenido de compuestos fenólicos, la capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana.

#### **5.4.2 Contenido de compuestos fenólicos**

El contenido de fenoles totales en cada extracto se determinó de acuerdo al método de Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965) con algunas modificaciones. El extracto (50 µL) se mezcló con 3 mL de H<sub>2</sub>O y 250 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu's 1 N. Después de 8 min de agitación, se adicionaron 750 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (20%) y 950 µL de H<sub>2</sub>O y se agitó nuevamente e incubó por 30 min a temperatura ambiente. Después de la incubación, se leyó la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro UV-Visible Varian (Cary 50 Bio, Varian, Italia). Se preparó una curva de calibración de ácido gálico (1 mg/mL de metanol 80%), reportando los resultados como mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/g de extracto (peso seco).

La determinación de flavonoides totales se realizó por el método descrito por Zhishen y *col.* (1999), con algunas modificaciones. 1 mL de cada extracto se mezcló con 4 mL de H<sub>2</sub>O y 300 µL de NaNO<sub>2</sub> al 5% y se dejó reposar durante 5 min. Posteriormente se adicionaron 300 µL de AlCl<sub>3</sub> al 10% y se dejó reposar por 1 min.

Se adicionaron 2 mL de NaOH y 2.4 mL de H<sub>2</sub>O y se agitó. Se leyó la absorbancia a 415 nm en un espectrofotómetro UV-Visible (Cary 50 Bio, Varian, Italia). La absorbancia de cada muestra se comparó con una curva estándar de quercetina. Los resultados se expresaron como mg de equivalentes de quercetina (EQ)/g de extracto (peso seco).

#### **5.4.3 Prueba de inhibición del radical estable DPPH'**

La capacidad de los extractos para inactivar al radical estable DPPH' (2,2-difenil-1-picril-hidracilo) se calculó de acuerdo al método propuesto por González y *col.* (2007). Se tomó una alícuota de 3.9 mL de una solución 0.0634 mM de DPPH' en metanol y se agregó en 0.1 mL de cada extracto. La mezcla se agitó en un vortex y dejó reposar durante 30 min en la oscuridad. Se leyó la absorbancia de las muestras en un espectrofotómetro UV-Visible (Cary 50 Bio, Varian, Italia) a 515 nm. Los resultados se expresaron como la concentración eficiente (mg/mL) para inactivar al radical en un 50% (EC<sub>50</sub>).

#### **5.4.4 Prueba de capacidad de absorción de radicales oxígeno**

Se siguió la metodología ORAC (capacidad de absorción de radicales oxígeno) empleando fluoresceína como marcador fluorescente. Este análisis midió el efecto protector que ejercen los antioxidantes de los extractos de los subproductos sobre el marcador fluorescente, el cual al verse expuesto al ataque de radicales peroxilos generados por el AAPH [ácido 2,2' -azo-bis (2-amidinopropanol)] tiende a disminuir (Ayala-Zavala y *col.*, 2007). Se evaluaron diferentes diluciones de Trolox (análogo hidrosoluble de la vitamina E) (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carboxílico) (200 µM – 12.5 µM) y de los extractos de los subproductos. Se mezclaron por triplicado: 150 µL de una solución 10nM de fluoresceína, 25 µL de

Trolox (como estándar), 25  $\mu\text{L}$  de la dilución de la muestra (representando la muestra) y 25  $\mu\text{L}$  de buffer de fosfatos (pH 7) (representando el blanco). Las microplacas fueron selladas e incubadas durante 30 min a 37 °C. Después de la incubación, se leyó la fluorescencia cada 9 s dentro de los parámetros fluorométricos de emisión a 520 nm y excitación a 485 nm. Después de 3 ciclos, se agregaron manualmente con una pipeta multicanal 25  $\mu\text{L}$  (240 mM) de AAPH. La prueba se reanudó y las medidas de fluorescencia se tomaron hasta los 90 min. Los valores de ORAC se calcularon en base al área de protección neta de los extractos sobre la fluoresceína, en comparación con el blanco y el estándar. Los resultados se expresaron como  $\mu\text{moles}$  equivalentes de Trolox/g de extracto (peso seco)

#### **5.4.5 Capacidad antioxidante equivalente Trolox (TEAC)**

Este método se basa en la capacidad de los antioxidantes para inactivar el radical  $\text{ABTS}^{+\cdot}$  (Re y *col.*, 1999). El radical catión  $\text{ABTS}^{+\cdot}$  se generó por interacción de 5 mL de una solución 7mM de ABTS y 88  $\mu\text{L}$  de una solución 0.139 mM de  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ . Se adicionaron 2970  $\mu\text{L}$  de  $\text{ABTS}^{+\cdot}$  a 30  $\mu\text{L}$  de extracto, se monitoreó la absorbancia a 734 nm en un espectrofotómetro UV-Visible (Cary 50 Bio, Varian, Italia) al minuto 1 y 6 después del mezclado inicial. Se reportó el porcentaje de disminución de la absorbancia a 734 nm. Los datos generados se reportaron como  $\mu\text{moles}$  de equivalentes Trolox (ET)/g de extracto (peso seco).

#### **5.4.6 Capacidad de inhibición de hemólisis causada por radicales peroxilo**

La capacidad antioxidante de los extractos se midió como la inhibición de la hemólisis de eritrocitos (Barros y *col.*, 2007). Los eritrocitos se purificaron a partir de sangre humana de un adulto sano. Se pusieron en contacto 0.1 mL de una solución de eritrocitos al 20% en buffer de fosfatos salino (10mM) pH 7.4 con 0.2 mL de AAPH

[2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride] como generador de radicales peróxido. En la reacción se agregaron 0.1 mL de diferentes concentraciones de los extractos y se incubó a 37 °C en un baño con agitación (30 rpm) durante 3 h. La mezcla de la reacción se diluyó con 8 mL de buffer de fosfatos salino y se centrifugó a 3000 x g por 10 min. Se midió la absorbancia del centrifugado a 540 nm en un espectrofotómetro UV-Visible (Cary 50 Bio, Varian, Italia). El porcentaje de inhibición de hemólisis se calculó en base a la siguiente ecuación: % de inhibición de hemólisis =  $[(A_{AAPH} - A_S) / A_{AAPH}] \times 100$ , donde  $A_S$  es la absorbancia de la muestra conteniendo los extractos y  $A_{AAPH}$  la absorbancia de la muestra sin los extractos. La concentración de cada uno de los extractos evaluados que fue eficiente en inhibir el 50% de hemólisis se calculó de una gráfica de porcentaje de inhibición de hemólisis contra concentración de extracto.

#### **5.4.7 Capacidad antifúngica**

Se evaluó el potencial antifúngico de los extractos contra *Alternaria alternata* usando el método de inoculación central, incorporando los extractos en agar. Se utilizaron las concentraciones de 0 y 6.25 mg/mL de cada extracto, los cuales se agregaron a cajas petri conteniendo agar papa dextrosa, y se inocularon en el centro con el hongo. Las placas se incubaron durante 5 días a 25 °C. Los controles consistieron en placas con agar sin adición de extractos, e inoculadas con el hongo. Se midió el crecimiento micelial (cm<sup>2</sup>) por triplicado, mediante el análisis de las imágenes digitales de las placas usando el software ImageTool versión 3.0. Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Alternaria alternata* al día 5.

#### **5.4.8 Capacidad antibacteriana**

Se determinó la capacidad antibacteriana contra las cepas de *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43890, *Salmonella choleraesuis* ATCC 14028, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 y *Staphylococcus aureus* ATCC 65384. Se transfirió un asa (~20 µL) de cada bacteria a tubos conteniendo 10 mL de caldo soja tripticasa y se incubaron a 37 °C durante 24 h. Se partió del inóculo con  $1 \times 10^8$  UFC/mL con el cual se realizaron diluciones hasta tener una población de  $1 \times 10^6$  UFC/mL, de la cual se transfirió 1 mL a tubos conteniendo 1 mL de caldo Mueller Hinton y 1 mL de extracto (25 mg/mL). Se preparó un tubo control el cual no contenía extracto. Se cultivó 0.001 mL del contenido de cada tubo en placas con agar Mueller Hinton. Los tubos y placas se incubaron a 37 °C durante 24 h. Transcurrido este tiempo se contaron las colonias de las placas y los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición comparado con los controles.

#### **5.4.9 Análisis estadístico**

El diseño experimental para las variables de respuesta: contenido de compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y antibacteriana, consistió en un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3x3, en el cual los factores son 3 (tejidos con tres niveles=cáscara, semilla y pulpa; extractos con tres niveles= FA, FAE e infusión). El diseño para la capacidad antifúngica consistió en un arreglo factorial 2x3x2, en el cual los factores son 3 (tejidos con dos niveles=cáscara y semilla; extractos con tres niveles=FA, FAE e infusión; y concentraciones con dos niveles= 0 y 6.25 mg/mL). Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para estimar diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre los tratamientos y se aplicó la prueba de comparación de medias por el método de Tukey-Kramer. Se utilizó el software NCSS (2001).

## 5.5 Etapa 2

La etapa 2 consistió en identificar los compuestos fenólicos presentes en el extracto que presentó el mayor contenido de compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y antimicrobiana. Así como evaluar el efecto de la aplicación dicho extracto sobre la capacidad antioxidante y población microbiana de mango fresco cortado.

### **5.5.1 Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos en el extracto**

La identificación y cuantificación de compuestos fenólicos se realizó por la técnica de cromatografía líquida de alta resolución con un detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD). Se utilizó un equipo HP (1100), con una bomba cuaternaria HP acoplado a un detector de arreglo de diodos a las longitudes de onda de 280 y 320 nm, el equipo se controló con el programa ChemStation para la adquisición y análisis de datos. Las corridas analíticas se realizaron con una columna nucleosil 120 C-18 con dimensiones de 25 x 0.4 cm, con un tamaño de partícula de 5 micras. Las fases móviles utilizadas fueron: Ácido fórmico 1% (A) y acetonitrilo 100% (B), con un gradiente escalonado iniciado con 98% de ácido fórmico y 2% de acetonitrilo, alcanzando el 100% de acetonitrilo en 60 min a un flujo de 0.5 mL/min. El tiempo de corrida fue de 75 min y el volumen de inyección de 20 µL de muestra (0.3 mg) (Simirgiotis y *col.*, 2009). La identificación se realizó por la comparación de espectros UV, utilizando una base de datos previamente realizada con sustancias de referencia. La cuantificación se realizó utilizando curvas estándar de los compuestos correspondientes y se reportó como mg del compuesto/g de peso seco.



### 5.5.2 Aplicación del extracto

Se procesó mango var. "Haden", en cubos de 2 x 2 cm y se separó en dos lotes: control y tratado con el extracto que presentó el mayor contenido de compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y antimicrobiana. La aplicación del extracto se realizó por inmersión de 100 g de cubos de mango durante 2 min y posteriormente se secaron por 30 s a temperatura ambiente. Ambos lotes: control y tratamiento se colocaron en charolas de plástico y se almacenaron a 5 °C durante 15 días. Los muestreos se realizaron cada 5 días para evaluar el efecto del extracto aplicado sobre el contenido de compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y población microbiana en el mango fresco cortado.

La extracción de los compuestos fenólicos se realizó a partir de 10 g de mango tratado con el extracto, se homogenizó por 30 s con 20 mL de metanol al 80%. El homogenizado se sonicó 30 min a 1 °C, centrifugó (centrifuga Beckman Coulter, Allegra 64R) a 1,200 x g por 15 min a 4 °C y filtró. Este procedimiento se repitió dos veces más con un volumen de 10 mL de metanol al 80%, y el volumen de los sobrenadantes se juntó y llevó a un volumen de 40 mL, obteniéndose extractos con una concentración de 0.25 g/mL. A dichos extractos se les evaluó el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante.

Para evaluar el efecto del extracto aplicado sobre crecimiento microbiano, se tomaron 10 g de muestra (lotes: control y tratado), el tejido se diluyó 1:9 en una solución de agua peptonada y se homogenizó por 10 min, subsecuentemente se realizaron diluciones decimales. Cada dilución fue utilizada por duplicado para evaluar diferentes microorganismos. El conteo de mesófilos aerobios se realizó incubando las placas inoculadas e incorporadas con agar cuenta total durante 48 h a 35 °C. Los hongos y levaduras se incubaron durante 5 días a 25 °C utilizando agar papa dextrosa. Transcurrido este tiempo se contaron las colonias y se reportó como unidades formadoras de colonia por gramo de muestra (UFC/g).

### **5.5.3 Análisis Estadístico**

El diseño experimental de esta etapa, consistió en un diseño en bloques completamente al azar, en donde los factores fueron los tratamientos y el tiempo, el cual se bloqueo para ver el efecto de los tratamientos sobre el contenido de compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y antimicrobiana. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para estimar diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre los tratamientos y se aplicó la prueba de comparación de medias por el método de Tukey-Kramer. Se utilizó el software NCSS (2001).

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Rendimiento de Mango 'Haden'

Los subproductos del mango fresco cortado se componen de cáscaras, semillas y pulpa sin utilizar, los cuales representan alrededor del 40% del peso del fruto, mientras que el 60% está dado por el producto final en forma de cubos (**Cuadro 3**). Autores como Berardini y *col.* (2005), han reportado que el procesamiento industrial de mango genera de un 33-85% de pulpa, 7-24% de cáscara y 9-40% de semilla, lo cual depende de la variedad de mango y el tipo de producto a elaborar con la pulpa. Además, estos resultados son un indicativo del alto porcentaje de subproductos que arroja el procesamiento mínimo de mango, los cuales generalmente no tienen ningún uso posterior.

Estudios previos han demostrado que varios tipos de frutos frescos cortados como la manzana, mandarina, papaya, pina y mango, producen cantidades variables de subproductos (10-85%), los cuales incluso exceden la cantidad del producto principal (Ayala-Zavala y *col.*, 2010). Hay que destacar las considerables cantidades de subproductos que se derivan del procesamiento mínimo y la posibilidad de crear alternativas para su uso y dar valor agregado a estos materiales de desecho.

### 6.2 Etapa 1: Obtención y Caracterización de Extractos

#### **6.2.1 Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante**

El **Cuadro 4** presenta el contenido de fenoles y flavonoides totales en extractos obtenidos de los subproductos de mango 'Haden'. Se encontró efecto significativo

**Cuadro 3.** Rendimiento en el procesamiento mínimo de mango 'Haden', expresado como porcentaje en relación al peso total del fruto.

<b>Parte del fruto</b>	<b>Rendimiento (%)</b>
Cáscara	13.0 ± 0.58*
Semilla	11.0 ± 1.15
Pulpa NO utilizada	15.33 ± 0.58
Producto final (cubos)	60.67 ± 1.15

\*Medias de tres determinaciones ± error estándar (P≤ 0.05).

**Cuadro 4.** Contenido de fenoles y flavonoides totales en extractos obtenidos de los subproductos de mango 'Haden'.

<b>Extracto 25 mg/mL</b>	<b>Fenoles totales (mg EAG/g p.s.)</b>	<b>Flavonoides totales (mg EQ/g p.s.)</b>
<b><i>Semilla</i></b>		
Infusión	116.1337 <sup>c*</sup>	66.5667 <sup>c</sup>
FA	251.826 <sup>b</sup>	77.6443 <sup>b</sup>
FAE	875.0630 <sup>a</sup>	164.5662 <sup>a</sup>
<b><i>Cáscara</i></b>		
Infusión	41.8604 <sup>d,e</sup>	29.2206 <sup>d</sup>
FA	65.7197 <sup>c,d</sup>	46.5705 <sup>c</sup>
FAE	81.2418 <sup>c,d</sup>	34.8533 <sup>c</sup>
<b><i>Pulpa</i></b>		
Infusión	2.8062 <sup>e</sup>	0.4326 <sup>e</sup>
FA	3.6837 <sup>e</sup>	1.1192 <sup>e</sup>
FAE	2.0995 <sup>e</sup>	1.0697 <sup>e</sup>

\*Diferente literal dentro de una misma columna indica diferencia significativa entre las medias de los factores ( $P \leq 0.05$ ).

FA: fracción acuosa; FAE: fracción acetato de etilo.

( $P \leq 0.05$ ) del factor tejido, extracto y de la interacción tejido-extracto, sobre el contenido de compuestos fenólicos. Presentando el extracto FAE obtenido de la semilla de mango, los valores más altos en el contenido de fenoles y flavonoides totales con valores de 875.06 mg EAG/g p.s. y 164.56 mg EQ/g p.s. respectivamente, seguido del FA e infusión del mismo tejido, siendo estadísticamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ) entre ellos. No se encontraron diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ) entre los extractos FA y FAE de la cáscara, pero sí de estos con el resto. Los extractos obtenidos de la pulpa de mango fueron los que presentaron los valores más bajos de fenoles y flavonoides totales, los cuales no presentaron diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ) entre ellos, pero sí con el resto de los extractos.

La capacidad antioxidante de los extractos obtenidos de los subproductos de mango, evaluada por los métodos DPPH<sup>\*</sup>, TEAC, ORAC e inhibición de hemólisis se presenta en el **Cuadro 5**. Se puede observar que se encontró efecto significativo ( $P \leq 0.05$ ) del factor tejido, extracto y de la interacción tejido-extracto, sobre la capacidad antioxidante. Al igual que para el contenido de compuestos fenólicos, el extracto FAE obtenido de la semilla de mango fue el que presentó la mayor capacidad antioxidante con valores de 0.0401 mg/mL, 272.41 mmol ET/g p.s., 6.22 mmol ET/g p.s. y 48.44% correspondientes para los métodos de DPPH<sup>\*</sup>, TEAC, ORAC e inhibición de hemólisis, respectivamente, seguido del extracto FA e infusión. Se encontró que los extractos obtenidos de la pulpa no alcanzaron el 50% de la inhibición del radical DPPH<sup>\*</sup>, por lo cual dichos resultados se expresaron como porcentaje de inhibición de dicho radical y únicamente se compararon entre ellos. El extracto FAE de la pulpa mostró el mayor porcentaje de inhibición (44.87%), seguido del extracto FA y de la infusión, siendo estadísticamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ) entre ellos. No se encontraron diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ) para el resto de las pruebas de capacidad antioxidante en los extractos de este tejido.

De manera general se observó una correlación positiva entre el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, puesto a que son a este tipo de

**Cuadro 5.** Capacidad antioxidante de extractos obtenidos de los subproductos de mango 'Haden'.

<b>Extracto</b>	<b>DPPH (EC<sub>50</sub> mg/mL)</b>	<b>TEAC (mmol ET/g)</b>	<b>ORAC (mmol ET/g)</b>	<b>Inhibición de hemólisis (%) [0.52 mg/mL]</b>
<b><i>Semilla</i></b>				
Infusión	0.8000 <sup>b**</sup>	24.3552 <sup>c</sup>	0.8333 <sup>c,d</sup>	26.7599 <sup>d</sup>
FA	0.2438 <sup>a</sup>	89.0919 <sup>b</sup>	2.3653 <sup>b</sup>	45.3549 <sup>a,b</sup>
FAE	0.0401 <sup>a</sup>	272.4168 <sup>a</sup>	6.2297 <sup>a</sup>	48.4422 <sup>a</sup>
<b><i>Cáscara</i></b>				
Infusión	2.3000 <sup>c</sup>	4.9034 <sup>e</sup>	0.2666 <sup>c,d</sup>	26.2409 <sup>d</sup>
FA	0.9572 <sup>b</sup>	19.8293 <sup>d</sup>	1.0795 <sup>c</sup>	39.8943 <sup>b,c</sup>
FAE	0.8788 <sup>b</sup>	17.3061 <sup>d</sup>	0.4020 <sup>c,d</sup>	34.6668 <sup>c</sup>
<b><i>Pulpa</i></b>				
Infusión	*19.8200 <sup>c</sup>	0.1399 <sup>f</sup>	0.0242 <sup>d</sup>	25.6165 <sup>d</sup>
FA	*36.1350 <sup>b</sup>	0.3257 <sup>f</sup>	0.0533 <sup>d</sup>	35.7236 <sup>c</sup>
FAE	*44.8750 <sup>a</sup>	0.0024 <sup>f</sup>	0.0266 <sup>d</sup>	37.6440 <sup>c</sup>

\*Reportado como % de inhibición del radical DPPH\*.

\*\*Diferente literal dentro de una misma columna indica diferencia significativa entre las medias de los factores ( $P \leq 0.05$ ).

FA: fracción acuosa; FAE: fracción de acetato de etilo.

compuestos a los que se les atribuye dicha capacidad antioxidante en el mango (Ribeiro y *col.*, 2008). Las correlaciones entre el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante evaluada por los métodos DPPH (EC<sub>50</sub>), ORAC, TEAC e inhibición de hemólisis, fueron de: -0.4037, 0.9674, 0.9987 y 0.6509, respectivamente. Por otra parte se encontraron correlaciones de: -0.5476, 0.7586, 0.8111 y 0.5075 entre el contenido de flavonoides totales y la capacidad antioxidante evaluada por los métodos DPPH (EC<sub>50</sub>), ORAC, TEAC e inhibición de hemólisis, respectivamente.

Se encontró que los subproductos, principalmente las semillas presentan el mayor contenido antioxidante. Esto puede deberse a que la función de la semilla es preservar la especie, razón por la cual, es necesaria una mayor concentración de compuestos fenólicos en este tejido. Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios que actúan como sistema de defensa ante factores de estrés (condiciones ambientales desfavorables), a los cuales puede verse sometida la semilla durante las etapas de germinación y desarrollo. Por otra parte, se observó que los extractos etanólicos presentaron la mayor capacidad antioxidante comparado con la infusión acuosa, debido a que se ha reportado (Qian y *col.*, 2004) que la capacidad antiradical incrementa conforme disminuye la polaridad del solvente.

Estudios previos han demostrado que el contenido de compuestos fitoquímicos y capacidad antioxidante, es mayor en las cáscaras y semillas que en los tejidos comestibles. Así, se ha reportado que el contenido de fenoles totales en las cáscaras de limones, naranjas y pomelos fue 15% mayor que el de la pulpa de estas frutas (Gorinstein y *col.*, 2001). Por otra parte, Li y *col.* (2006), reportaron que la cáscara de granada presentó 249.9 mg EAG/g p.f., valor superior al de la pulpa con 24.4 mg EAG/g p.f. Se analizaron ocho variedades de durazno y se encontró que las cáscaras presentaron 2-2.5 veces mayor contenido de compuestos fenólicos que el de la fracción comestible (Chang y *col.*, 2000). Cáscaras de manzanas, peras y nectarinas contienen el doble de compuestos fenólicos que la presente en la pulpa de las frutas (Gorinstein y *col.*, 2001). Soong y Barlow (2004), evaluaron la capacidad

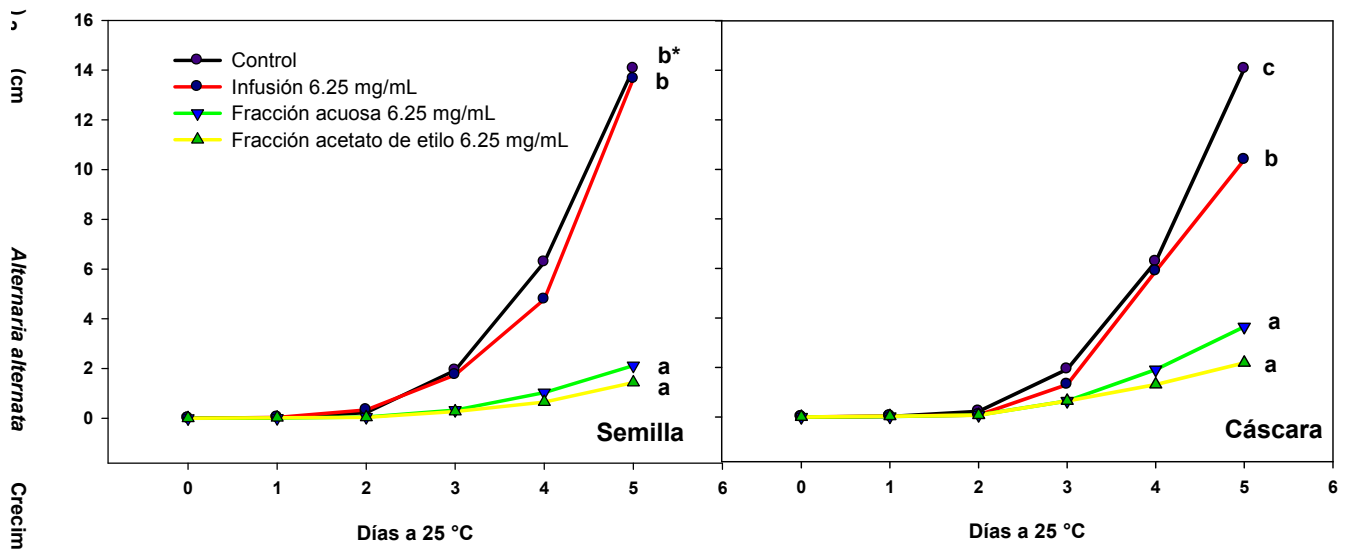


antioxidante y el contenido fenólico de las semillas de mango, aguacate y tamarindo, en dicho estudio se encontró que la semilla de mango presentó mayor capacidad antioxidante y contenido fenólico de las semillas analizadas, y que todas estas presentaron los valores más altos de los parámetros evaluados que sus fracciones comestibles.

### 6.2.2 Capacidad antimicrobiana

La **Figura 5** muestra la actividad antifúngica contra *Alternaria alternata* de los extractos fenólicos obtenidos de los subproductos de mango fresco cortado. Se encontró efecto significativo ( $P \leq 0.05$ ) del factor tejido, extracto, concentración, de las interacciones dobles y triples (tejido-extracto-concentración), sobre la capacidad antifúngica. Los extractos FA y FAE de la semilla y cáscara de mango a la concentración de 6.25 mg/mL fueron los que presentaron los porcentajes de inhibición más altos contra *Alternaria alternata* con valores de 89 y 84% para los extractos FAE y FA de la semilla y 85 y 74% para los extractos FAE y FA de la cáscara, respectivamente, no encontrándose diferencias significativas entre ellos, pero si con el resto de los extractos. Las infusiones de semilla y cáscara (6.25 mg/mL) presentaron los menores porcentajes de inhibición con valores de 3 y 27% respectivamente ( $P \geq 0.05$ ). Estos resultados concuerdan con los de extractos etanólicos FAE de la semilla de mango 'Tommy Atkins' y cáscara de mango 'Ataulfo', los cuales presentaron porcentajes de inhibición en el crecimiento micelial de *Alternaria alternata* de 52.09 y 64.01%, respectivamente (Vega-Vega y col., 2011).

Estudios realizados por Ozcan y Chalchat (2006), reportaron que el aceite esencial de anís (0.07 mg/mL) presentó un porcentaje de inhibición en el crecimiento micelial de *Alternaria alternata* del 50%, valor inferior a los obtenidos en el presente estudio, esto puede deberse a que la concentración utilizada del aceite esencial fue menor. Se han encontrado varios sitios de acción de los compuestos antifúngicos en



**Figura 5.** Actividad antifúngica contra *Alternaria alternata* de los extractos fenólicos obtenidos de los subproductos de mango fresco cortado. \*Diferente literal indica diferencia significativa entre las medias de los factores ( $P \leq 0.05$ ).

la célula de los hongos. Entre ellos se incluyen a la membrana celular, pared celular, enzimas metabólicas, síntesis de proteínas y el sistema genético, todos ellos estratégicos para la supervivencia de estos microorganismos y cualquier acción sobre ellos puede inactivar a la célula microbiana (Conner, 1993). Su mecanismo de acción depende de las concentraciones utilizadas en los alimentos, causando la inhibición o inactivación de los hongos (Delaquis y *col.*, 2002).

El **Cuadro 6** presenta la capacidad antibacteriana contra las cepas de *E. coli* O157:H7, *Salmonella choleraesuis*, *L. monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* de los extractos fenólicos obtenidos de los subproductos de mango fresco cortado. Se encontró efecto significativo ( $P \leq 0.05$ ) del factor tejido, extracto y de la interacción tejido-extracto. Los extractos FA y FAE de las cáscaras y semillas, así como el extracto FA de la pulpa, presentaron los mayores porcentajes de inhibición contra las bacterias, no encontrándose diferencias significativas entre ellos, pero sí con el resto de los extractos. La mayoría de los extractos presentó valores cercanos al 100% de inhibición, observándose mayor efectividad contra las bacterias Gram-positivas (*L. monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*) que contra las Gram-negativas (*E. coli* O157:H7 y *Salmonella choleraesuis*). Resultados similares, fueron reportados por Kabuki y *col.* (2000), con extractos de semilla de mango, al igual que Hegggers y *col.* (2002), con extractos de semillas de uva, presentando que dichos extractos fueron más efectivos contra las bacterias Gram-positivas que contra Gram-negativas. Esto es debido a las diferencias en la estructura de la envoltura celular de dichas bacterias, incluyendo pared y membrana celular (Hugo y Russell, 1987).

Se ha encontrado que extractos etanólicos de canela (1 a 2% p/v) y aldehído cinámico (2 mM) inhibieron el crecimiento de *E. coli* O157:H7 y *L. innocua in vitro* (Muthuswamy y *col.*, 2008). Catequina, ácido clorogénico y floridzina, tres compuestos fenólicos que son abundantes en los subproductos de manzana, exhibieron diferentes grados de inhibición contra el crecimiento de microorganismos patógenos, bacterias alterantes de alimentos, hongos y levaduras (Muthuswamy y Rupasinghe, 2007).

**Cuadro 6.** Porcentajes de inhibición de extractos obtenidos de los subproductos de mango 'Haden' sobre cepas bacterianas.

<b>Extracto 25 mg/mL</b>	<b><i>Escherichia coli</i> O157:H7</b>	<b><i>Salmonella</i> <i>choleraesuis</i></b>	<b><i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i></b>	<b><i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i></b>
<b><i>Semilla</i></b>				
Infusión	96.5 <sup>a*</sup>	74.8 <sup>d</sup>	79.3 <sup>b,c</sup>	83.4 <sup>c</sup>
FA	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
FAE	84.5 <sup>b</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
<b><i>Cáscara</i></b>				
Infusión	80.4 <sup>c</sup>	80 <sup>c</sup>	80 <sup>a,b</sup>	92 <sup>b</sup>
FA	99.4 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
FAE	99.9 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
<b><i>Pulpa</i></b>				
Infusión	62.3 <sup>d</sup>	74.6 <sup>d</sup>	66.2 <sup>c</sup>	69.7 <sup>d</sup>
FA	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
FAE	99.0 <sup>a</sup>	96.2 <sup>b</sup>	90.3 <sup>a,b</sup>	93.9 <sup>b</sup>

\*Diferente literal dentro de una misma columna indica diferencia significativa entre las medias de los factores ( $P \leq 0.05$ ).

FA: fracción acuosa; FAE: fracción acetato de etilo.

El mecanismo antimicrobiano de los compuestos fenólicos, aún no ha sido bien elucidado. Sin embargo, se ha sugerido que estos compuestos pueden causar cambios en la membrana a través de la interacción con los grupos carboxílicos de los aminoácidos hidrofílicos de las proteínas de la membrana celular, alterando de esta manera su permeabilidad. Lo cual trae consigo una alteración del pH y potencial eléctrico, causando la salida de protones al exterior de la célula. Por lo tanto, se produce una coagulación del citoplasma acompañado de la pérdida normal del metabolismo celular, y por ende la muerte de esta (Raybaudi-Massilia y *col.*, 2009).

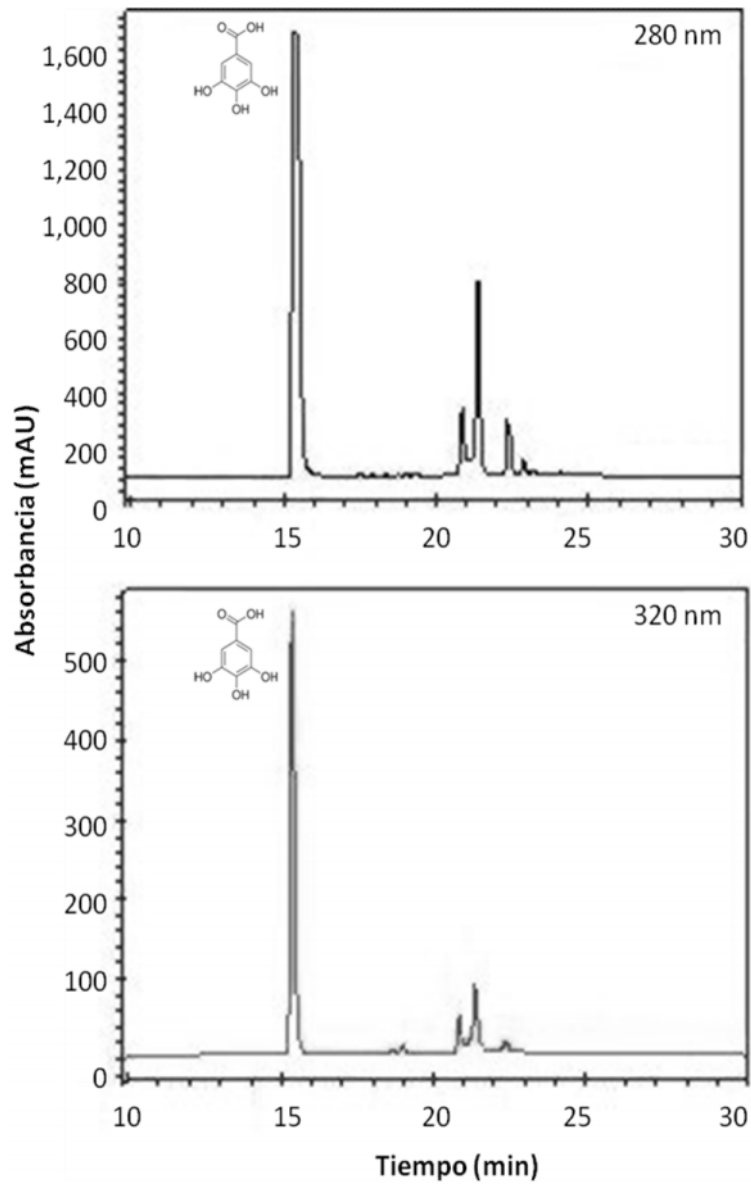
### 6.3 Etapa 2: Aplicación del Extracto FAE

El extracto que mostró el mayor contenido de compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y antimicrobiana en la etapa anterior, fue el extracto FAE obtenido de la semilla de mango. Por lo tanto, es el que se sometió a la identificación y cuantificación de compuestos fenólicos y el que se aplicó como tratamiento al mango fresco cortado.

#### **6.3.1 Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos**

En la **Figura 6** se puede observar el cromatograma correspondiente al extracto FAE obtenido de la semilla de mango. Se encontraron 3 compuestos, de los cuales se identificó uno de ellos, correspondiente al ácido gálico como componente principal, en una concentración de 586.68 mg/g p.s. y con un tiempo de retención de 15.07 min.

Estudios previos realizados por Abdalla y *col.* (2007), reportaron que extractos metanólicos obtenidos de la semilla de mango egipcio contienen diferentes compuestos fenólicos, como taninos (20.7 mg/100 g) y vainillina (20.2 mg/100 g).



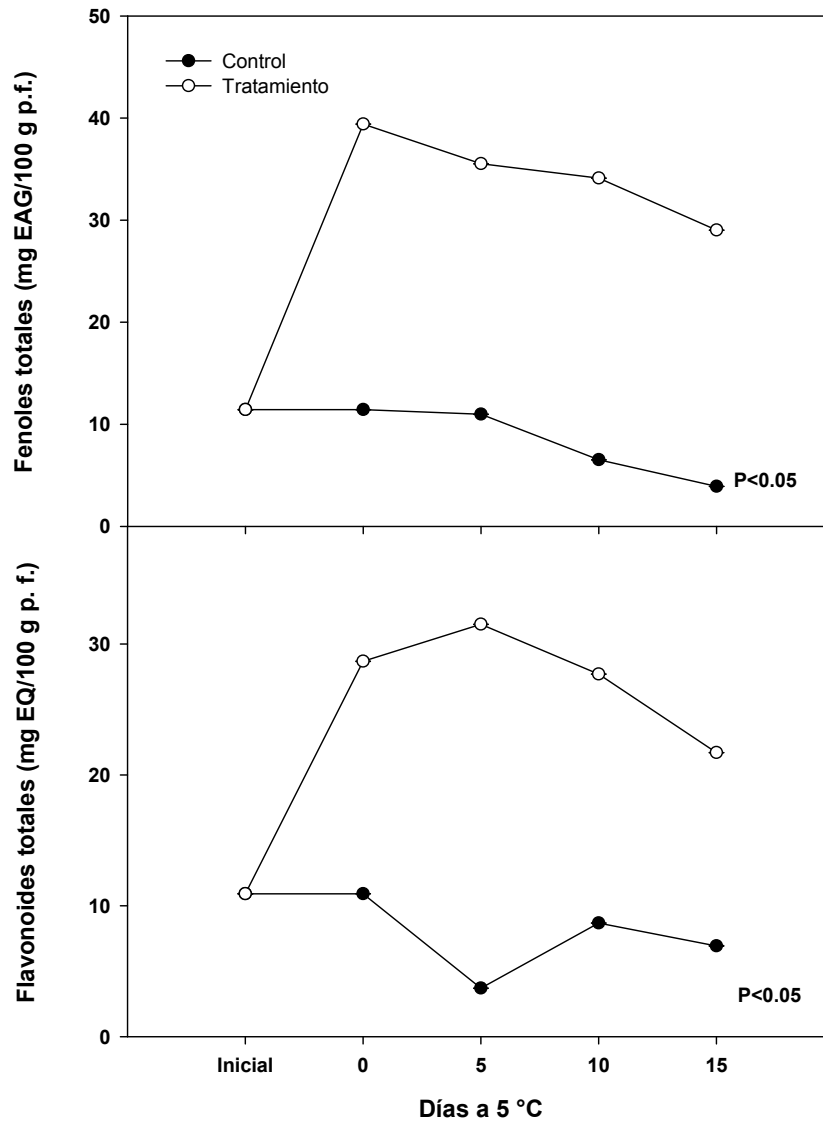
**Figura 6.** Compuestos fenólicos del extracto FAE de la semilla de mango 'Haden'. Cromatograma de fase reversa a 280 y 320 nm.

Además, se encontró ácido gálico (6.0 mg/ 100 g), ácido cumárico (12.6 mg/100 g), ácido cafeico (7.7 mg/100 g), mangiferina (4.2 mg/100 g), ácido ferulico (10.4 mg/100 g), ácido cinámico (11.2 mg/100 g) y compuestos no identificados (7.1 mg/100 g). Puravankara y *col.*, (2000) identificaron seis compuestos fenólicos en extractos de la semilla de mango, principalmente ácido gálico, elágico y galatos. Mientras que Arogba y *col.*, (2000) reportaron la presencia de galotaninos y taninos condensados.

Las diferencias en composición presentadas entre los extractos reportados por la literatura y el del presente estudio pueden deberse a la variedad y estado de madurez del fruto utilizado, así como la forma de obtención de dichos extractos. Un factor importante, es el solvente utilizado para la extracción de los compuestos fenólicos, debido a que solventes con diferente polaridad extraen diferentes compuestos en cantidades variables (Chen y *col.*, 2011). Otro factor a tomar en consideración es la hidrólisis con ácidos y bases (Chung y *col.*, 1998), paso que se realizó para la elaboración del extracto FAE, en donde los taninos presentes en la semilla de mango se hidrolizaron a compuestos más simples como el ácido gálico.

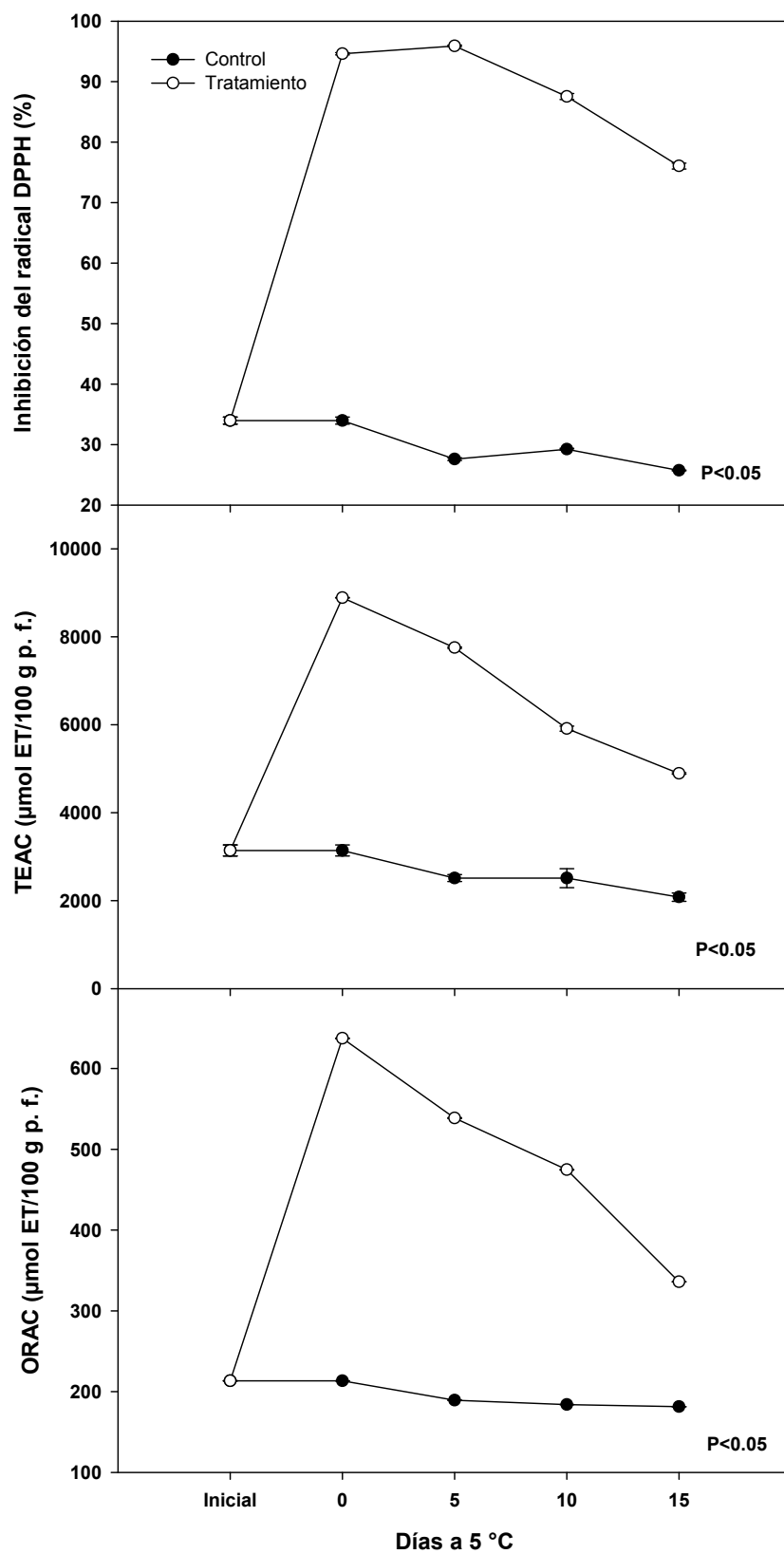
### **6.3.2 Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante**

El contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante del mango fresco cortado sin tratar y tratado con el extracto FAE de la semilla de mango, almacenado a 5 °C durante 15 días, se muestra en las **Figuras 7 y 8**. Se encontró efecto significativo ( $P < 0.05$ ) del tratamiento sobre el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante del mango fresco cortado. Se observó que conforme incrementaban los días de almacenamiento, disminuyó el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante, presentando el mango tratado, valores más altos que el control, siendo estadísticamente diferentes entre ellos ( $P < 0.05$ ). Al finalizar el almacenamiento, los frutos en los que se aplicó el extracto presentaron un mayor contenido de fenoles totales (7.4 veces), flavonoides totales (3.1 veces) y



**Figura 7.** Contenido de compuestos fenólicos en el mango fresco cortado tratado y sin tratar con el extracto FAE de la semilla de mango, almacenado a 5 °C durante 15 días.





**Figura 8.** Capacidad antioxidante del mango fresco cortado tratado y sin tratar con el extracto FAE de la semilla de mango, almacenado a 5 °C durante 15 días.

capacidad antioxidante evaluada por los métodos DPPH<sup>\*</sup>, TEAC y ORAC (2.9, 2.3 y 1.8 veces, respectivamente) comparando con el control. Esto es un indicador de que el extracto FAE obtenido de las semillas de mango puede incrementar la capacidad antioxidante del mango fresco cortado.

Al igual que en la evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos, se observó una correlación positiva entre el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante. Las correlaciones entre el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante evaluada por los métodos DPPH, ORAC y TEAC, fueron de: 0.9854, 0.9126 y 0.9504, respectivamente. Por otra parte se encontraron correlaciones de: 0.9838, 0.9060 y 0.9342 entre el contenido de flavonoides totales y la capacidad antioxidante evaluada por los métodos DPPH, ORAC y TEAC, respectivamente.

El uso de extractos bioactivos como aditivos para la conservación de frutas representa una alternativa a los conservadores químicos y ayuda a satisfacer la demanda del consumidor por frutos y vegetales frescos, nutritivos, seguros y libres de compuestos químicos (Ayala-Zavala y *col.*, 2010). Actualmente, existen muy pocos estudios que proporcionan información acerca del efecto de compuestos bioactivos que son extraídos de plantas y aplicados a frutos frescos cortados (Guillen y *col.*, 2007; Martín-Diana y *col.*, 2008; Muthuswamy y Rupasinghe, 2007; Muthuswamy y *col.*, 2008; Raybaudi-Massilia y *col.*, 2009). Asimismo, son más pocos los estudios reportados sobre el efecto antioxidante de extractos obtenidos de los subproductos de frutos frescos cortados como conservadores de alimentos.

Gajos de naranja tratados con extractos etanólicos (FAE) obtenidos de la semilla de este fruto, presentaron al día 15 de almacenamiento a 5 °C, un mayor contenido de fenoles totales (6 veces), flavonoides totales (5.3 veces) y capacidad antioxidante evaluada por los métodos DPPH<sup>\*</sup> y TEAC (2.2 y 6.8 veces, respectivamente) comparando con el control (Carrasco-Lugo, 2011).

Algunos extractos bioactivos han demostrado ser efectivos antioxidantes (Ayala-Zavala y *col.*, 2010). Por ejemplo, se han estudiado extractos del té verde (GT) como tratamiento para la preservación de lechuga fresca cortada, evaluándose diferentes marcadores como la respiración, el oscurecimiento, contenido de ácido ascórbico y carotenoides (Martín-Diana y *col.*, 2008). Se probaron diferentes concentraciones del GT (0.25, 0.5 y 1 g/100 mL) y temperaturas (20 y 50 °C). El tratamiento óptimo de GT (0.25 g/100 mL a 20 °C) se comparó con cloro (120 ppm a 20 °C), debido a que se observó que altas concentraciones de GT (0.5 g/100 mL y 1.0 g/100 mL) si prevenían la pérdida de ácido ascórbico y carotenoides; sin embargo, causaban el oscurecimiento de las muestras, esto probablemente como el resultado de un alto contenido de polifenoles presentes en el tratamiento, causando dicho efecto negativo.

Por otra parte, bayas de uva tratadas con películas de pectina con aceite esencial de hoja de canela (31.6 mg/mL), almacenadas durante 16 días a 10 °C, presentaron al último día de almacenamiento un mayor contenido de fenoles totales, flavonoides totales y capacidad antioxidante evaluada por los métodos DPPH<sup>\*</sup> y TEAC con valores de 1.6, 1.2, 1.2 y 1.4 veces mayor, respectivamente, comparados con el control (Melgarejo-Flores, 2011). Así mismo, fresas tratadas con aceite esencial de hoja de canela (5 mg/mL) al día 9 de almacenamiento a 10 °C presentaron un mayor contenido de fenoles totales (1.8 veces), flavonoides totales (1.3 veces) y capacidad antioxidante medida por los métodos DPPH<sup>\*</sup>, TEAC y ORAC (1.3 y 1.2 veces, respectivamente) comparados con el control (Ortega-Ramírez, 2011). Estos estudios demuestran que los extractos bioactivos tienen potencial para ser utilizados como aditivos en frutos enteros y frescos cortados, incrementando de esta manera la capacidad antioxidante en el producto final.

### 6.3.3 Capacidad antimicrobiana

En el **Cuadro 7** se presenta la actividad antimicrobiana de mango fresco cortado, tratado y sin tratar con el extracto FAE de las semillas de mango, almacenado a 5 °C durante 15 días. Se encontró efecto significativo del tratamiento ( $P < 0.05$ ) sobre el crecimiento de mesófilos aerobios y hongos-levaduras. En los días 0 y 5 no se presentó crecimiento microbiano, sin embargo, para los días 10 y 15 de almacenamiento, el control mostró las poblaciones más altas de estos microorganismos, siendo estos resultados estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ) con los del tratamiento. Al finalizar el almacenamiento, el tratamiento inhibió en un 80 y 97% el crecimiento de mesófilos aerobios y hongos-levaduras, respectivamente, comparado con el control.

Es importante señalar que hasta el momento no existen normas en México que establezcan límites de tolerancia de estos microorganismos para el caso de frutos y vegetales frescos cortados. Según las normas de la unión europea, los límites máximos establecidos para que un vegetal fresco cortado sea apto para su consumo son de  $5 \times 10^7$  y  $1 \times 10^6$  UFC/g para mesófilos aerobios y hongos-levaduras, respectivamente (Ruíz-Cruz y *col.*, 2007). Encontrándose en este estudio el mango fresco cortado tratado y sin tratar por debajo de estos límites después de su almacenamiento a 5 °C durante 15 días. Sin embargo, el tratamiento presentó la menor población de los microorganismos analizados al final del almacenamiento, por lo que podría ser un buen conservador natural para los frutos frescos cortados.

Al igual que para la capacidad antioxidante, son muy escasos los reportes de el efecto antimicrobiano de extractos obtenidos de los subproductos de frutos frescos cortados como conservadores de alimentos. De esta manera, se ha reportado que gajos de naranja tratados con el extracto etanólico (FAE) obtenido de la semilla de este fruto, presentaron al día 15 de almacenamiento a 5 °C, una inhibición del 34.9 y 81.94% para el conteo de mesófilos aerobios y hongos-levaduras, respectivamente comparado con el control (Carrasco-Lugo, 2011).

**Cuadro 7.** Efecto del extracto FAE de la semilla de mango en la reducción de mesófilos aerobios y hongos-levaduras (UFC/g) en mango fresco cortado almacenado 15 días a 5°C.

Días	Mesófilos aerobios		Hongos-levaduras	
	Control	Tratamiento	Control	Tratamiento
<b>0</b>	<250 ± 0*	<250 ± 0	<250 ± 0	<250 ± 0
<b>5</b>	<250 ± 0	<250 ± 0	<250 ± 0	<250 ± 0
<b>10</b>	19,000 ± 605	2,000 ± 48	26,000 ± 774	<250 ± 0
<b>15</b>	121,000 ± 7315	23,000 ± 800	472,000 ± 341	14,000 ± 5567

\*Medias de tres determinaciones ± error estándar (P≤ 0.05).

Se ha encontrado que extractos bioactivos como el eugenol, timol y carvacrol aplicado a uvas mostraron una reducción en el crecimiento de mesófilos aerobios y hongos-levaduras. Sin embargo, el olor de estos extractos se detectó después de abrir el empaque de almacenamiento (Rojas-Graü y *col.*, 2007). Adicionalmente, un estudio con uvas empacadas con dos películas con permeabilidades diferentes, y tratadas con la adición de una mezcla de eugenol, timol y carvacrol, redujeron drásticamente el conteo microbiano (mesófilos aerobios y hongos-levaduras) (Guillen y *col.*, 2007). Por otra parte, se ha reportado que extractos etanólicos de canela (1% p/v) redujeron significativamente el crecimiento de bacterias inoculadas en manzanas frescas cortadas, almacenadas a 6 °C, durante 12 días (Muthuswamy y *col.*, 2008). Fresas y bayas de uva tratadas con aceite esencial de hoja de canela (5 mg/mL) en forma de emulsión, presentaron al día final de almacenamiento, un menor índice de deterioro fúngico comparado con el control (Melgarejo-Flores, 2011; Ortega-Ramírez, 2011).

El uso de conservadores de origen natural, es de gran interés para la industria de alimentos, debido a la demanda del consumidor por productos libres de residuos tóxicos. Los conservadores químicos varían en su habilidad para retrasar el crecimiento microbiano y su efectividad depende del tipo de microorganismos y las características fisicoquímicas del alimento (Conner, 1993). Por lo tanto, existe la necesidad de explorar la posibilidad de utilizar productos naturales con capacidad antimicrobiana (Seneviratne y Kotuwegedara, 2009).

## 7. CONCLUSIONES

Los extractos obtenidos de los subproductos (cáscaras y semillas) derivados del procesamiento de mango fresco cortado, presentaron un efecto positivo ante el contenido de compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y antimicrobiana. Siendo el extracto FAE obtenido de la semilla, el que presentó los mejores resultados de los parámetros evaluados.

La aplicación de este extracto como tratamiento al mango fresco cortado incrementó el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, al mismo tiempo que disminuyó la población microbiana respecto al control. Por lo cual, se puede concluir que el extracto FAE obtenido de la semilla de mango puede ser una alternativa para ser usado como aditivo en la industria de frutos frescos cortados. Asimismo, estos resultados pueden reflejar que el uso eficiente de los subproductos de la industria procesadora de mango fresco cortado, puede representar una opción para mejorar el desarrollo socio-económico de la misma y minimizar el impacto ambiental.

## 8. PRODUCCIÓN ACADÉMICA DERIVADA DEL TRABAJO DE TESIS

### Artículos Publicados en Revistas Indizadas con Arbitraje

Ayala-Zavala, J. F., Rosas-Domínguez, C., **Vega-Vega, V.**, y González Aguilar, G. A. (2010). Antioxidant enrichment and antimicrobial protection of fresh cut fruits using their own byproducts: looking for integral exploitation. *Journal of Food Science*, 75, 175-181.

Ayala-Zavala, J. F., **Vega-Vega, V.**, Rosas-Domínguez, C., Palafox-Carlos, H., Villa-Rodríguez, J. A., Wasim-Siddiqui Md., Dávila-Aviña, J. E., y González Aguilar, G. A. (2011). Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Research International*, 44, 1866-1874.

**Vega-Vega, V.**, Ayala-Zavala, J. F., González-Aguilar, G. A., Vargas-Arispuro, I., y Ruíz-Cruz, S. Antimicrobial and antioxidant properties of phenolic compounds from fresh-cut mango byproducts extracts. *Food Research International* (en revisión).

**Vega-Vega, V.**, Ayala-Zavala, J. F., González-Aguilar, G. A., Vargas-Arispuro, I., y Corrales-Maldonado, C. F. Antimicrobial protection and antioxidant enrichment of fresh-cut mango applying phenolic extracts from their seeds byproducts (en preparación).



### Artículos Publicados en Revistas de Divulgación

Ayala-Zavala, J. F., Rosas-Domínguez, C., **Vega-Vega, V.**, & González Aguilar, G. A. (2010). Subproductos de frutos frescos cortados: una fuente potencial de aditivos alimentarios. *Industria Alimentaria* (Alfa editores). 32 (5) 35-43.

### Participación en Congresos

Silva-Espinoza, B. A., **Vega-Vega, V.**, Rosas-Domínguez, C., González-Aguilar, G. A., Ayala-Zavala, J. F. (2010). Procesamiento mínimo de frutas: generación de subproductos con potencial antioxidante. XXXI Congreso de la AMIDIQ (Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química, A.C.)

**Vega-Vega, V.**, Melgarejo-Flores, B. G., Carrasco-Lugo, D. K., González-Aguilar, G.A., Cruz-Valenzuela, M.R., Ayala-Zavala, J.F. (2010). Evaluación de la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos obtenidos de los subproductos del mango fresco cortado. VII Congreso del Noroeste y III Nacional en Ciencias Alimentarias y Biotecnología.

**Vega-Vega, V.**, Ayala-Zavala, J. F., González-Aguilar, G. A. (2011). Propiedades antioxidantes y antimicrobianas de extractos de subproductos de mango fresco cortado. XIV Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas, A.C.

## 9. REFERENCIAS

- Abdalla, A. E. M., Darwish, S. M., Ayad, E. H. E., y El-Hamahmy, R. M. (2007). Egyptian mango by-product 2: Antioxidant and antimicrobial activities of extract and oil from mango seed kernel. *Food Chemistry*, 103(4), 1141-1152.
- AOAC. (1990). Association of Official Agricultural Chemistry. Official Methods of Analysis of the AOAC. 12 th. De Washington D.C.U.S.A.
- Arogba, S. S. (2000). Mango (*Mangifera indica*) kernel: chromatographic analysis of the tannin, and stability study of the associated polyphenol oxidase activity. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13(2), 149-156.
- Artés, F., Gómez, P., Artés-Hernández, F., Aguayo, E., y Escalona, V. (2007). Improved strategies for keeping overall quality of fresh-cut produce. *Acta Horticulturae*, 746, 245-258.
- Avello, M., y Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)*, 494, 161-172.
- Ayala-Zavala, J. F., González-Aguilar, G. A., y del-Toro-Sánchez, L. (2009). Enhancing safety and aroma appealing of fresh-cut fruits and vegetables using the antimicrobial and aromatic power of essential oils. *Journal of Food Science*, 74(7), 84-91.
- Ayala-Zavala, J. F., Rosas-Domínguez, C., Vega-Vega, V., y González Aguilar, G. A. (2010). Antioxidant enrichment and antimicrobial protection of fresh cut fruits using their own byproducts: looking for integral exploitation. *Journal of Food Science*, 75, 175-181.
- Ayala-Zavala, J. F., Wang, S. Y., Wang, C. Y., y González-Aguilar, G. A. (2007). High oxygen treatment increases antioxidant capacity and postharvest life of strawberry fruit. *Food Technology and Biotechnology*, 45, 166-173.
- Barros, C. G., Oliveira, A. V., Carneiro, B. A., y Pohlit, A. M. (2007). Testes in vitro de plantas Amazônicas para atividade hemolítica e inibição da agregação plaquetária em sangue humano. *Acta Amazonica*, 39, 973-980.

- Beatty, M. E., LaPorte, T. N., Phan, Q., Van Duyne, S. V., y Braden, C. (2004). A multistate outbreak of *Salmonella enterica* serotype Saintpaul infections linked to mango consumption: a recurrent theme. *Clinical Infectious Diseases*, 38(9), 1337-1338.
- Berardini, N., Knödler, M., Schieber, A., y Carle, R. (2005). Utilization of mango peels as a source of pectin and polyphenolics. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(4), 442-452.
- Bracke, M. E., Depypere, H. T., Boterberg, T., Van Marck, V. L., Vennekens, K. M., Vanluchene, E., Nuytinck, M., Serreyn, R., y Mareel, M. M. (1999). Influence of tangeretin on tamoxifen's therapeutic benefit in mammary cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 91(4), 354-359.
- Bravo, L., Abia, R., y Saura-Calixto, F. (1994). Polyphenols as dietary fiber associated compounds. Comparative study on in vivo and in vitro properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(7), 1481-1487.
- Brecht, J. K. (2006). *Shelf-life limiting quality factors in fresh-cut (sliced) tomatoes: anti-ethylene treatment and maturity & variety selection to ensure quality retention*. Paper presented at the Tomato Breeders Round Table & Tomato Quality Workshop.,
- Brul, S., y Coote, P. (1999). Preservative agents in foods mode of action and microbial resistance mechanisms. *International Journal of Food Microbiology*, 50, 1-17.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253.
- Busta, F. F., Suslow, T. V., Parish, M. E., Beuchat, L. R., Farber, J. N., Garrett, E. H., y Harris, L. J. (2003). The use of indicators and surrogate microorganisms for the evaluation of pathogens in fresh and fresh-cut produce. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2, 179-185.
- Carrasco-Lugo, D. K. (2011). *Medición de la capacidad antioxidante, antifúngica y antibacteriana de subproductos del procesamiento mínimo de frutos de naranja*. Tesis de Licenciatura, CIAD, AC.

- Cerezal, P., y Duarte, G. (2005). Utilización de cáscaras en la elaboración de productos concentrados de tuna (*Opuntia ficus-índica* (L.) Miller) *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 61-83.
- Cerezal, P., Larrauri, J. A., y Piñera, R. M. (1995). Influencia de factores en el aprovechamiento de subproductos de la industria de frutas y vegetales en Cuba. *Alimentaria*, 268, 101-105.
- Conner, D. E. (1993). *Naturally occurring compounds*. New-York: Marcel Dekker: In: Antimicrobials in Foods.
- Corral-Aguayo, R. D., Yahia, E. M., Carrillo-López, A., y González-Aguilar, G. (2008). Correlation between some nutritional components and the total antioxidant capacity measured with six different assays in eight horticultural crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(22), 10498-10504.
- Chang, S., Tan, C., Frankel, E. N., y Barrett, D. M. (2000). Low-density lipoprotein antioxidant activity of phenolic compounds and polyphenol oxidase activity in selected clingstone peach cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(2), 147-151.
- Chen, I. N., Chang, C. C., Ng, C. C., Wang, C. Y., Shyu, Y. T., y Chang, T. L. (2008). Antioxidant and antimicrobial activity of zingiberaceae plants in Taiwan. *Plant Foods for Human Nutrition* 63(1), 15-20.
- Chen, Y. C., Lin, J. T., Liu, S. C., Lu, P. S., y Yang, D. J. (2011). Composition of flavonoids and phenolic acids in lychee (*Litchi Chinensis* Sonn.) flower extracts and their antioxidant capacities estimated with human LDL, erythrocyte, and blood models. *Journal of Food Science*, 76(5), 724-728.
- Chung, K. T., Wei, C. I., y Johnson, M. G. (1998). Are tannins a double-edged sword in biology and health? *Trends in Food Science & Technology*, 9(4), 168-175.
- Delaquis, P. J., Stanich, K., Girard, B., y Mazza, G. (2002). Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 74(1-2), 101-109.
- Domingo, D., y López-Brea, M. (2003). Plantas con acción antimicrobiana. *Revista Española de Quimioterapia*, 16(4), 385-393.

- Ejechi, B. O., y Akpomedaye, D. E. (2005). Activity of essential oil and phenolic acid extracts of pepperfruit (*Dennetia tripetala* G. Barker; Anonaceae) against some food-borne microorganisms. *African Journal of Biotechnology*, 4(3), 258-261.
- FAO. (1993). Prevención de pérdidas de alimentos poscosecha: frutas, hortalizas, raíces y tubérculos (Publication., from Código FAO: 17 AGRIS: J11. Colección FAO: Capacitación, N° 17/2. ISBN 92-5 302766-5. Roma):
- FAOSTAT. (2007). FAO Statistical Database-Agriculture. Retrieved Febrero 2010, from <<http://apps.fao.org>>
- FAOSTAT. (2008). FAO Statistical Databases Agriculture. Retrieved Febrero, 2010, from <<http://faostat.fao.org>>
- Fernández-Ginés, J. M., Madera-Bravo, E., González-Moreno, M., Tudela-Carrasco, M., y Caballero-Santos, B. (2008). Obtención de ingredientes funcionales a partir de subproductos. *Alimentaria*, 76-79.
- Flores-Gorosquera, E., García-Suárez, F. J., Flores-Huicochea, E., Núñez-Santiago, M. C., González-Soto, R. A., y Bello-Pérez, L. A. (2004). Rendimiento del proceso de extracción de almidón a partir de frutos de plátano (*Musa paradisiaca*). Estudio en planta piloto. *Acta Científica Venezolana*, 55(1), 86-90.
- Frazier, W. C., y Westhoff, D. C. (Eds.). (1993). *Microbiología de los alimentos*. Zaragoza España: Acribia.
- Garrett, E. H., Gorny, J. R., Beuchat, L. R., Farber, J. N., Harris, L. J., Parish, M. E., Suslow, T. V., y Busta, F. F. (2003). Microbiological safety of fresh and fresh-cut produce: description of the situation and economic impact. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2, 13-37.
- González-Aguilar, G. A., Ayala-Zavala, J. F., Ruíz-Cruz, S., Cruz-Valenzuela, R., y Cuamea-Navarro, F. (2004). *Estado actual del mercado de frutos y vegetales frescos cortados*. Paper presented at the Estado actual del mercado de frutos y vegetales frescos cortados en Iberoamerica.

- González-Aguilar, G. A., Villegas-Ochoa, M. A., Martínez-Téllez, M. A., Gardea, A. A., y Ayala-Zavala, J. F. (2007). Improving antioxidant capacity of fresh-cut mangoes treated with UV-C. *Journal of Food Science*, 72(3), 197-202.
- Gorinstein, S., Martín-Belloso, O., Park, Y. S., Haruenkit, R., y Lojek, A. (2001). Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. *Food Chemistry*, 74(3), 309-315.
- Guillen, F., Zapata, P. J., Martinez-Romero, D., Castillo, S., Serrano, M., y Valero, D. (2007). Improvement of the overall quality of table grapes stored under modified atmosphere packaging in combination with natural antimicrobial compounds. *Journal of Food Science*, 72(3), 185-190.
- Hashimoto, K., Kawamata, S., Usui, N., Tanaka, A., y Uda, Y. (2002). *In vitro* induction of the anticarcinogenic marker enzyme, quinone reductase, in human hepatoma cells by food extracts. *Cancer Letters*, 180, 1-5.
- Heggors, J. P., Cottingham, J., Gusman, J., Reagor, L., McCoy, L., Carino, E., Cox, R., y Zhao, J. G. (2002). The effectiveness of processed grapefruit-seed extract as an antibacterial agent: II. Mechanism of action and in vitro toxicity. *The Journal of Alternative & Complementary Medicine*, 8(3), 333-340.
- Hodge, K. (2003). Market trends bode well for fresh-cut. *Fresh Cut Magazine*, 30-31.
- Holley, R. A., y Patel, D. (2005). Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*, 22(4), 273-292.
- Hugo, W. B., y Russell, A. D. (1987). *In Pharmaceutical microbiology* (4th ed.): Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Jimenez-Escrig, A., Rincon, M., Pulido, R., y Saura-Calixto, F. (2001). Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5489-5493.
- Kabuki, T., Nakajima, H., Arai, M., Ueda, S., Kuwabara, Y., y Dosako, S. (2000). Characterization of novel antimicrobial compounds from mango (*Mangifera indica* L.) kernel seeds. *Food Chemistry*, 71(1), 61-66.

- Kaur, C., y Kapoor, H. C. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology*, 36(7), 703-725.
- Kerbel, E. L. (1993). *Pre-cut and minimal processing of fruits and vegetables*. Paper presented at the En: Memorias I Reunión Latinoamericana de Tecnología Poscosecha.
- Khazada, M. A., Lodhi, A. M., y Shahzad, S. (2004). Pathogenicity of *Lasiodiplodia theobromae* and *Fusarium solani* on mango. *Pakistan Journal Of Botany*, 36(1), 181-190.
- Kim, Y., Brecht, J. K., y Talcott, S. T. (2007). Antioxidant phytochemical and fruit quality changes in mango (*Mangifera indica* L.) following hot water immersion and controlled atmosphere storage. *Food Chemistry*, 105(4), 1327-1334.
- Kunradi-Vieira, F. G., Da Silva-Campelo, B., y Graciele, C. (2009). Actividad y contenido de polifenoles antioxidantes en fruta entera, pulpa y cáscara de tres cultivares de manzana. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 59, 101-106.
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., y Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 25, 726-732.
- Lanciotti, R., Gianotti, A., Patrignani, F., Belletti, N., Guerzoni, M. E., y Gardini, F. (2004). Use of natural aroma compounds to improve shelf-life and safety of minimally processed fruits. *Trends in Food Science & Technology*, 15(3-4), 201-208.
- Larrauri, J. A. (1994). Utilización de los hollejos cítricos y las cáscaras de piñas como fuentes de fibra dietética en Cuba. *Alimentaria*, 252, 57-59.
- Larrauri, J. A., y Cerezal, P. (1993). Caracterización de los residuos de diferentes variedades de Mango. *Alimentaria*, 242, 89-92.

- Larrauri, J. A., Rupérez, P., Borroto, B., y Saura-Calixto, F. (1996). Mango peels as a new tropical fibre: preparation and characterization. *LWT-Food Science and Technology*, 29(8), 729-733.
- Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J., y Cheng, S. (2006). Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry*, 96(2), 254-260.
- Luo, Y. (2007). *Challenges facing the industry and scientific community in maintaining quality and safety of fresh-cut produce*. Paper presented at the International Society for Horticultural Science.
- Martín-Belloso, O., Fortuny, R. S., y Oms, G. (2007). *Avances en la mejora de la calidad comercial de los frutos frescos cortados: aspectos físico-químicos y microbiológicos*. Paper presented at the Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones.
- Martín-Diana, A. B., Rico, D., y Barry-Ryan, C. (2008). Green tea extract as a natural antioxidant to extend the shelf-life of fresh-cut lettuce. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9(4), 593-603.
- Melgarejo-Flores, B. G. (2011). *Optimización del uso de aceite esencial de hoja de canela como antifúngico y antioxidante en frutos de uva*. Tesis de Licenciatura, CIAD, AC.
- Montero-Calderón, M. (2004). *El mercado de las frutas y hortalizas precortadas en Costa Rica*. Paper presented at the En: Simposium "Estado actual del mercado de frutos y vegetales cortados en Iberoamérica"
- Muthuswamy, S., y Rupasinghe, H. P. V. (2007). Fruit phenolics as natural antimicrobial agents: Selective antimicrobial activity of catechin, chlorogenic acid and phloridzin. *International journal of food, agriculture and environment*, 5(3-4), 81-85.
- Muthuswamy, S., Rupasinghe, H. P. V., y Stratton, G. W. (2008). Antimicrobial effect of cinnamon bark extract on *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria innocua* and fresh-cut apple slices. *Journal of Food Safety*, 28(4), 534-549.



- NCSS. (2001). Number Cruncher Statistical Systems. Programa Estadístico para Windows, Hintze JL, EUA. .
- Oboh, G., y Rocha, J. B. T. (2007). Distribution and antioxidant activity of polyphenols in ripe and unripe tree pepper (*Capsicum pubescens*). *Journal of Food Biochemistry*, 31(4), 456-473.
- Ohlsson, T. (1994). Minimal processing-preservation methods of the future: an overview. *Trends in Food Science & Technology*, 5(11), 341-344.
- Ortega-Ramírez, L. E. (2011). *Enriquecimiento antioxidante y protección antifúngica de frutos de fresa mediante el tratamiento con aceite de hoja de canela*. Tesis de Licenciatura, CIAD, AC.
- Özcan, M. M., y Chalchat, J. C. (2006). Chemical composition and antifungal effect of anise (*Pimpinella anisum* L.) fruit oil at ripening stage. *Annals of Microbiology*, 56(4), 353-358.
- Puravankara, D., Boghra, V., y Sharma, R. S. (2000). Effect of antioxidant principles isolated from mango (*Mangifera indica* L) seed kernels on oxidative stability of buffalo ghee (butter fat). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(4), 522-526.
- Qian, J. Y., Liu, D., y Huang, A. (2004). The efficiency of flavonoids in polar extracts of *Lycium chinense* Mill fruits as free radical scavenger. *Food Chemistry*, 87(2), 283-288.
- Raybaudi-Massilia, R. M., Mosqueda-Melgar, J., Soliva-Fortuny, R., y Martín-Belloso, O. (2009). Control of pathogenic and spoilage microorganisms in fresh-cut fruits and fruit juices by traditional and alternative natural antimicrobials. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8(3), 157-180.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., y Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Ribeiro, S. M. R., Barbosa, L. C. A., Queiroz, J. H., Knödler, M., y Schieber, A. (2008). Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. *Food Chemistry*, 110(3), 620-626.

- Rico, D., Martín-Diana, A. B., Barat, J. M., y Barry-Ryan, C. (2007). Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 18(7), 373-386.
- Rincon, A. M., Vasquez, A., y Padilla, M. (2005). Protective role of dietary polyphenols in oxidative stress. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 25, 305-310.
- Rivera-López, J., Vázquez-Ortiz, F. A., Ayala-Zavala, J. F., y González-Aguilar, G. A. (2005). Efecto del corte y la temperatura de almacenamiento en la calidad de papaya fresca cortada (*Carica papaya* L. cv. "Maradol"). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 6, 83-94.
- Robles-Sánchez, M., Gorinstein, S., Martín-Belloso, O., Astiazarán-García, H., González-Aguilar, G., y Cruz-Valenzuela, R. (2007). Frutos tropicales mínimamente procesados: Potencial antioxidante y su impacto en la salud. *Interciencia*, 32, 227-232.
- Robles-Sánchez, M., Islas-Osuna, M., Astiazarán-García, H., Vázquez-Ortiz, F., Martín-Belloso, O., Gorinstein, S., y González-Aguilar, G. (2009). Quality index, consumer acceptability, bioactive compounds, and antioxidant activity of fresh-cut ataulfo mangoes (*Mangifera Indica* L.) as affected by low-temperature storage. *Journal of Food Science*, 74(3), 126-134.
- Rojas-Graü, M. A., Raybaudi-Massilia, R. M., Soliva-Fortuny, R. C., Avena-Bustillos, R. J., McHugh, T. H., y Martín-Belloso, O. (2007). Apple puree-alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh-cut apples. *Postharvest Biology and Technology*, 45(2), 254-264.
- Ruíz-Cruz, S., Acedo-Félix, E., Díaz-Cinco, M., Islas-Osuna, M. A., y González-Aguilar, G. A. (2007). Efficacy of sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* populations on fresh-cut carrots. *Food Control*, 18(11), 1383-1390.
- Ruíz-Cruz, S., Acevedo-Félix, E., Díaz-Cinco, M., Islas-Osuna, M. A., y González-Aguilar, G. A. (2006). Efectividad de sanitizantes en la reducción microbiana

- y calidad de zanahoria fresca cortada. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 29, 209-306.
- Sapers, G. M., y Douglas, F. W. (2006). Measurement of enzymatic browning at cut surfaces and in juice of raw apple and pear fruits. *Journal of Food Science*, 52(5), 1258-1285.
- Schieber, A., Hilt, P., Streker, P., Endrew, H. U., Rentschler, C., y Carle, R. (2003). A new process for the combined recovery of pectin and phenolic compounds from apple pomace. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 4(1), 99-107.
- Schieber, A., Ullrich, W., y Carle, R. (2000). Characterization of polyphenols in mango puree concentrate by HPLC with diode array and mass spectrometric detection. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 1(2), 161-166.
- Seneviratne, K. N., y Kotuwagedara, R. T. (2009). Antioxidant activities of the phenolic extracts of seed oils and seed hulls of five plant species. *Food Science and Technology International*, 15(5), 419-425.
- Simirgiotis, M. J., Caligari, P. D. S., y Schmeda-Hirschmann, G. (2009). Identification of phenolic compounds from the fruits of the mountain papaya *Vasconcellea pubescens* A. DC. grown in Chile by liquid chromatography-UV detection-mass spectrometry. *Food Chemistry*, 115(2), 775-784.
- Singleton, V. L., y Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Sivapalasingam, S., Barrett, E., Kimura, A., Van Duyne, S., De Witt, W., Ying, M., Frisch, A., Phan, Q., Gould, E., y Shillam, P. (2003). A multistate outbreak of *Salmonella enterica* Serotype Newport infection linked to mango consumption: impact of water-dip disinfestation technology. *Clinical Infectious Diseases*, 37(12), 1585-1590.
- Someya, S., Yoshiki, Y., y Okubo, K. (2002). Antioxidant compounds from bananas (*Musa cavendish*). *Food Chemistry*, 79(3), 351-354.

- Soong, Y. Y., y Barlow, P. J. (2004). Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chemistry*, 88(3), 411-417.
- Vega-Vega, V., Ayala-Zavala, J. F., González-Aguilar, G. A., Vargas-Arispuro, I., y Ruíz-Cruz, S. (2011). Antimicrobial and antioxidant properties of phenolic compounds from fresh-cut mango byproducts extracts. *Pharmaceutical Biology*, en revisión.
- Vinson, J. A., Jang, J., Dabbagh, Y. A., Serry, M. M., y Cai, S. (1995). Plant polyphenols exhibit lipoprotein-bound antioxidant activity using an in vitro oxidation model for heart disease. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(11), 2798-2799.
- Watada, A. E., y Qi, L. (1999). Quality of fresh-cut produce. *Postharvest Biology and Technology*, 15(3), 201-206.
- Wolfe, K. L., y Liu, R. H. (2003). Apple peels as a value-added food ingredient. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(6), 1676-1683.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., y Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555-559.